

11°32' TH - HC 55  
2



# THESE

présentée pour l'obtention du  
DIPLOME de DOCTEUR de 3<sup>ème</sup> CYCLE

à

L'UNIVERSITE PIERRE et MARIE CURIE

Spécialité: SCIENCES de l'EAU

par

Thierry BARIAC - RAYNAUD

---

LA PLANTE COMME SYSTEME FRACTIONNANT  
(<sup>18</sup>O) dans le TRANSFERT de l'EAU à l'INTERFACE  
SOL - ATMOSPHERE

---

Soutenu le 1<sup>er</sup> Février 1980 devant la Commission composée de :

- |              |             |
|--------------|-------------|
| M. P. ROGNON | Président   |
| R. LETOLLE   | Examineur   |
| B. BLAVOUX   | "           |
| A. FERHI     | Rapporteur. |

## AVANT - PROPOS

Au terme de ces deux années de travail, et avant d'exposer les résultats qui font l'objet de ce mémoire, je tiens à remercier tous ceux qui m'ont permis d'entreprendre cette recherche :

Monsieur P. ROGNON, Directeur du Département de Géographie Physique à l'Université Pierre et Marie Curie, qui m'a accueilli avec bienveillance dans son laboratoire et a accepté de présider ce jury de thèse.

Monsieur R. LETOLLE, Directeur du Département de Géologie Dynamique à l'Université Pierre et Marie Curie, qui m'a proposé ce sujet de thèse et conseillé tout au long de ces deux ans. Je tiens à lui adresser ici l'expression de ma profonde gratitude.

Monsieur A. FERHI, Assistant au Département de Géographie Physique, rapporteur de ce mémoire, qui m'a initié aux techniques isotopiques et qui par sa constante présence scientifique et amicale m'a permis de mener à terme le présent travail. Qu'il veuille bien accepter ici mes remerciements les plus sincères.

Monsieur B. BLAVOUX, Maître Assistant au Département de Géologie Dynamique, qui m'a accueilli chaleureusement au Centre de Recherches Géodynamiques de Thonon les Bains et a accepté de participer à ce jury.

Je remercie toute l'équipe de Géochimie du Laboratoire de Géologie Dynamique pour son accueil si sympathique, et une mention particulière pour Monsieur C. JUS-SERAND pour sa participation enthousiaste à l'échantillonnage des vapeurs d'eau atmosphériques, et qui a si généreusement mis à ma disposition ses données bibliographiques.

Je remercie également Madame CHOLLET du soin extrême qu'elle a apporté à la réalisation de nombreuses figures de ce mémoire.

Ce travail n'aurait pu être réalisé sans le concours financier de la Délégation à la Recherche Scientifique et Technique. Qu'elle en soit vivement remerciée.

## SOMMAIRE

## INTRODUCTION

### CHAPITRE 1 :

#### UNE NOUVELLE METHODE D'ANALYSE ISOTOPIQUE DE L'OXYGENE DE L'EAU, DES TISSUS VEGETAUX, DU SOL, DE LA VAPEUR ATMOSPHERIQUE.

- 1.1. Méthode classique de déshydratation sous vide (sol, végétal).
- 1.2. Méthode classique de piégeage de la vapeur d'eau atmosphérique.
- 1.3. Méthode d'extraction/réduction/conversion
  - 1.3.1.) Préparation de l'échantillon (sol, végétal).
  - 1.3.2.) Préparation de l'échantillon de vapeur atmosphérique.
  - 1.3.3.) Réduction de l'eau de l'échantillon
  - 1.3.4.) Récupération du monoxyde de carbone et évacuation de l'hydrogène.
  - 1.3.5.) Transformation du monoxyde en dioxyde de carbone.
  - 1.3.6.) Expression des résultats.
  - 1.3.7.) Fiabilité et reproductibilité de la manipulation "réduction - conversion".
  - 1.3.8.) Application : détermination du coefficient de fractionnement isotopique à l'équilibre dans le système  $H_2O - CO_2$ .

### CHAPITRE 2 :

#### LA TENEUR EN $^{18}O$ DE L'EAU PRESENTE DANS LES FEUILLES DES VEGETAUX.

- 2.1. Teneur en  $^{18}O$  de l'eau présente dans différents organes végétaux.
  - 2.1.1.) Chez une plante aérienne : Phaseolus vulgaris.
  - 2.1.2.) Chez une plante aquatique :

- 2.2. Etude de la variation de la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe en fonction de l'âge de la feuille.
  - 2.2.1.) Chez une plante aérienne : Phaseolus vulgaris.
  - 2.2.2.) Chez une plante aquatique : Aponogeton ulvaceus.
- 2.3. Evolution de la composition isotopique de l'eau du limbe des plantes aériennes lors des variations de déficit hygrométrique atmosphérique.
- 2.4. Evolution de la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe des plantes aériennes lors d'un accroissement brutal du déficit hygrométrique atmosphérique.
- 2.5. Etude de l'évolution de la composition isotopique de l'eau du limbe en fonction de la luminosité.
  - 2.5.1.) Evolution de la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe de Phaseolus vulgaris lors d'une exposition à la lumière de cette plante, sous humidité relative constante.
  - 2.5.2.) Evolution de la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe de Phaseolus vulgaris lors d'une exposition à l'obscurité de la plante, sous humidité relative constante.
  - 2.5.3.) Evolution de la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe de Phaseolus vulgaris, après 12 h d'exposition, en fonction des variations de l'humidité atmosphérique.
- 2.6. Comparaison entre les teneurs en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe d'une plante en  $\text{C}_3$  et celles d'une plante en  $\text{C}_4$ .
- 2.7. Etude de la composition isotopique de l'oxygène de l'eau du limbe d'Aponogeton ulvaceus lors d'une exposition à la lumière de cette plante.

## CHAPITRE 3 : -

### LES FRACTIONNEMENTS ISOTOPIQUES ET LA PLANTE : INTERPRETATIONS.

3. 1. L'enrichissement isotopique dans l'eau du limbe des plantes aériennes et la transpiration.
  - 3.1.1.) Les modèles de l'enrichissement de  $^{18}\text{O}$  de l'eau des feuilles des plantes aériennes.
  - 3.1.2.) Application du modèle de FERHI et LETOLLE aux variations de la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau foliaire en fonction de l'humidité relative.
  
