



HAL
open science

Mise au point d'une chambre à éclairement cylindrique adaptée à la mesure de la photosynthèse par les organes massifs

Pierre Bancal, Alain Fortineau

► To cite this version:

Pierre Bancal, Alain Fortineau. Mise au point d'une chambre à éclairement cylindrique adaptée à la mesure de la photosynthèse par les organes massifs. [Interne] 2016. hal-02947494

HAL Id: hal-02947494

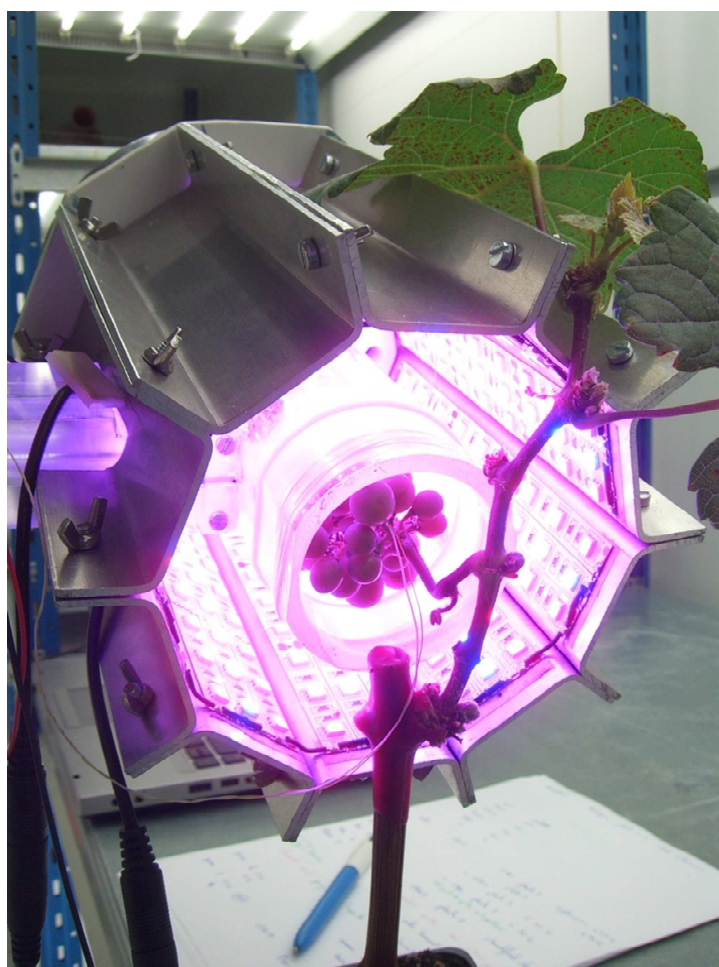
<https://hal.inrae.fr/hal-02947494>

Submitted on 24 Sep 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.

Mise au point d'une chambre à éclairage cylindrique
adaptée à la mesure de la photosynthèse
par les organes massifs



1. Enjeu scientifique, état de l'art et contexte du projet

La photosynthèse étant le processus bioénergétique le plus important du règne végétal, toutes les activités liées à l'agriculture, aux agro-ressources sont concernées. Ces données sont déterminantes pour mesurer la croissance d'une plante, suivre la qualité et la quantité des récoltes et également prévoir des rendements de cultures alimentaires et non-alimentaires. Elles trouvent des applications dans de nombreux secteurs allant de l'agriculture/viticulture de précision à l'écotoxicologie (biomarqueurs de stress, de pollution ...), mais également d'un point de vue fondamental et mécanistique. Sa mesure à l'aide d'appareils portables est simple à mettre en œuvre et permet de mesurer rapidement la photosynthèse nette, la concentration intercellulaire en CO₂, la conductance stomatique et la transpiration. Ces appareils sont couramment utilisés en phénotypage pour l'acquisition de paramètres caractérisant le fonctionnement des limbes des feuilles selon le génotype et/ou l'environnement.

Les limbes étant particulièrement adaptés pour fixer le CO₂ et exporter les assimilats qui en résultent, la plupart des modèles de fonctionnement négligent la contribution photosynthétique des autres organes. Un cas extrême est celui des modèles de type "Big Leaf" qui réduisent une culture à une feuille et un fruit. Cependant chez les arbres fruitiers, la photosynthèse des plantes est assez fortement régulée par les puits, si bien que l'élaboration du nombre de fruits devient un critère central du fonctionnement. Or le nombre de fruits est sous la dépendance de phases d'avortement précoces dans lesquels la nutrition a un rôle bien établi (Lebon et al., 2008). Le degré d'autotrophie des fruits verts est donc une variable qui intéresse fortement les chercheurs concernés.

D'autre part, la montée en puissance d'une vision architecturée des couverts de grandes cultures a permis de prendre conscience de l'importance des surfaces photosynthétiques non-limbes (jeunes fruits, tiges, vrilles). Dans le cas du blé, elles représentent près de 60% du total. Or ces surfaces sont aussi bien exposées que les limbes (mieux dans le cas des épis), et une grande partie est verte. Une pré-expérimentation de 2012 a permis de doser la chlorophylle des différents organes pendant la période de remplissage des grains (fig.1): si l'on intègre dans le temps ces mesures pour tenir compte de la sénescence séquentielle des différents organes, on constate encore une fois que la part des limbes ne dépasse pas la moitié du total. Il est donc hautement vraisemblable que la contribution des organes non-limbes doit être prise en compte pour une caractérisation fine de l'assimilation brute des couverts.

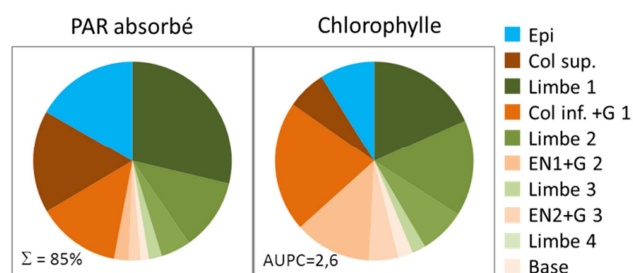


Figure 1 : Contribution des différents organes à l'absorption du rayonnement et à la chlorophylle dans un couvert de blé cv. Soissons.

Les limbes sont figurés à droite en nuances de vert, les tiges à gauche en nuances de brun, et l'épi en bleu. Les organes du haut du couvert sont en haut sur les figures

Si les modèles actuels de fonctionnement des cultures fonctionnent c'est finalement à cause de l'allométrie entre feuillage et couvert, mais souvent au prix d'un paramétrage peu conforme à la réalité. Par exemple le coefficient d'extinction réel du feuillage du blé ($k_{PAR}=0.35$) n'est que la moitié de celui des couverts ($k_{PAR}=0.67$). A l'heure où ce paramètre devient un critère de phénotypage, cette approximation peut masquer des comportements variétaux d'intérêt et rendre difficile la sélection. D'autre part, l'allométrie entre feuillage et couvert est mise en défaut lorsqu'un stress biotique (maladies) ou abiotique (polluants, sécheresse) conduit à une

dégradation ciblée des limbes. La photosynthèse des non-limbes a un impact majeur sur la tolérance aux stress.