3. 2. Influence de la diminution de la turgescence sur la composition isotopique de l'eau du limbe de *Phaseolus vulgaris*
  - 3.2.1.) Variations du volume d'eau foliaire lors du dessèchement de l'atmosphère.
  - 3.2.2.) Influence de la réduction du volume d'eau foliaire sur la composition isotopique de l'eau du limbe.
  
3. 3. L'enrichissement isotopique de l'oxygène de l'eau du limbe de *Phaseolus vulgaris* et les réactions photosynthétiques.
  - 3.3.1.) Résumé des phénomènes photosynthétiques.
  - 3.3.2.) Hypothèse de l'enrichissement isotopique de la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe de *Phaseolus vulgaris* à travers les réactions claires de la photosynthèse.

- 3.3.3.) Hypothèse de l'enrichissement isotopique de la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe de *Phaseolus vulgaris* à travers les réactions sombres de la photosynthèse (voie en  $\text{C}_3$ .)
3. 4. L'enrichissement isotopique et les différences de métabolisme chez le blé et le maïs
3. 5. L'enrichissement isotopique et l'âge de la feuille.
3. 6. Etude des organes végétaux des plantes aériennes où l'enrichissement isotopique reste faible par rapport à la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du sol.
- 3.6.1.) Circulation de l'eau dans les racines.
- 3.6.2.) Ascension de la sève brute : conduction vasculaire.
- 3.6.3.) Circulation de l'eau dans les feuilles .
3. 7. Etude de l'absence d'enrichissement isotopique : les plantes aquatiques totalement immergées.

CONCLUSION.

- INTRODUCTION -

La détermination de la vitesse de circulation des eaux dans le cycle hydrologique, de leur aire de répartition, l'étude sur ces eaux des effets de l'évaporation, ou des mélanges par des eaux résiduelles, ont amené les hydrologues à employer des eaux marquées par des traceurs naturels ou artificiels, figure (1)

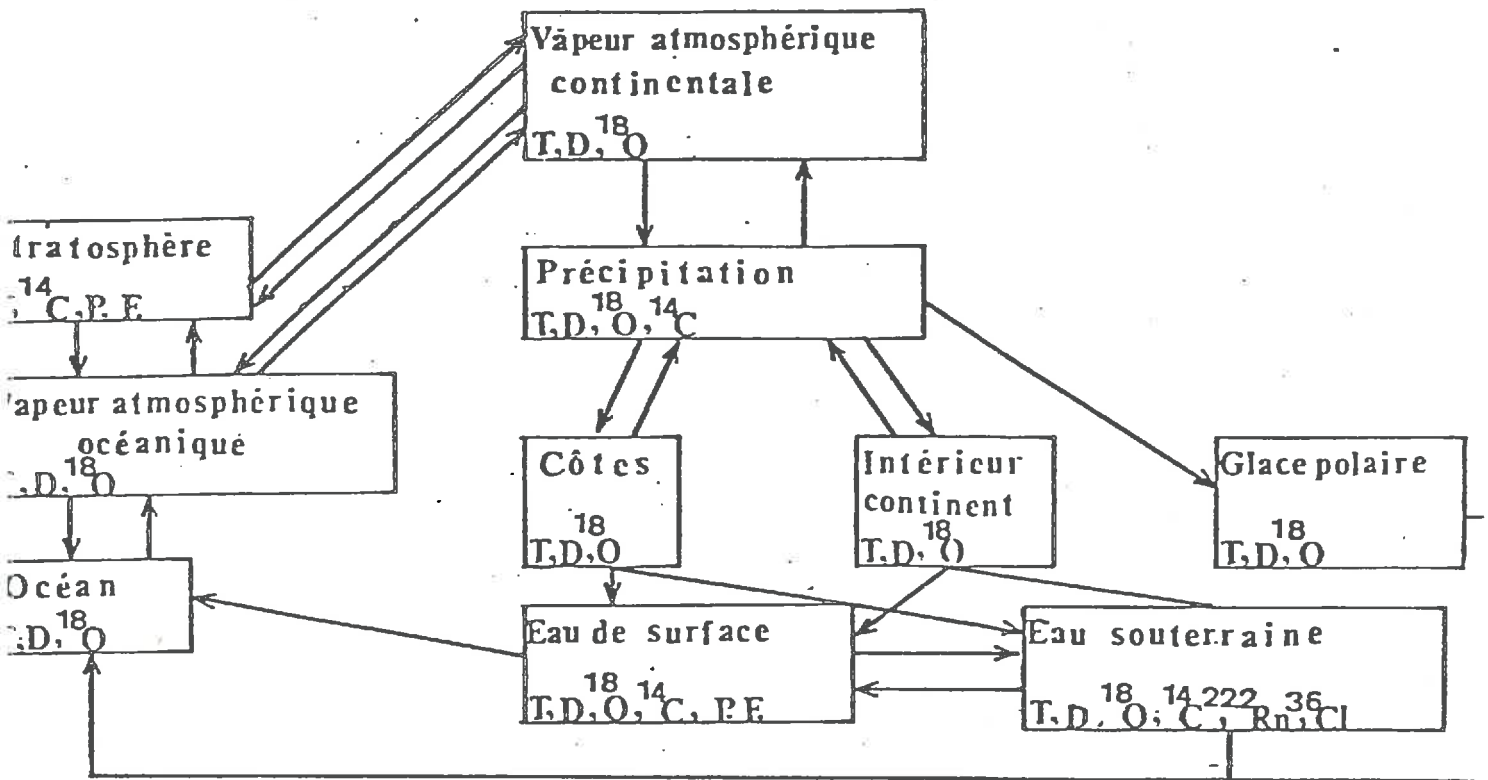


Figure (1) : Circulation des isotopes dans le cycle hydrologique (THATCHER, 1965)

P.F. : Produits de fission

Car, il semble difficile de concevoir un meilleur tra-  
 ceur de la molécule d'eau que ses propres espèces isotopiques et  
 en particulier, l'un de ses isotopes stables, l'oxygène, tableau  
 (I).