Dans le cas du blé dur, la contribution de l'épi à son propre remplissage a été mise en évidence de longue date (Araus et al., 1993). Il est cependant difficile de passer à des données réellement quantitatives. Les mesures indirectes par analyses de croissance sont sujettes à caution: l'épi étant à la fois source et puits, il est très difficile de s'assurer que ce qui perturbe une fonction n'affecte pas l'autre (Wang et al., 2001). Des mesures directes d'échange gazeux (par analyseur de CO₂ ou par marquage) sont disponibles depuis longtemps mais difficiles à interpréter. En effet les organes massifs développent souvent une respiration beaucoup plus importante que les limbes, surtout quand il s'agit de zones de croissance/développement. Le bilan de carbone qui en résulte peut donc être faible voire négatif malgré une contribution non négligeable de l'organe à sa propre nutrition.

La solution passe par l'établissement de courbes de réponse à la lumière, puis leur intégration dans des modèles 3D indiquant la variabilité locale de l'éclairement à la surface de l'organe. En effet, alors que les limbes sont assez minces pour que tout leur volume soit exposé au rayonnement direct, la plus grande partie de la surface des organes massifs ne voit que le diffus. Or les appareils de photosynthèse actuels utilisent une source lumineuse ponctuelle, ou perpendiculaire à la surface projetée de l'organe. Ils sont donc adaptés aux limbes, mais pas aux organes massifs à la géométrie souvent complexe: la plus grande partie de la surface de ces organes y reçoit un éclairement non contrôlé et non représentatif de leurs conditions naturelles. Le pari scientifique 2014-2016 nous a permis de développer et de tester une chambre de mesure de la photosynthèse utilisant un éclairage cylindrique à base de LED. Les progrès réalisés ces dernières années dans la technologie LED permettent d'obtenir une très forte concentration de points lumineux sans dissipation thermique excessive. Nous avons supposé que la disposition cylindrique permettrait d'atteindre un éclairage presque aussi isotrope que dans une sphère intégrante, mais avec une intensité et une portabilité très supérieures. L'organe y fonctionne comme si la totalité de sa surface était soumise au rayonnement incident. Les conditions ne sont donc pas naturelles, mais elles sont contrôlées. On peut donc estimer la photosynthèse des organes en conditions naturelles, moyennant un calcul par modélisation 3D du rayonnement alors reçu par chaque unité de surface.

Lebon G, Wojnarowicz G, Holzappel B, Fontaine F, Vaillant-Gaveau N, Clément C. 2008. Sugars and flowering in the grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Experimental Botany*, **59** 2565-2578.

Araus JL, Brown HR, Febrero A, Bort J, Serret MD. 1993. Ear photosynthesis, carbon isotope discrimination and the contribution of respiratory CO₂ to differences in grain mass in durum wheat. *Plant, Cell and Environment* **19** 383-392.

Wang ZM, Wel AL, Zheng DM. 2001. Photosynthetic characteristics of non-leaf organs of winter wheat cultivars differing in ear type and their relationship with grain mass per ear. *Photosynthetica* **39** 239-244

2. Description de l'appareil

L'appareil est composé de deux parties (i) une chambre d'échanges gazeux (cylindre transparent) entourée par (ii) un système d'éclairage radial centripète (Fig. 2). L'appareil a été conçu pour des expériences à l'extérieur. Il est portable et alimenté par batterie 12 V.

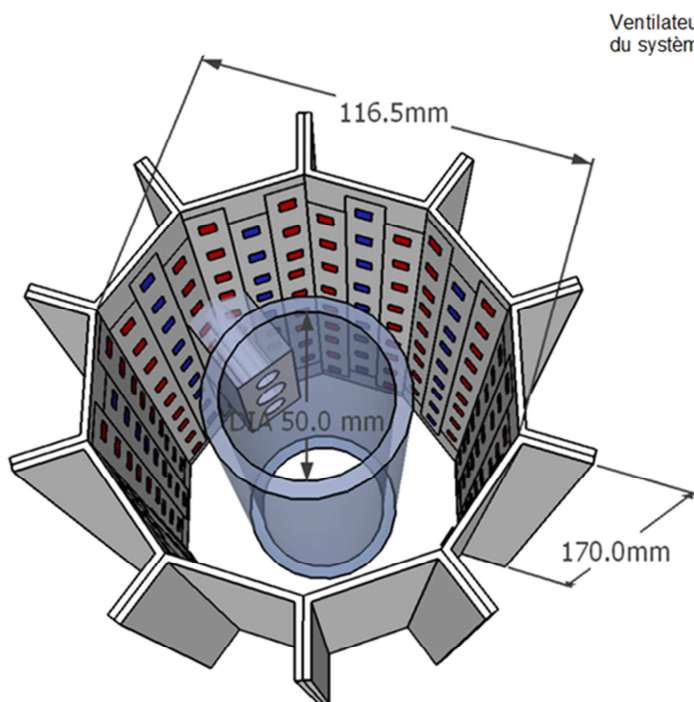


Figure 2: schéma de la chambre de mesure cylindrique entourée du prisme décagonal d'éclairage

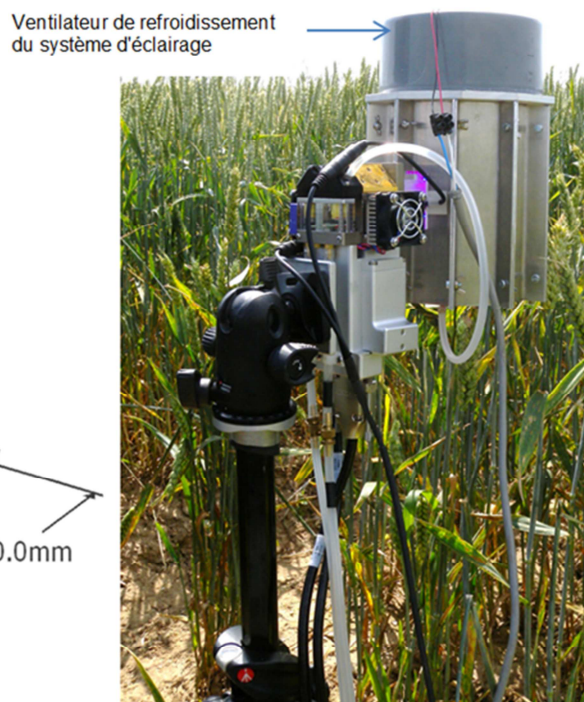


Photo 1 : dispositif de mesure en fonctionnement dans un champ de blé.