OXYGENE	
Isotopes	Fréquences
$^{16}\text{O}$	99,76
$^{17}\text{O}$	0,04
$^{18}\text{O}$	0,20

Tableau (I)

Du fait de la rareté de  $^{17}\text{O}$ , nous bornerons cette étude aux variations du rapport  $\frac{^{18}\text{O}}{^{16}\text{O}}$ .

Il est possible de suivre les modifications de la composition isotopique de l'oxygène de l'eau dans le cycle suivant (figure 2).

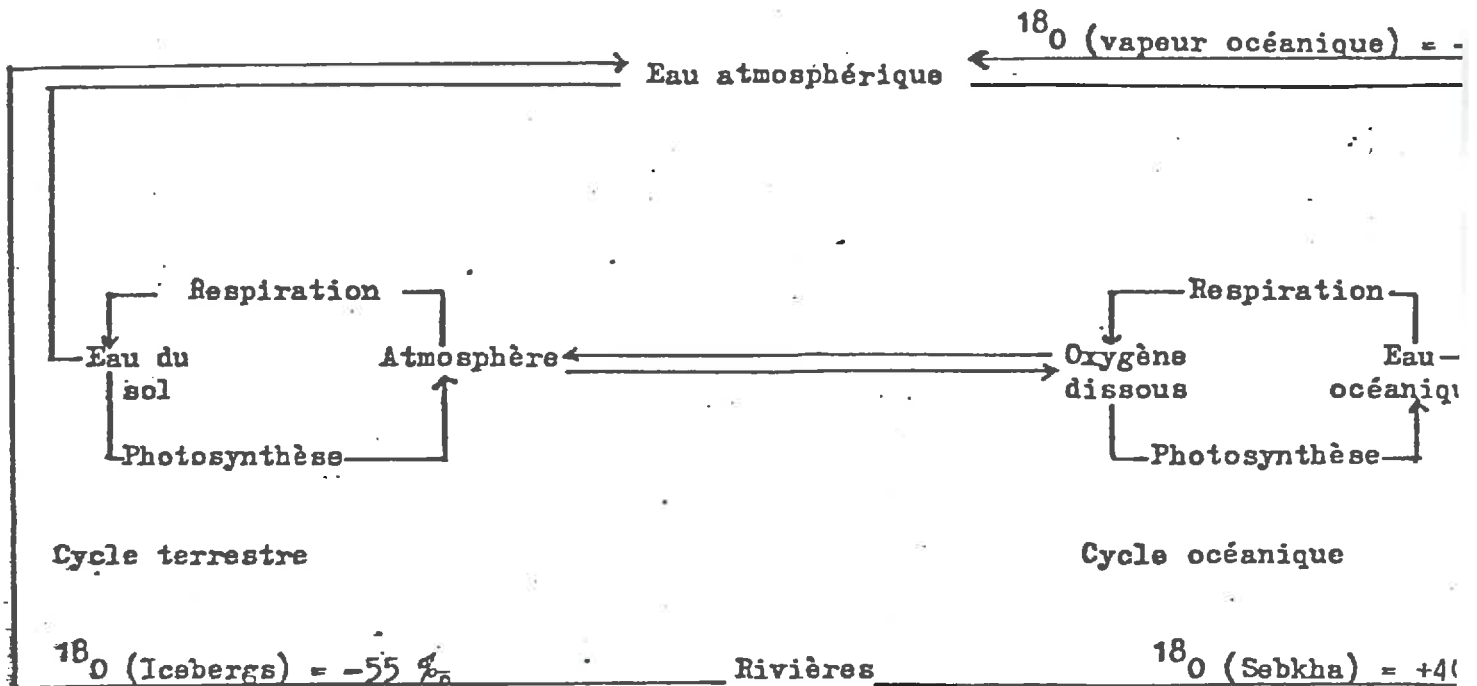


Figure (2) : Cycle global de l'oxygène 18 dans l'eau

L'une des premières constatations que l'on puisse faire en étudiant le cycle biogéochimique de l'oxygène de l'eau est, que les modifications majeures se produisent à l'interface sol-atmosphère, dans les eaux exposées à l'évaporation.

C'est donc à cette interface, et en particulier au système sol - plante, que nous avons consacré l'essentiel de notre

étude, et plus particulièrement au rôle joué par la plante dans les transformations isotopiques de l'oxygène de l'eau du sol.

Mais pour cela, il faut disposer d'une méthode permettant l'analyse de l' $^{18}\text{O}$  présent dans la molécule d'eau, sous forme liquide ou vapeur. Or si l'on peut aisément déterminer la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau libre en phase liquide sur quelques millilitres, on se heurte au problème des forces de rétention lors de l'étude des échantillons de sol ou de végétal, d'où un risque de fractionnement isotopique artificiel lors de l'extraction de l'eau de ce type d'échantillons. De plus, l'analyse de la teneur en  $^{18}\text{O}$  nécessite le passage à la phase solide puis <sup>à la phase liquide</sup> de la vapeur atmosphérique ; d'où également un nouveau risque de fractionnement lors de la condensation de cette vapeur. Enfin, l'obtention des quelques millilitres d'eau nécessaires à l'analyse isotopique classique, entraîne l'emploi d'une trop grande masse d'échantillon, ce qui pose le problème des échantillons à compositions isotopiques hétérogènes.

Pour résoudre ces différents problèmes, nous avons mis au point une nouvelle méthode d'analyse isotopique autorisant une analyse fine de l' $^{18}\text{O}$  sur une faible quantité d'échantillons, à la fois dans la phase liquide et dans la phase vapeur.

Dans un premier chapitre, nous examinerons les méthodes classiques d'extraction de l'eau et d'analyse isotopique de l'oxygène de cette eau. Après avoir décrit les avantages et les inconvénients de ces différentes techniques, nous détaillerons la méthode de micro-analyse mise au point dans notre laboratoire.

Puis dans un deuxième temps, nous étudierons le problème auquel nous sommes confrontés, en recherchant tout d'abord l'existence de variations dans la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau de la plante par rapport à celle du milieu de culture. Après avoir mis en évidence l'importante modification subie par ce signal dans les feuilles des plantes aériennes, nous examinerons les modifications de ce signal isotopique, en fonction des paramètres du milieu :

- eau du sol
- humidité atmosphérique
- luminosité.