2.a. La chambre échantillon est un tube cylindrique transparent en Polyméthyl-méthacrylate (PMMA). Comme ce matériel adsorbe l'humidité (Bloom et al, 1980), sa face interne est recouverte d'un film téflon. L'extrémité supérieure du tube est scellée par un bouchon en PMMA sur lequel un ventilateur de 50 L/min est fixé du côté intérieur de la chambre. On introduit l'échantillon, un organe photosynthétique au bout d'une tige, par la face inférieure du tube (qui peut aussi être couché ou retourné selon la configuration de l'organe). Une membrane tubulaire en latex entoure l'extrémité inférieure du cylindre pour former un diaphragme entre le tube et la tige de l'organe à l'aide d'une pince. Ce système assure l'étanchéité et facilite l'ouverture de la chambre et l'introduction des échantillons.

Une jonction pneumatique écarte la chambre de mesure par rapport à l'analyseur IRGA Li-6400 XT (Licor, Lincoln, Nebraska USA) ce qui permet d'entourer cette chambre d'un système d'éclairage. Les tubes connectant la chambre à l'IRGA sont aussi courts que possible pour tirer parti au mieux de la capacité de conditionnement de l'air de l'analyseur. Le volume interne de la chambre étant de 300 cm³ (160 mm de haut × 50 mm de diamètre interne), son renouvellement est assuré en 20 secondes si on utilise le débit maximal autorisé par l'appareil (15.7 cm³/s). Ce niveau de débit est nécessaire pour limiter aussi bien la condensation de l'eau transpirée que l'échauffement de l'organe dans la chambre. Si on considère la sensibilité au CO₂ de l'analyseur, le flux doit être au moins de 0.1 nmol CO₂ /s pour l'organe entier.

2.b. Le dispositif d'éclairage est une structure prismatique construite à partir de plaques d'aluminium entourant la chambre pour former un prisme décagonal (fig.2). Chacune des 10 faces internes constitue un rectangle de 30 mm × 150 mm dont la taille a été définie pour optimiser la densité des bandes de LED utilisées (Colasse SA, Serain, Belgique). Chaque face est recouverte de trois bandes de 9 LED : deux bandes rouges (660 nm) encadrant une bande bleue (450 nm). Ces longueurs d'onde ont été retenues parce que (i) elles correspondent au maximum d'efficacité de la photosynthèse, et (ii) bien que le rouge soit plus intéressant d'un point de vue énergétique, un appoint en bleu est nécessaire au bon fonctionnement stomatique.

Les LED présentent un large angle d'émission, l'énergie lumineuse qu'elles émettent est répartie suivant un modèle Lambertien, c'est-à-dire que le profil d'éclairage est proportionnel au cosinus de l'angle

d'émission, ce qui facilite l'obtention d'une homogénéité lumineuse au centre de la structure. Des cartographies du rayonnement ont été obtenues en plaçant un capteur spectro-radiométrique au centre de la structure (cf. ci-dessous), mais en routine le PPFD au centre de la chambre était estimé à partir du signal d'un mini capteur quantum (LSC, Walz, Effeltrich, Germany) placé près du tube de raccord entre la chambre et l'IRGA. Ce mini capteur est connecté au port BNC de l'analyseur permettant la mesure quantitative du rayonnement en cours d'analyse.

Pour éviter un échauffement excessif des LED, dont l'efficacité décroît au-delà de 40°C, la face externe du prisme décagonal se développe en ailettes comme un radiateur pour faciliter l'évacuation de la chaleur. En outre, on a placé au sommet du système un ventilateur de 80 mm de diamètre (NMB technologies, Chatsworth, California, USA) qui génère un débit vertical de 1 m³/min dans l'espace vide entre la chambre échantillon et le prisme décagonal. A température ambiante ≈20°C, le compartiment LED est ainsi maintenu en dessous de 40°C, même pendant un usage prolongé à éclairage maximal.

L'éclairage par les LED est contrôlé via un port de control digital analogique (DAC) de l'analyseur Li-6400. Un convertisseur analogique (Serem, Saint Rémy de Maurienne, France) transforme le signal 0-5 VDC délivré par le port DAC en signal 0-10V adapté au pilote (LinearDrive 720, eldoLED, Eindhoven, Pays Bas) qui alimente les 264 LED du prisme décagonal. On notera que la description ci-dessus suggère 270 LED pour couvrir le prisme, mais 6 LED ont dû être retirées pour permettre la connexion entre la chambre échantillon et l'IRGA (Fig.2). Il en résulte un défaut repérable lors de la caractérisation de l'homogénéité d'éclairage (cf. ci-dessous).

3. Caractérisation métrologique

3.a. Eclairage

Les LED ne s'allument qu'au-delà d'une tension minimale, estimée à 1.1 VDC dans notre cas. On a mesuré l'éclairage sur l'axe du système (sans échantillon). Il est proportionnel à la tension de contrôle jusqu'à son maximum de 10 VDC, sans hystérésis selon qu'on accroît ou décroît la tension de contrôle. Le dispositif permet donc de réguler l'éclairage au centre de la chambre de mesure entre 100 et 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. On a vérifié que les LED rouges et bleues ont une réponse légèrement différente à la tension de contrôle, si bien que la fraction de rouge (600-700 nm) dans le PAR total (400-700 nm) varie un peu avec le PPFD : de 64.2% sous 10 VDC, contre 67.2% sous 1 VDC

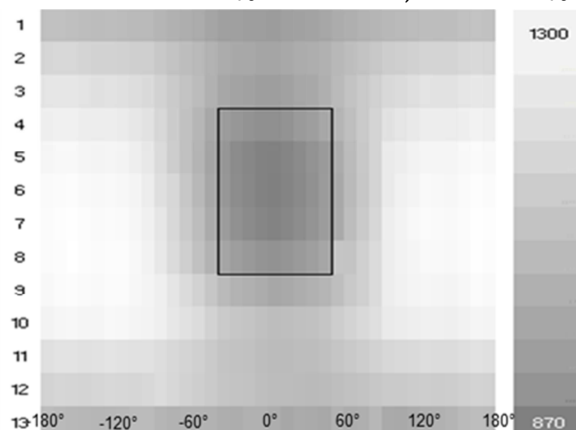


Figure 3: Cartographie à 360° du PPFD sur l'axe central de la chambre

Chaque pixel représente 1 cm de hauteur (en ordonnée) sur 10° d'angle (en abscisse). L'échelle de gris correspond au PPFD (en $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) pour une tension de contrôle de 10 VDC.