- CHAPITRE 1 -

1 - UNE NOUVELLE METHODE D'ANALYSE ISOTOPIQUE DE L'EAU DES TISSUS VEGETAUX, DU SOL, DE LA VAPEUR D'EAU ATMOSPHERIQUE.

Le cadre de ce travail nous a amené à examiner la teneur en oxygène -18 de l'eau d'échantillons très différents :

- végétaux
- sols
- vapeur d'eau atmosphérique

La méthode d'analyse isotopique classique réside dans l'obtention (extraction, piègeage...) de quelques millilitres d'eau, puis d'une équilibration thermostatée à 25°C de cette eau avec du dioxyde de carbone (EPSTEIN et MAYEDA, 1953).

Or la complexité des problèmes rencontrés au cours de notre étude, nous a fait examiner la composition isotopique d'échantillons ne contenant que de très faibles quantités d'eau, de l'ordre d'une dizaine de microlitres : la méthode classique par équilibration devenant ainsi inapplicable, nous avons dû mettre au point une nouvelle technique d'extraction et de transformation de l'oxygène en dioxyde de carbone, en vue de l'analyse isotopique par spectrométrie de masse.

Cette méthode nous permet ainsi d'entreprendre des études beaucoup plus fines sur l'oxygène -18 de l'eau de ces divers échantillons. Nous l'avons également appliquée à la détermination du fractionnement isotopique de l'oxygène -18 dans le système  $H_2O-CO_2$ .

Nous examinerons au cours de ce chapitre les techniques d'extraction et d'équilibration de l'eau, puis la méthode mise au point au laboratoire, tout en comparant les avantages et les inconvénients respectifs de ces différentes méthodes.

### 1.1 - METHODE CLASSIQUE DE DESHYDRATATION SOUS VIDE (SOL, VEGETAL)

C'est la méthode utilisée habituellement pour l'extraction de l'eau des échantillons de sols ou de végétaux.

L'échantillon (T) est recueilli et placé dans une cuve à dessiccation (D) dans laquelle il subit une déshydratation maximale sous vide à la température ambiante.

La vapeur d'eau ainsi extraite est alors récupérée par l'intermédiaire de deux pièges cryoscopiques ( $C_1$  et  $C_2$ ). Le réfrigérant employé est un mélange neige carbonique-acétone ( $-77^\circ\text{C}$ ) figure (3).

L'extraction achevée, l'eau recueillie est ensuite transvasée sous vide dans un seul piège. Puis toute l'eau est soigneusement homogénéisée par agitation.

Trois millilitres de cette eau sont prélevés et mis à équilibrer avec du dioxyde de carbone, à  $25^\circ\text{C}$ , durant 12 heures suivant la méthode habituelle (EPSTEIN, 1953).

### 1.2 - METHODE CLASSIQUE DE PIEGEAGE DE LA VAPEUR D'EAU ATMOSPHERIQUE.

Un autre type de problème nous est posé par le prélèvement de la vapeur atmosphérique sur les lieux de l'étude.

Il s'agit de piéger la vapeur d'eau atmosphérique par condensation dans une série de pièges cryoscopiques en pyrex. Une pompe électrique placée en aval du système de pièges assure la vitesse de circulation du flux d'air (FONTES et CONFIAINTINI, 1969).

La température du réfrigérant ( $-77^\circ\text{C}$ ) évite de piéger l'oxygène, l'azote et le gaz carbonique atmosphériques.

Il est tout d'abord recommandé de prélever ces échantillons par temps sec, de façon à éviter tout mélange avec la vapeur issue de l'évaporation des gouttes de pluie ainsi que le piégeage d'éventuels aérosols. De plus, il faut assurer un parfait étalonnage de la vitesse de piégeage de la vapeur d'eau afin