La figure 3 indique un coefficient de variation de 10% pour le PPFD. Cependant la variabilité n'est pas aléatoire: le sommet et la base de la chambre sont moins éclairés, et il convient donc de bien placer l'échantillon au centre de la chambre. Plus grave une zone sombre de 5 cm × 90° (rectangle foncé en fig. 3) apparaît là où six LED ont été retirées pour permettre la connexion entre le dispositif et l'IRGA. Cette zone sombre représente 11% de la surface totale cartographiée, et le PPFD n'y est que 82% de ce qu'il est à l'extérieur (tab.1). La cartographie a été refaite pour trois tensions de contrôle aboutissant au même résultat. La zone sombre est toujours à la même position, et son déficit d'éclairage reste à 82% de l'extérieur. La cartographie a aussi permis de vérifier l'absence d'hétérogénéité spectrale : le cv% de la fraction de rouge du PAR est inférieur à 2%. La zone sombre est significativement plus rouge ($P < 10^{-4}$;

tab.1), mais si peu que tout effet biologique peut être exclu. Ces résultats sont répétés pour toute tension de contrôle.

	Surface totale	Zone claire	Zone sombre
PPFD à 10VDC ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	1133 \pm 114	1160 \pm 95	949 \pm 47
Rapport de PPFD entre 10 VDC et 2 VDC	6.807 \pm 0.142	6.808 \pm 0.146	6.794 \pm 0.109
Fraction Rouge à 10 VDC	0.634 \pm 0.009	0.633 \pm 0.008	0.647 \pm 0.005

Tableau 1: Hétérogénéité de l'éclairage selon les cartographies: les données (moyenne \pm écart-type) sont indiquées pour la surface totale, et les zones claire et sombre (représentée par un rectangle en Fig. 3).

3.b. Ventilation et équilibre thermique

Le débit d'air dans la chambre est fixé au maximum prévu par l'analyseur ($15.7 \text{ cm}^3 \text{ s}^{-1}$). Pour vérifier que ce débit est suffisant pour un équilibrage rapide, on a effectué (sans échantillon biologique) un changement de consigne du CO_2 entrant de 100 à 400 vpm. La teneur en CO_2 a ensuite été suivie dans les deux cellules (Référence et Echantillon) de l'IRGA. La teneur en CO_2 a atteint 385 vpm (95% de la consigne) avec un décalage de 38s entre les deux chambres de l'IRGA. Ce décalage peut être considéré comme le délai physiquement nécessaire pour atteindre l'équilibre après un changement de consigne. Il est bien inférieur au temps biologiquement nécessaire pour que des organes vivants s'y adaptent.

On n'a pas détecté d'hétérogénéité de température d'air en déplaçant des capteurs de température (thermocouples type T fins de section inférieure à $60\mu\text{m}$) dans la chambre. Par contre, bien qu'on ait poussé le débit au maximum, la température d'air (chambre vide) se stabilise à 1.5°C au-dessus de la consigne (Tblk de Licor) sous PPFD maximal, ce qui suggère que la capacité de refroidissement de l'analyseur est alors insuffisante. En effet ce décalage est sensible à la température du laboratoire où est prélevé l'air entrant dans l'appareil.

Si l'on introduit un épi de blé dans la chambre (fig.4), ses propres capacités de refroidissement interfèrent avec les résultats précédents. Lorsque la chambre est ventilée par un air à la température de consigne, la température d'épi (mesurée par un thermocouple type E, chromel-constantan) est entre 2°C et 6°C au-dessus de la consigne, selon le PPFD. Si la chambre est ventilée par un air à 6°C en dessous de la consigne, alors la température d'épi est entre -2°C et $+2^\circ\text{C}$ de celle-ci, selon le PPFD. L'épi n'est donc pas à la température de consigne, avec un décalage qui dépend du PPFD.

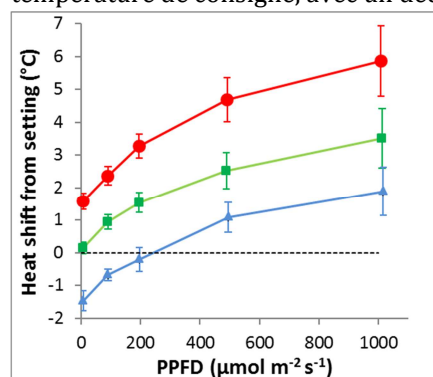


Figure 4 Echauffement d'un épi de blé dans la chambre selon le PPFD et le décalage de température entre consigne et air ambiant.

La température de l'air ambiant était égale à la consigne de l'analyseur (cercles rouges), 3°C en dessous (carrés verts) ou 6°C en dessous (triangles bleus). Les barres d'erreur indiquent l'erreur type selon la position du thermocouple sur l'épi.

Licor prévoit la possibilité d'appliquer la consigne de température non pas à l'analyseur (Tblk), mais directement à l'organe (Tleaf). Cependant les constantes de temps ne sont manifestement pas adaptées à un épi, et nous n'avons pas pu utiliser cette possibilité dans notre cas. On a contourné le problème en travaillant en cellule climatique (pour y prélever de l'air froid) et en programmant des températures de consigne variable selon le PPFD demandé. La régulation de la température reste donc le point faible de notre dispositif qui grève actuellement sa portabilité. En outre, la température varie actuellement le long de l'épi : elle est 3°C plus chaude à sa base qu'à son sommet, ce qu'on peut voir par les barres d'erreur de la figure 4.

4. Comparaison avec un appareil conventionnel

On a comparé les performances de notre appareil à celle d'une chambre commerciale à éclairage unidirectionnel. Il s'agit de la chambre 6400-22L (330 cm³) éclairée par la source 6400-18 RGB développée par Licor pour la mesure des bouquets d'aiguille de conifères, qui nous a été prêtée par N. Gaveau de l'U. de Reims. La paroi arrière de cette chambre est recouverte d'un revêtement blanc réfléchissant le rayonnement lumineux, en sorte que la partie opposée à la lampe reçoit 25% de l'éclairement nominal. Pour comparer les deux appareils, on a mesuré le même jour les mêmes organes par la chambre Licor (désignée ci-dessous comme 'L'), et par celle construite à Grignon (désignée ci-dessous comme 'G'). Dans chaque chambre, l'air entrant était régulé pour une humidité de 60% et une teneur en CO₂ de 400 vpm. La température d'organe était maintenue à 25°C. Une courbe de réponse à la lumière de la photosynthèse nette des organes a ensuite été obtenue, puis ajustée à l'équation (1) :

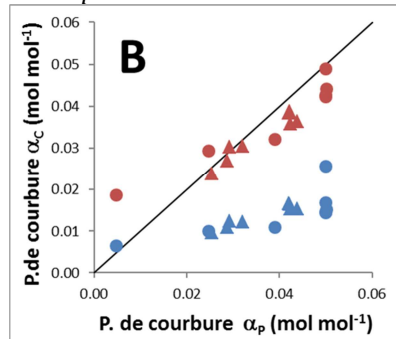
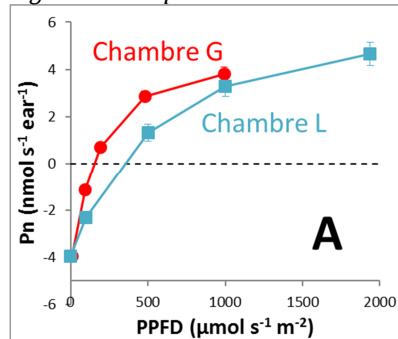
$$Pn(I) = A_{max} \cdot [1 - \exp(-\alpha \cdot I / A_{max})] - R_d \quad (1)$$

où Pn(I) est la photosynthèse nette obtenue pour un éclairement I, A_{max}, et R_d la capacité photosynthétique à 400 vpm de CO₂ et la respiration, tandis que α est un paramètre de courbure grossièrement lié au rendement quantique

La comparaison a été faite sur les fruits de deux espèces: des épis de blé (cv. Soissons) 2 et 4 semaines après floraison, et des grappes de vigne (cv. Pinot noir) 3 et 5 semaines après floraison. Les vignes ont été mises à notre disposition par N. Gaveau.

Les mesures brutes délivrées par les deux chambres sont assez différentes. Sur la Figure 5A représentant l'effet du PPFD sur les échanges gazeux par l'épi deux semaines après floraison, on voit que les résultats, très proches à l'obscurité et voisins à éclairement maximal, diffèrent considérablement à PPFD intermédiaire. De plus la définition même du PPFD n'est pas la même pour les deux appareils puisque tout l'épi est éclairé au même niveau par la chambre G et seulement une portion par la chambre L. Cette question sera abordée un peu plus loin; la figure 5 se rapporte à l'organe entier.

Figure 5: Comparaison des résultats obtenus par les chambres G et L.



A. Réponse au PPFD des échanges net en CO₂ par des épis de blé d'après la chambre G (cercles rouges) ou la chambre L (carrés bleus). La barre d'erreur indique l'écart-type pour quatre épis de même dimension.

B. Paramètre de courbure α_L (d'après la chambre L) selon α_G (d'après la chambre G).

Dans la fig. 5B, chaque point correspond à un organe : soit une grappe (cercles) soit un épi (triangles). Les ajustements ont été réalisés avec les valeurs brutes (en bleu), comme si l'éclairement était homogène. Les points bruns sont obtenus en supposant l'éclairement bizonal. La première bissectrice est indiquée

Pour aller plus loin, on a ajusté à l'équation (1) les données issues des chambres G: (A_G, R_G, α_G) et L: (A_L, R_L, α_L). L'erreur quadratique moyenne relative (RRMSE) entre estimations est indiquée au tableau 2.

	Capacité en lumière saturante A _{max}	Respiration obscure R _d	P. de courbure α
Eclairement homogène	6% - 23%	9% - 19%	167% - 200%
Eclairement bizonal	15% - 21%	6% - 18%	13% - 28%

Tableau 2: Erreur quadratique moyenne relative (RRMSE, en %) entre estimations des paramètres photosynthétiques A_{max}, α et R_d obtenus par ajustement des données issues des chambres G et L. Dans chaque cas, le premier nombre correspond à des épis de blé et le second à des grappes de raisin. Les ajustements ont été réalisés en considérant l'éclairement comme homogène (première ligne en bleu) ou bizonal, avec une zone claire et une zone sombre (deuxième ligne en brun).

Les RRMSE de Amax et Rd sont correctes (plus faibles pour les épis dont les échanges sont 3 à 10 fois supérieurs à ceux des grappes). Par contre les paramètres de courbure diffèrent clairement entre chambres. Les cercles de la figure 5B montrent de plus un biais systématique: pour tout échantillon, quel que soit son espèce, son organe, et son âge, α_L vaut environ un tiers de α_G .

On a ensuite pris en compte l'effet de l'hétérogénéité de l'éclairement dans les deux chambres. Dans la chambre L, à éclairement directionnel, on a considéré que seule la surface projetée Sp des échantillons reçoit l'éclairement nominal. Le reste de la surface développée (Sd) ne reçoit, selon les indications du fabricant, que 25% de l'éclairement nominal. Les données de la chambre L ont donc été réajustées à l'équation (3) :

$$Pn(I) = Sp/Sd \cdot Amax \cdot [1 - \exp(-\alpha \cdot I/Amax)] + (1 - Sp/Sd) \cdot Amax \cdot [1 - \exp(-\alpha \cdot 0.25 \cdot I/Amax)] - Rd \quad (3)$$

Le même raisonnement a été appliqué aux données issues de la chambre G qui présente une zone claire de 89% de la surface totale recevant 102% de l'éclairement nominal, et une zone sombre de 11% de la surface totale recevant 84% de l'éclairement nominal. Les données de la chambre G ont donc été réajustées à l'équation (4) :

$$Pn(I) = 0.89 \cdot Amax \cdot [1 - \exp(-\alpha \cdot 1.02 \cdot I/Amax)] + 0.11 \cdot Amax \cdot [1 - \exp(-\alpha \cdot 0.84 \cdot I/Amax)] - Rd \quad (4)$$

Les résultats suggèrent que l'hétérogénéité de la chambre G peut être négligée. En effet les ajustements selon (4) ne diffèrent des précédents que de moins de 0.1% pour α_G aussi bien pour les épis que pour les grappes, tandis que les différences sur A_G et R_G ne sont pas significatives. Pour la chambre L par contre, α_L est triplée en utilisant l'équation (3) plutôt que la (1), et ces nouvelles estimations s'approchent de α_G (tab.2 et fig.5B). Il semble bien que la chambre L à éclairement directionnel sous-estime trois fois le paramètre de courbure, alors que notre chambre G en donne une bonne estimation.

Cette différence justifie a posteriori la construction d'une chambre à éclairement annulaire qui permet seule de construire des courbes correctes de réponse à la lumière des organes massifs. Les premiers résultats physiologiques obtenus grâce à cette chambre sont reportés ci-dessous

5. Résultats physiologiques

5.a. Effet de la température d'organe

Contrairement aux limbes, les organes massifs ont une respiration importante par rapport à l'assimilation brute. L'assimilation nette, bilan de ces deux termes, va donc varier non seulement avec l'éclairement, mais aussi avec la température. Il arrive fréquemment, et avec tous les appareils, qu'au cours de l'établissement de courbes de photosynthèse, un éclairement plus fort induise un échauffement de l'organe. Cela se traduit par une déformation des courbes obtenues.

Nous avons donc estimé l'effet de la température d'organe au cours de différentes expérimentations, en comparant à chaque fois l'épi et la feuille drapeau correspondante. L'épi était mesuré avec notre prototype, et la feuille avec une chambre traditionnelle, (Li6400-02B). Dans tous les cas, on a travaillé sous éclairement saturant, la teneur en CO₂ de l'atmosphère étant maintenue à 400 vpm, et l'humidité relative entre 60% et 80%, ce qui correspond à une VPD en dessous de 1 pour les limbes, de 2 pour les épis. Pour une comparaison plus facile entre organes et expérimentations, les résultats de la figure 6 sont rapportés en relatif (% de la valeur à 22°C, température de référence).