Figure (3) : "ligne" d'extraction de l'eau des échantillons de sol ou de végétal

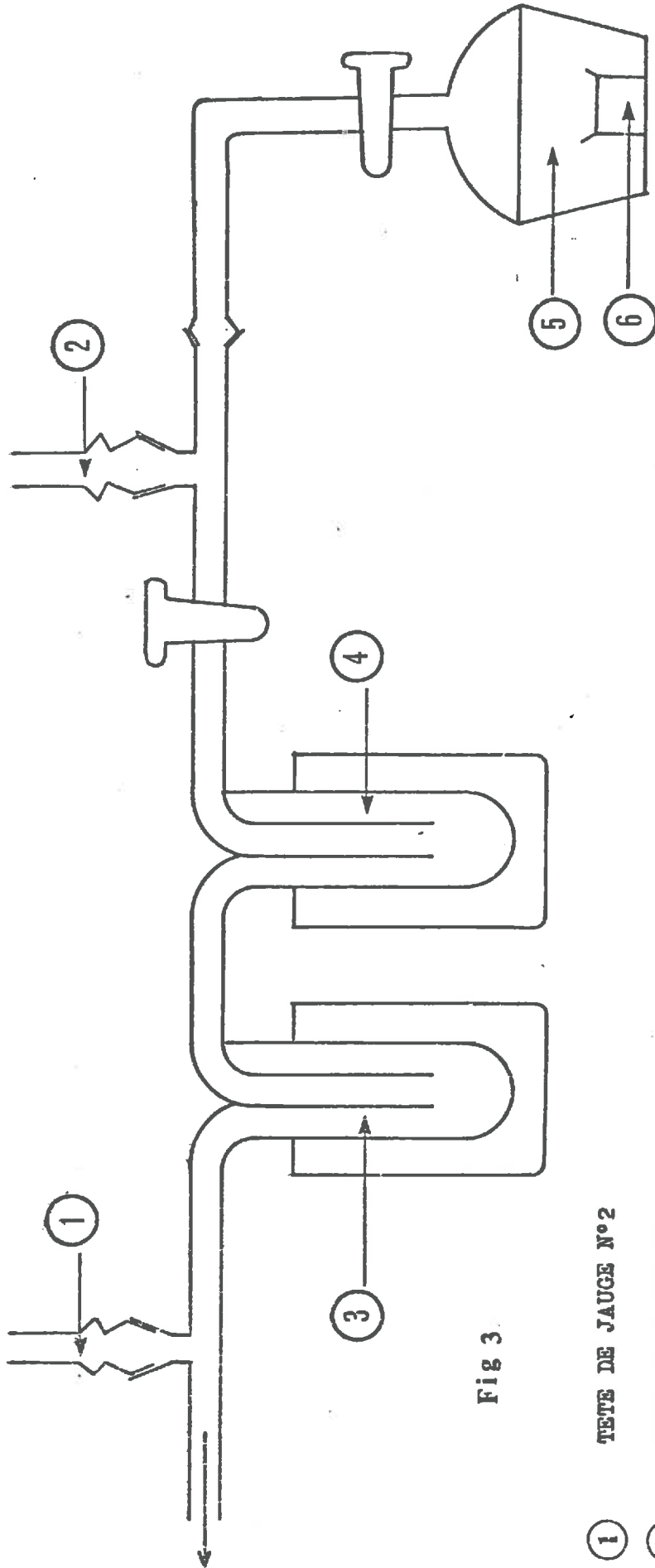


Fig 3

- (1) TETE DE JAUGE N°2
- (2) TETE DE JAUGE N°1
- (3) PIECE CRYSCOPIQUE C<sub>2</sub>
- (4) PIECE CRYSCOPIQUE C<sub>1</sub>
- (5) CUVE A DESSICATION (D)
- (6) ECHANTILLON (T)

d'éviter tout fractionnement isotopique à la condensation : la pompe électrique ne peut ainsi dépasser un débit de quelques litres/minutes. D'où un temps de piègeage particulièrement long : la teneur en  $^{18}\text{O}$  de la vapeur d'eau atmosphérique mesurée ne sera donc qu'une moyenne des variations de la composition isotopique de cette vapeur durant ce temps.

Pour résoudre ces différents problèmes, nous avons été conduits à mettre au point une nouvelle méthode, qui offre l'originalité de supprimer toutes les étapes intermédiaires entre l'extraction de l'eau de l'échantillon et la transformation de l'oxygène de cette eau en dioxyde de carbone analysé en spectrométrie de masse. On peut ainsi espérer supprimer tous les fractionnements isotopiques indésirables dus à ces différentes étapes.

Cette méthode offre également l'avantage de ne nécessiter que quelques microlitres d'eau. D'où la possibilité d'étudier de beaucoup plus près les problèmes auxquels nous sommes confrontés, par l'examen d'échantillons de petits volumes.

### 1.3 - METHODE D'EXTRACTION/REDUCTION/CONVERSION.

Il s'agit d'une adaptation de la méthode déjà utilisée au laboratoire pour l'analyse de l' $^{18}\text{O}$  de la matière organique, (FERHI et LÉTOLLE, 1975).

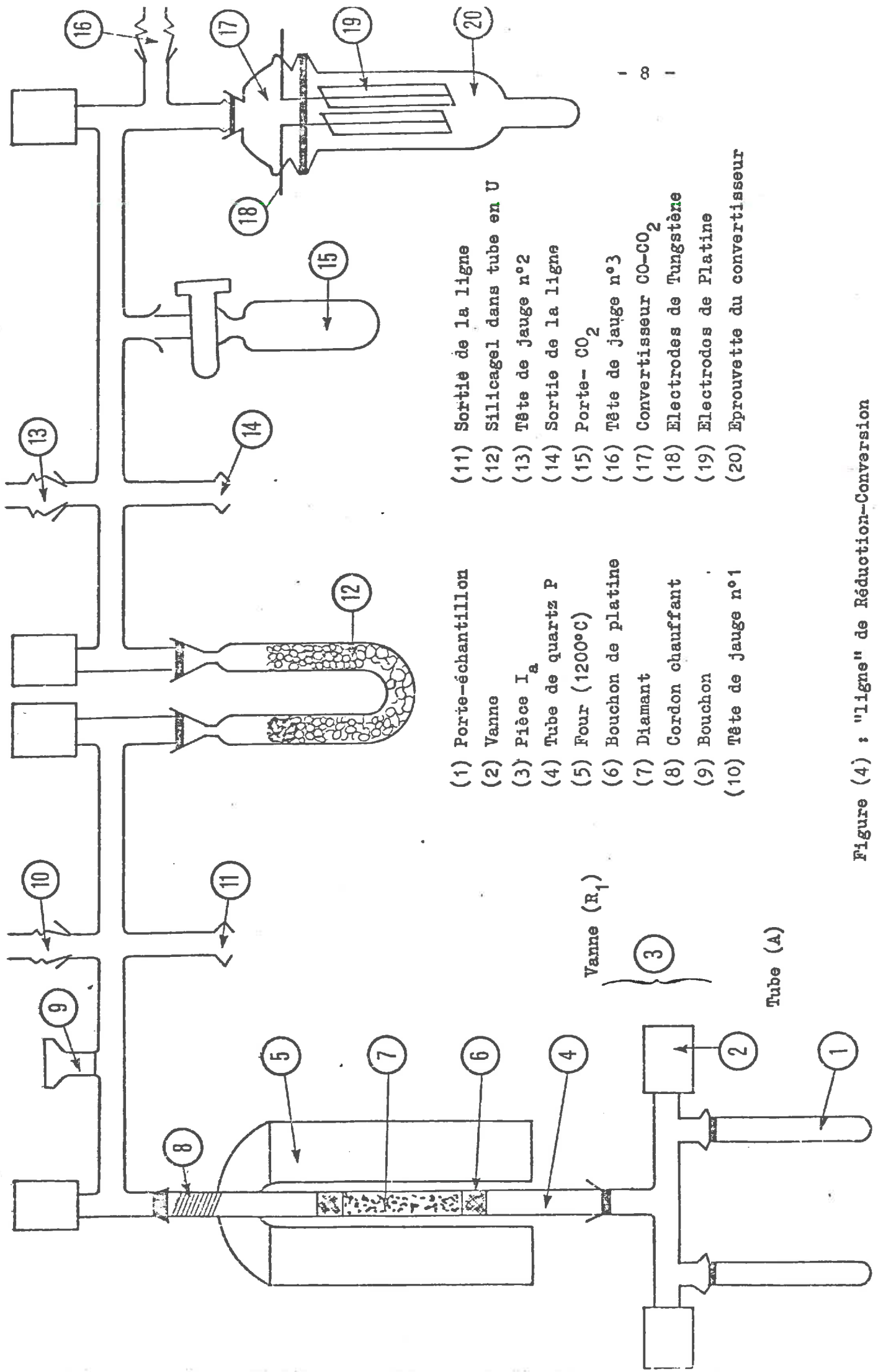
#### 1.3.1 - PREPARATION DE L'ECHANTILLON (SOL OU VEGETAL).