Les résultats des différentes expérimentations (figurés en couleurs différentes) se recoupent bien. On peut constater que la respiration (colonne de gauche) varie de façon quasi linéaire dans les limbes (en haut) : entre 50% et 150% pour des températures de 10° à 35°, soit une pente de 4.2%·°C⁻¹. Sur les mêmes plantes, la respiration de l'épi (en bas) varie de 10% à 200%, soit une pente de 6.6%·°C⁻¹. Dans les deux cas, l'âge de l'organe ne semble pas affecter le résultat.

Par contre on observe un léger biais lié à la température elle-même : le modèle linéaire n'est qu'approximatif. Un modèle exponentiel (de type Q10) n'est pas meilleur, mais la respiration s'ajuste bien au modèle thermodynamique suivant :

$$Rd/R22 = \exp(c \cdot \Delta Ha / RT) / [1 + \exp(\Delta ST - \Delta Hd) / RT] \quad (5)$$

où Rd/R22 est la respiration (en % de la valeur à 22°C dans notre cas), c un facteur d'échelle pour chaque individu (dans notre cas c se déduit naturellement de ce que Rd/R22 = 1 à 22°C), ΔHa (resp. ΔHd) une

enthalpie d'activation (resp. de désactivation) propre à l'organe, R la constante de $0.008314 \text{ kJ}\cdot\text{K}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$, et T la température d'organe en Kelvins. La littérature suggère de fixer le terme entropique ΔS pour éviter le sur-paramétrage. Malheureusement il n'y a pas consensus alors que, contrairement au choix de la température de référence, la prédétermination de ΔS joue sur les ajustements de ΔH_a et ΔH_d . Nous avons retenu la valeur de $0.385 \text{ kJ}\cdot\text{K}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$, dans ces conditions, les paramètres ajustés pour les courbes de réponse de la respiration à la température sont figurés au tableau 3.

	Enthalpie d'activation ΔH_a (kJ/mol)	Enthalpie de désactivation ΔH_d (kJ/mol)
Limbes F1	34.7	122.4
Epi	73.8	118.1

Tableau 3: Ajustement des paramètres pour la réponse de R_d à la température ($\Delta S = 0.385 \text{ kJ}\cdot\text{K}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$).

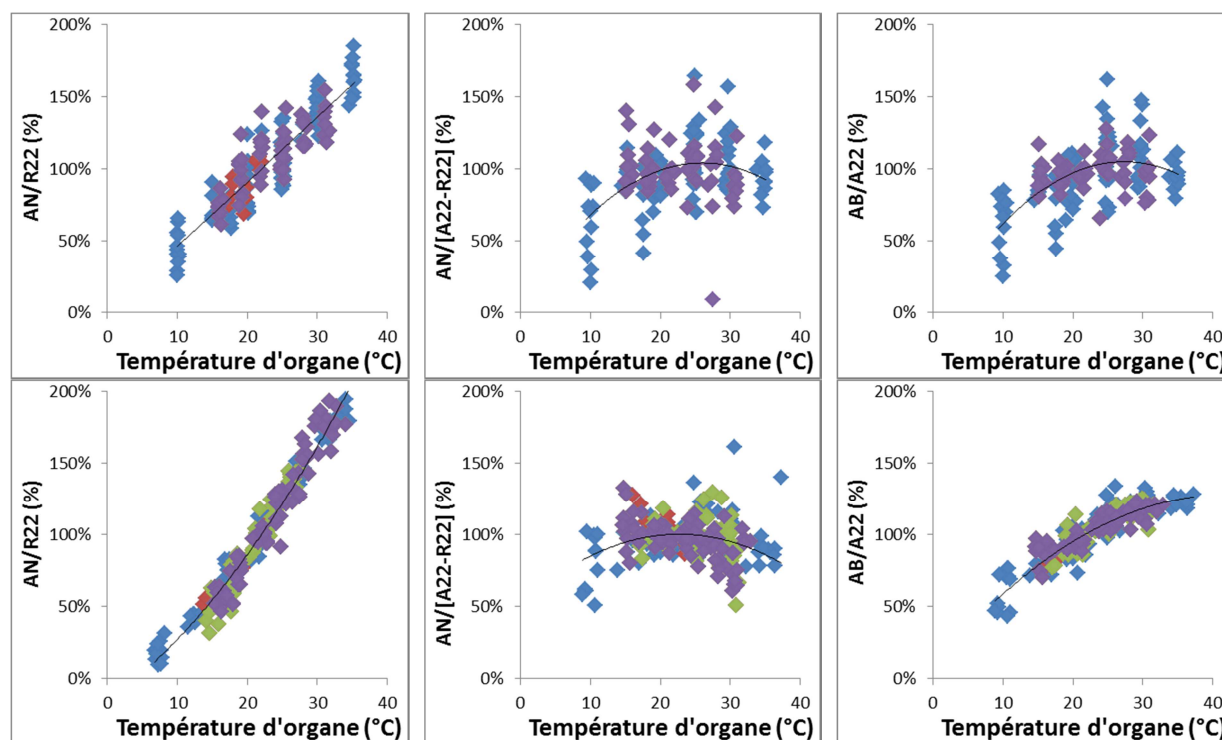


Figure 6: Effet de la température d'organe sur les échanges gazeux des limbes (en haut) et des épis (en bas). A gauche : respiration, au centre : Assimilation nette à lumière saturante, à droite : Assimilation brute (= A nette + Respiration à la même température). Les échanges sont rapportés à leur valeur à 22°C. Les codes couleur renvoient à des expérimentations différentes.

Une fois obtenue une représentation de l'effet de la température sur R_d , on peut déduire celle-ci des mesures d'assimilation nette à éclairage saturant (fig.6, colonne centrale), pour obtenir l'effet de la température sur l'assimilation brute (fig.6, colonne de droite), qu'on assimile à A_{max} puisqu'on est en lumière saturante. L'effet de la température sur A_{max} est très différent de celui sur R_d , avec la présence d'un optimum entre 20° et 30° pour les limbes, entre 30° et 40° pour les épis. En utilisant le même formalisme que pour R_d , on obtient un nouveau jeu de paramètres pour A_{max} dans les limbes et les épis (tableau 4).

	Température optimale (°C)	Activation ΔH_a (kJ/mol)	Désactivation ΔH_d (kJ/mol)
Limbes F1	27.0	22.2	119.2
Epi	33.9	24.6	121.6

Tableau 4: Ajustement des paramètres pour la réponse de A_{max} (lumière saturante pour $[CO_2] = 400 \text{ vpm}$,) à la température si $\Delta S = 0.385 \text{ kJ}\cdot\text{K}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$.