a) Cette préparation se déroule en quatre parties :

Une dizaine de milligrammes de tissu végétal ou de sol est rapidement introduite dans le tube (A) ( $10\text{ cm}^3$ ). Ce tube est ensuite relié à la pièce (B) munie d'une vanne ( $R_1$ ), figure (4).

b) Le tube (A) est immédiatement plongé dans l'azote liquide de façon à préserver l'échantillon de toutes dégradations et évolutions ultérieures.

c) Il est ensuite nécessaire d'évacuer le dioxyde de carbone, l'oxygène, l'azote atmosphériques, introduits dans le tube (



- |                          |                                       |
|--------------------------|---------------------------------------|
| (1) Porte-échantillon    | (11) Sortie de la ligne               |
| (2) Vanne                | (12) Silicagel dans tube en U         |
| (3) Pièce I <sub>a</sub> | (13) Tête de jauge n°2                |
| (4) Tube de quartz P     | (14) Sortie de la ligne               |
| (5) Four (1200°C)        | (15) Porte- CO <sub>2</sub>           |
| (6) Bouchon de platine   | (16) Tête de jauge n°3                |
| (7) Diamant              | (17) Convertisseur CO-CO <sub>2</sub> |
| (8) Cordon chauffant     | (18) Electrodes de Tungstène          |
| (9) Bouchon              | (19) Electrodes de Platine            |
| (10) Tête de jauge n°1   | (20) Eprouvette du convertisseur      |

Vanne (R<sub>1</sub>)

(3)

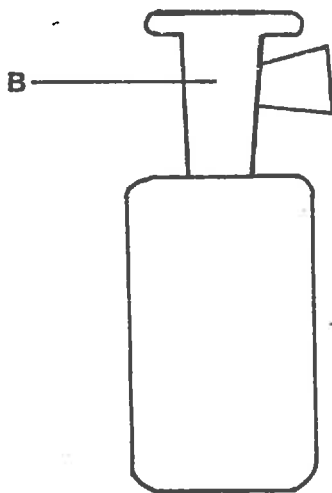
Tube (A)

Figure (4) : "Ligne" de Réduction-Conversion

en même temps que l'échantillon à analyser. Après condensation de l'eau dans l'échantillon durant une heure, ( $-77^{\circ}\text{C}$ ), le vide est réalisé dans ce tube pendant 60 secondes. L'échantillon est alors dégelé à la température de la pièce. Cette opération (c et d) est ensuite répétée. Une fois le vide ( $10^{-3}$  Torr) réalisé dans le tube (A), l'ensemble du montage (tube (A)+ pièce (Ia) ) est effectué. Puis cet ensemble est relié au tube à pyrolyse (P).

1.3.2. - PREPARATION DE L'ECHANTILLON DE VAPEUR D'EAU ATMOSPHERIQUE.

Le vide est réalisé dans la bouteille à prélèvement suivante ( $250\text{ cm}^3$ ) :



Le robinet (B) est ensuite refermé.

Sur le terrain, il suffira d'ouvrir ce robinet durant quelques secondes, puis de le refermer : nous disposerons ainsi d'un volume de vapeur d'eau atmosphérique suffisant pour la détermination de la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau. Nous évitons donc de cette façon tout piégeage par cryoscopie de la vapeur d'eau sur le terrain.

Au laboratoire, le dioxyde de carbone, l'oxygène, l'azote atmosphériques sont évacués de la même façon que précédemment. Avant le



début de la pyrolyse, la bouteille à prélèvement est reliée au tube (P).

La suite des opérations est identique, que ce soit pour l'échantillon de sol, de végétal, ou de vapeur d'eau atmosphérique.

1.3.3. REDUCTION DE L'EAU DE L'ECHANTILLON.

- Le tube à pyrolyse (P) est porté à la température de 1150 sous vide.

- La vanne (R<sub>1</sub>) est ouverte très lentement : l'eau contenue dans l'échantillonnage réduit au fur et à mesure de son passage sur la colonne de poudre de diamant et de platine suivant la réaction :



La constante d'équilibre de cette réaction  $K_1 = \frac{P(\text{H}_2) \cdot P(\text{CO})}{P(\text{H}_2\text{O})}$ , à

différentes températures, est reportée dans le tableau suivant, ainsi que la fraction d'eau (X) décomposée à ces diverses températures (MAJZOUB, 1965) :

$\theta$ °C	500	1000	1200	1400
$K_1$	$2,9 \cdot 10^{-7}$	2,37	35,8	271,4
$X \%$	$4 \cdot 10^{-4}$	0,838	0,985	0,997
$K_2$	47,4	0,8	0,4	0,3

Tableau ( II )

Théoriquement, il ne semble donc pas que cette réaction soit tout à fait complète à 1150°C d'où l'obligation de l'emploi de platine, afin de catalyser cette réaction et rendre la réduction de l'eau totale.

Il existe également une autre réaction :



La formation de dioxyde de carbone est fortement défavorisée à hautes températures, comme le montrent les valeurs de la constante d'équilibre  $K_2$ , dans ce tableau :

$$K_2 = \frac{P(\text{CO}_2) \cdot P(\text{H}_2)}{P(\text{CO}) \cdot P(\text{H}_2\text{O})}$$

La réduction de l'eau sur la poudre doit se faire le plus lentement possible, afin d'être la plus complète : le passage de la vapeur d'eau sur le diamant peut être réglé en agissant sur les vannes ( $R_1$ ), ( $R_2$ ), ( $R_3$ ).