L'assimilation nette étant la somme $A_{max} - R_d$, si R_d/A_{max} est important (pour l'épi), sa variabilité suivant génotype, conditions de culture, âge introduit donc du bruit dans la réponse de l'assimilation nette à la température. Toutefois celui-ci reste modéré. Ainsi, l'équation (5) simule R_d et A_{max} avec un r^2 de 0.97

pour l'épi, tandis que son assimilation nette est prédite avec un r^2 de 0.95. On peut le visualiser par l'épaisseur des nuages de points en fig.6: R_d et A_{max} sont donc corrélées (r^2 0.53), ce qui reste à étudier. Dans le cas de l'épi, on obtient ainsi une réponse plutôt stable de l'assimilation nette à la température sur toute la gamme 10-35°, avec un optimum peu marqué vers 20°.

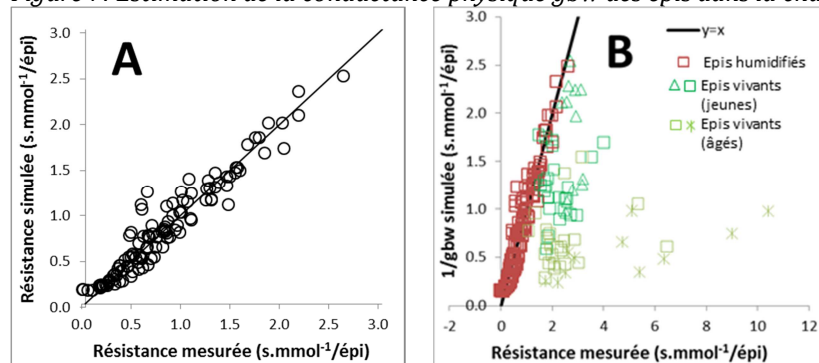
5.b. Conductance des épis

Si la conductance totale d'un organe g_{tw} est facile à mesurer à partir des données de transpiration, celle-ci est en fait la somme de deux termes une conductance physique g_{bw} et une conductance stomatique g_{sw} susceptible de régulation par la plante. La conductance physique dépend à la fois de la plante (rugosité des tissus) et de l'appareil (ventilation). Dans le cas des limbes, g_{bw} ($\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$) est estimée par l'appareil selon une fonction linéaire de l'aire incluse dans la pince. Dans le cas des épis, nous avons dû construire notre propre abaque. Après avoir constaté que des maquettes d'épi ne rendaient pas compte des propriétés de surface des organes naturels, nous avons choisi d'utiliser des épis morts (sans variation de la conductance stomatique) et ré humidifiés. Dans ce cas la conductance totale est égale à la conductance physique. On a pris une vingtaine d'épis, barbus ou non (ce facteur s'est avéré sans influence), et d'aire développée comprise entre 16 et 66 cm^2 . Puis on les a balayés par un courant d'air de température et d'humidité variable (0% à 40% en entrée de chambre, 30% à 100% à la surface de l'épi). On a pu vérifier que l'éclairement ne joue que via son influence sur la température de l'épi (entre 8° et 28°). La conductance dépend au final non seulement de l'aire de l'épi, mais aussi de son humidité de surface (estimée par l'humidité dans la chambre et la température de surface) selon l'équation (6)

$$g_{bw} (\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}) = 10 / [0.146748 + (11.8564 - 0.0182801 \cdot S_d - 0.111063 \cdot RH - 2.4399 \cdot VPD) \cdot VPD] / S_d \quad (6)$$

où S_d est l'aire développée de l'épi (cm^2), RH l'humidité relative à sa surface et VPD (kPa) le déficit de pression de vapeur correspondant.

Figure 7: Estimation de la conductance physique g_{bw} des épis dans la chambre.



A. Estimation avec des épis secs réhumidifiés (la conductance physique est égale à la conductance mesurée).

B. Estimation avec des épis vivants jeunes (vert foncé) et vieux (vert clair). La résistance est plus élevée du fait de la régulation stomatique.

NB : on a réalisé les ajustements sur la résistance (inverse de la conductance) car c'est elle qui intervient dans les calculs. La première bissectrice est indiquée dans les deux figures

La figure 7 présente les résultats obtenus. On notera sur la fig.7b qu'avec des épis très jeunes, la résistance totale $1/g_{tw}$ peut s'approcher de la résistance physique $1/g_{bw}$, ce qui correspond à des stomates très ouverts (ces épis transpiraient énormément). Avec le vieillissement, la conductance stomatique diminue considérablement, même avant que les épis ne montrent des signes de dessèchement.

5.c. Evolution des échanges au cours du temps

Quatre expérimentations indépendantes ont été réalisées pour comparer sur les mêmes plantes les caractéristiques de la feuille étandard et de l'épi, de l'épiaison à la maturité des grains. Deux expérimentations ont été réalisées en mini-peuplements sous conditions contrôlées : l'alimentation hydrique était optimale (hydroponie), mais l'éclairement faible. L'une de ces expérimentations (S15) a conduit à une sénescence très tardive des limbes, l'autre (S16) présentait une cinétique plus classique. Deux expérimentations ont été réalisées à l'extérieur. Dans la première (C15) les plantes ont reçu un éclairement intense, mais une sécheresse tardive a conduit à l'arrêt prématuré du remplissage. Dans la dernière (P16) les conditions climatiques très défavorables de l'année ont conduit les plantes à pousser sous éclairement faible, presque comme en conditions contrôlées.

Sur la figure 8, les données ont été rapportées au brin plutôt qu'à la surface pour une meilleure comparaison du limbe avec l'épi. Au moment de l'épiaison la capacité photosynthétique (A_{max}) des limbes vaut dix à vingt fois leur respiration (R_d), ce qui permet à ces organes d'exporter massivement du carbone. Dans les épis, non seulement A_{max} est plus faible (entre la moitié et le tiers de la feuille: Fig. B et E) mais R_d est beaucoup plus élevée (Fig. A et D). Le rapport A_{max}/R_d de l'épi atteint quand même 3-4 pour les plantes de serre, mais se situe entre 1 et 2 pour les plantes d'extérieur. Ce rapport se dégrade ensuite, du fait de l'augmentation de R_d en cours de remplissage. Mais ce n'est que tardivement, après 600 dj, que l'épi devient structurellement déficitaire (dans la réalité, les conditions d'éclairément non saturant le font dépendre des feuilles beaucoup plus tôt).