#### 1.3.4. RECUPERATION DU MONOXYDE DE CARBONE ET EVACUATION DE L'HYDROGENE.

Le monoxyde de carbone ainsi obtenu est adsorbé au fur et à mesure de sa formation sur du silicagel placé dans un tube en "U", maintenu dans de l'azote liquide (-173°C).

Le dioxyde de carbone se condense sur le verre, au-dessus du silicagel. L'hydrogène est évacué par pompage.

A la fin de cette étape, l'eau est donc transformée en monoxyde de carbone, avec des traces de dioxyde de carbone, l'hydrogène étant éliminé.

#### 1.3.5. TRANSFORMATION DU MONOXYDE EN DIOXYDE DE CARBONE.

L'hydrogène évacué, le monoxyde de carbone est libéré sous

forme gazeuse. en retirant le piège à azote liquide et en chauffant le tube en "U"

Le monoxyde de carbone est alors transformé en dioxyde de carbone dans un convertisseur, à décharge électrique (AGGET et al, 1964) suivant la réaction de BOUDOUARD.



Le dioxyde de carbone est alors piégé (-173°C) dans un porte-échantillon au fur et à mesure de sa formation.

Tout l'oxygène de l'eau de l'échantillon est donc récupéré à la fin de la manipulation sous forme de dioxyde de carbone. Le rapport  $\frac{^{18}\text{O}}{^{16}\text{O}}$  dans ce gaz est déterminé au spectromètre de masse à double collection.

#### 1.3.6. EXPRESSION DES RESULTATS.

Ceux-ci sont exprimés en notation " $\delta$ " par rapport à un standard international de référence, qui pour les eaux, est le "SMOW", défini par CRAIG en 1961.

$$\delta^{18}\text{O} = \left( \frac{R_{\text{échantillon}} - R_{\text{standard}}}{R_{\text{standard}}} \right) 10^3$$

avec  $R = \frac{^{18}\text{O}}{^{16}\text{O}}$

Le "SMOW", (Standard Mean Ocean Water) est un étalon devant représenter la composition isotopique moyenne des eaux océaniques. Son " $\delta$ " est zéro par définition.

#### 1.3.7. FIABILITE ET REPRODUCTIBILITE DE LA MANIPULATION "REDUCTION / CONVERSION"

a) Pour vérifier la fiabilité de cette méthode, nous l'avons expérimentée sur de l'eau bipermutée, de composition isotopique déterminée.

Quelques microlitres d'eau bipermutée prélevés à la seringue HAMILTON, sont introduits dans le tube (A).

La manipulation "réduction-conversion" est effectuée afin de déterminer la teneur en  $^{18}\text{O}$ , de cette eau, obtenue par cette méthode

Parallèlement nous mesurons la teneur en  $^{18}\text{O}$  de cette eau par la méthode d'équilibration eau-gaz carbonique.

Le tableau (III) donne les résultats des analyses isotopiques du dioxyde de carbone obtenu, d'une part par équilibration de l'eau, et d'autre part par réduction de cette eau.

	$\text{CO}_2$ (équil.)	$\text{CO}_2$ (convers.)
$\delta^{18}\text{O} \text{ ‰}$	- 7,31	- 6,92
	- 7,38	- 6,79
	- 7,28	- 6,51
	- 7,23	- 7,52
	- 7,18	- 6,80
	-	-
	$\sum \frac{X}{N} = 7,28$ $\sigma_X = 0,1$	$\sum \frac{Y}{N} = 6,91$ $\sigma_Y = 0,3$

Tableau (III)

Il n'existe pas donc de grandes différences entre ces deux séries de mesures. L'erreur portant sur les analyses par la méthode d'équilibration est de 0,1‰, ce qui est conforme aux mesures déjà données dans la littérature. La méthode "réduction-conversion" est donnée avec erreur sur les analyses de  $\pm 0,3\%$ .

La reproductibilité de la méthode de micro-analyse est donc un peu moins bonne que celle de la méthode d'équilibration

Nous avons également testé la reproductibilité de la méthode "réduction-conversion" sur des échantillons de végétaux dont l'analyse isotopique est essentielle dans le cadre de notre travail.

b) Dans un premier temps, nous avons choisi d'expérimenter cette méthode sur l'eau du limbe des plantes aquatiques totalement immergées : en effet, des travaux antérieurs, (BRICOUT,

1977) ont montré l'absence de fractionnement isotopique entre l'eau du milieu de culture et celle présente dans la plante aquatique immergée. Nous aurons donc ainsi la possibilité de vérifier la fiabilité de notre méthode d'analyse, en comparant la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe de la plante et celle du milieu extérieur.

Les résultats obtenus sont les suivants :

Nature de l'organe prélevé	$\delta^{18}\text{O}$ (échantillon) ‰	$\delta^{18}\text{O}$ (eau milieu de culture) ‰
Limbe Aponogeton ulvaceus	+ 7,85	
Limbe Aponogeton ulvaceus	+ 8,32	
Limbe Aponogeton ulvaceus	+ 8,35	+ 8,27
Limbe Aponogeton ulvaceus	+ 7,98	
	$\sum \frac{X}{N} = 8,1 \pm 0,2$	

- Tableau ( IV )

Il existe donc une bonne identité isotopique entre l'eau du milieu extérieur et celle du limbe d'Aponogeton. D'où une très bonne confirmation de la fiabilité de notre méthode de micro-analyse.

La reproductibilité des manipulations effectuées sur les plantes aquatiques est bien meilleure que celle obtenue à partir des mesures de  $^{18}\text{O}$  de l'eau bipermutée. Cela peut être expliqué par la présence d'une matrice, (tissus foliaires dans le cas du végétal), permettant une diffusion plus lente des gaz sur le diamant et donc une réduction plus complète de l'eau de l'échantillon.

c) - Dans un deuxième temps, nous avons appliqué cette méthode à l'eau des échantillons de limbe d'une plante aérienne, le haricot (*Phaseolus vulgaris*).

Nature de l'organe prélevé $\delta^{18}O$ (échantillon) ‰		
Limbe Phaseolus vulgaris	+15,16	
Limbe Phaseolus vulgaris	+15,94	
Limbe Phaseolus vulgaris	+15,78	$\sum \frac{Y}{N} = + 15,4 \pm 0,5$
Limbe Phaseolus vulgaris	+14,45	
Limbe Phaseolus vulgaris	+15,74	

- Tableau (IV)

Cette mesure est de qualité inférieure à celle obtenue sur les plantes aquatiques. Nous verrons par la suite comment expliquer la différence entre les deux tests de reproductibilité effectués sur les végétaux.

d). - Avantages et inconvénients de la méthode "réduction-conversion".