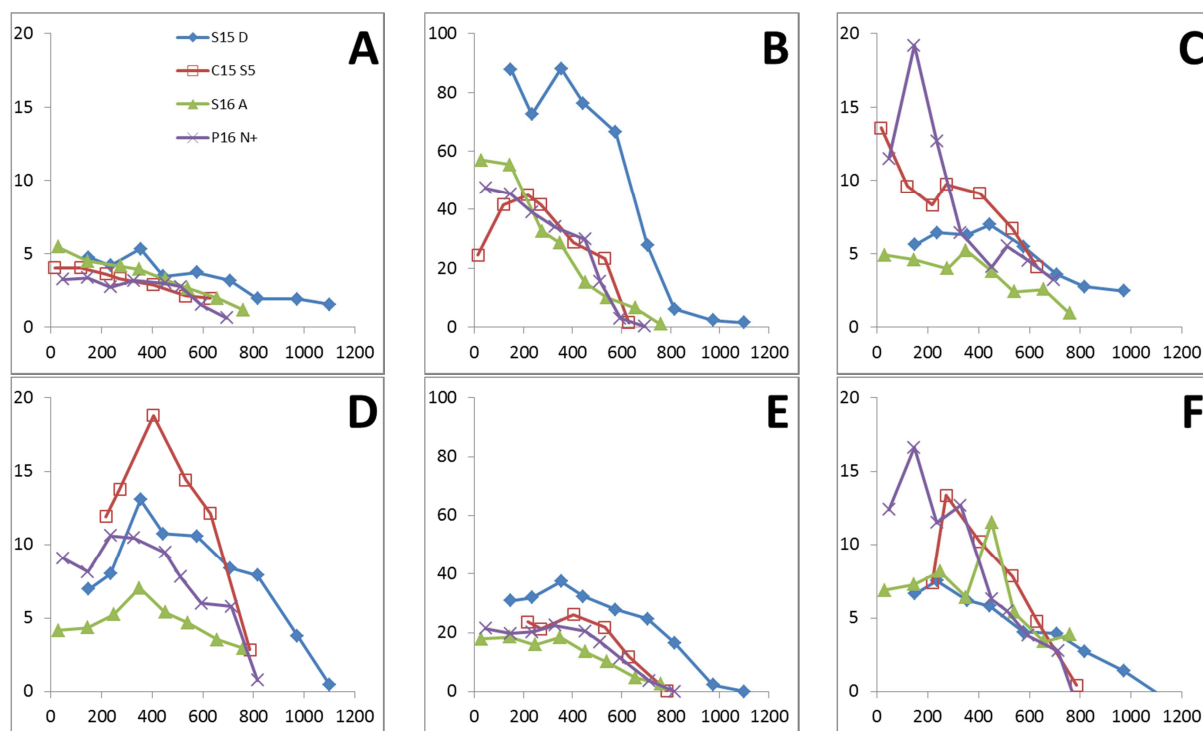


Figure 8: Effet de l'âge (en Σdj depuis l'épiaison) sur les échanges gazeux des limbes (en haut) et des épis (en bas). A gauche : respiration ($nmol \cdot s^{-1} / brin$), au centre : Capacité photosynthétique ($nmol \cdot s^{-1} / brin$), à droite : Rapport $A_{max} / Transpiration$ ($mmol/mol$). Les échanges sont rapportés à leur valeur à 22°C. Les codes couleur renvoient à des expérimentations indépendantes.

On signale fréquemment que la sénescence de l'épi est retardée par rapport à celle des feuilles. De fait nous observons que le rapport de A_{max} entre feuille et épi diminue au cours du remplissage, passant de 2-3 à l'épiaison à 1 vers 600 dj (sauf en S15 où la sénescence des feuilles était très tardive). Cependant comme signalée plus haut, la sénescence de l'épi est déjà très avancée à ce stade, et il n'est déjà plus capable d'assurer son remplissage. Dans toutes nos mesures, même dans les conditions de sécheresse de C15, l'épi n'a jamais été retardé de plus d'une semaine par rapport à la feuille.

Les plantes qui poussent dans des environnements secs développent peu de surface foliaire par épi. On a suggéré que l'épi pourrait avoir des performances supérieures aux feuilles en ce qui concerne les économies d'eau. Cependant nos données du rapport de A_{max} à la transpiration (Fig. C et F) ne font pas vraiment apparaître un tel phénomène : les courbes de la feuille et celles de l'épi se ressemblent beaucoup. Par contre les plantes en conditions contrôlées se séparent de celles poussées à l'extérieur. Dans le premier cas, où l'alimentation hydrique était pléthorique, on constate que A_{max}/T ne dépasse pas 5-6 à l'épiaison, tandis que pour les plantes d'extérieur le rapport A_{max}/T est au moins deux fois meilleur, aussi bien pour la feuille que pour l'épi. Ce rapport se dégrade ensuite au cours du remplissage, et il n'y a plus d'écart au-delà de 600 dj.

6. Perspectives

6.a. Evolution technique

L'appareil a fait l'objet d'une déclaration d'invention, mais la climatisation reste son point faible. Le dispositif de refroidissement de l'IRGA est sous-dimensionné par rapport à l'énergie thermique que nous apportons. A court terme, nous travaillons en cellule climatique, avec une température extérieure suffisamment fraîche pour maintenir les conditions souhaitées. Mais cela impacte nécessairement les conditions expérimentales. Ainsi sur les deux expérimentations réalisées avec des plantes extérieures, l'une utilisait des plantes en pots et l'autre des brins coupés. Il serait évidemment beaucoup plus intéressant d'assurer une portabilité réelle du dispositif afin de pouvoir l'utiliser en extérieur sans être limité par la température ambiante. Nous travaillons actuellement à une climatisation renforcée par un module à effet Peletier auxiliaire.

6.b. Analyse des résultats

Notre chambre à éclairage annulaire permet de construire correctement la courbe de réponse à la lumière des organes massifs. Nous avons établi des séries de courbes en comparant l'épi à la f1 dans des conditions de cultures variées non présentées dans la section précédente. Ainsi chacune des quatre expérimentations regroupées en 4c faisaient à chaque fois intervenir plusieurs modalités permettant de prendre en compte la variabilité liée au génotype et aux conditions de cultures pré- et post-floraison. Le travail sur la conductance des épis (section 4b) ouvre la voie à l'étude de leur régulation stomatique, et donc à l'impact des conditions hydriques et carbonées. Quant à l'étude de l'effet de la température sur les échanges gazeux, elle n'a guère été abordée jusqu'ici, parce que son impact est modéré sur les limbes. Ce n'est pas le cas sur les épis (ni sur les grappes de raisin), ce qui invalide la plupart des résultats publiés jusqu'ici dans ce domaine.

6.c. De nouvelles études à engager

On a vu que dans leur réponse à la température, les paramètres A_{max} et R_d de l'épi semblent liés. On le vérifie encore au cours du vieillissement dans 3 des 4 expérimentations. Ce résultat pourrait venir du fait qu'il est probable au vu de la littérature que la photosynthèse de l'épi fonctionne majoritairement en recyclant du CO_2 d'origine respiratoire. Dans ce cas, indépendamment de la régulation du CO_2 atmosphérique, augmenter R_d revient à faire travailler la photosynthèse sous enrichissement en CO_2 . Ce point demande à être approfondi. Plus généralement d'ailleurs, si la photosynthèse de l'épi fonctionne en réassimilant du carbone importé depuis les feuilles, alors celle-ci ne peut plus être considérée comme indépendante de celle-là. C'est donc le concept même de photosynthèse épi comme source de tolérance vis-à-vis des stress foliaires qui devrait être reconsidéré.