Cette méthode offre en fait l'intérêt de supprimer toutes les étapes intermédiaires entre l'extraction et l'obtention du dioxyde de carbone analysable au spectromètre de masse. D'où une diminution du risque de fractionnement isotopique lors de l'analyse. De plus cette technique offre la possibilité de réaliser l'analyse d'échantillons ne contenant que quelques microlitres d'eau :

- cela permet d'effectuer des prélèvements instantanés de vapeur atmosphérique en évitant de piéger celle-ci durant plusieurs heures sur le terrain.

- Cela permet également lors de l'analyse d'échantillons de composition isotopique hétérogène de pouvoir distinguer les différents types d'eau.

Par contre, cette manipulation est particulièrement délicate : le passage de la vapeur d'eau sur le diamant doit être parfaitement réglé, sous peine d'avoir un fractionnement

isotopique très important: De plus, il s'agit d'une manipulation particulièrement longue, n'autorisant actuellement que deux analyses par jour.

1.3.8 - APPLICATION : DETERMINATION DU COEFFICIENT DE FRACTIONNEMENT ISOTOPIQUE A L'EQUILIBRE DANS LE SYSTEME H<sub>2</sub>O-CO<sub>2</sub>.

Les tensions de vapeur saturantes des diverses molécules isotopiques sont légèrement différentes, d'où l'existence d'un fractionnement isotopique lors des changements partiels de phase (condensation, vaporisation...).

Par exemple, dans le cas de l'eau :



Le coefficient de fractionnement isotopique à l'équilibre de cette réaction est :

$$\alpha = \frac{(^{18}O/^{16}O)_{eau\ liq}}{(^{18}O/^{16}O)_{eau\ vap}}$$

Et dans le cas de la réaction d'échange isotopique entre deux composés :



Le coefficient de fractionnement isotopique est exprimé de la façon suivante:

$$\alpha = \frac{(^{18}O/^{16}O)_{CO_2}}{(^{18}O/^{16}O)_{H_2O}}$$

C'est ce facteur de fractionnement que nous avons déterminé sur de l'eau bipermuté en effectuant le cycle d'expériences suivant :

a) - Du dioxyde de carbone est mis à équilibrer avec 3 millilitres d'eau, à 25°C, pendant 12 heures.

b) - Du dioxyde de carbone est obtenu à partir de la même eau en utilisant la méthode "réduction-conversion".

Pour déterminer le fractionnement isotopique, il suffira d'établir directement ce rapport au spectromètre de masse à double collecteurs.

Les résultats obtenus sont les suivants :

Coefficient de fractionnement isotopique à l'équilibre du système $(CO_2)_g - (H_2O)_l$		
Valeur théorique (25°C)	Valeurs expérimentales (25°C)	Valeurs de la bibliographie
1,0380	1,0415	
	1,0416	Compston and Epstein (1958) ..... 1.0407
	1,0419	Staschewski (1964)..... 1.0424
	1,0414	Majzoub (1966)..... 1.0417
		O'Neil and Epstein (1966a)..... 1.0412
		Bottinga and Craig (1969) ..... 1.0409
		Matsuhisa, Matsubaya, and Sakai (1971) ..... 1.0412
		Blattner (1973)..... 1.0417
		Horibe, Shigebara, and Takakuwa (1973) ..... 1.0414
		I. Friedman and J.D. Gleason (unpub. data, 1974)..... 1.0414
		O'Neil, Adami, and Epstein (1975)..... 1.0412
		R.N. Clayton (unpub. data, 1975)..... 1.0400
Valeur moyenne	11,0416 ± 0,0002	1,0412 ± 0,0004

- Tableau (V)

En conclusion, nous disposons d'une méthode par micro-analyse fiable, et dont l'écart-type de reproductibilité est légèrement supérieur à celui des méthodes plus classiques. Ce qui peut s'expliquer par la différence entre les volumes d'échantillons analysés par ces deux types de méthodes : 6 microlitres



dans le premier cas, 3 millilitres dans le second.

Cette méthode peut être maintenant appliquée à la résolution de problèmes aussi divers que la circulation de  $^{18}\text{O}$  de l'eau dans la plante, avec la possibilité de faire une distinction entre les différents organes de la plantes, la teneur en  $^{18}\text{O}$  de quelques mg de sol, les variations de la composition isotopique de la vapeur d'eau atmosphérique.

- CHAPITRE 2 -

LA TENEUR EN  $^{18}\text{O}$  DE L'EAU PRESENTE DANS LES FEUILLES DES VEGETAUX

Les travaux de GONFIANTINI (1965), de DONGMANN (1972, 1974), de LESAIN (1974), de FORSTEL (1972, 1974, 1975, 1978), de BRICOUT (1977), ont montré que l'eau des feuilles des plantes aériennes s'enrichit considérablement en  $^{18}\text{O}$  par rapport à l'eau des précipitations et du sol.

Ces différents travaux reposant tous sur la méthode "extraction-équilibre", leurs auteurs n'ont pas eu la possibilité du fait du volume d'eau requis, de suivre l'évolution de  $^{18}\text{O}$  de l'eau à travers toute la plante. C'est l'un des points que nous serons amené à étudier par la méthode de micro-analyse ; nous examinerons en particulier s'il faut considérer la feuille comme étant homogène du point de <sup>vue</sup>visotopique, ou non.

L'enrichissement isotopique de l'eau foliaire a été attribué aux processus transpiratoires (GONFIANTINI, 1965) : le fractionnement isotopique est créé, lors de l'évaporation de l'eau foliaire dans l'atmosphère par départ sélectif des isotopes les plus légers. FORSTEL (1974, 1975, 1978) a mis en évidence sur le terrain et milieu contrôlé l'existence d'une relation entre cet enrichissement et les variations de l'humidité relative atmosphérique. C'est également l'un des points sur lequel nous reviendrons afin de comparer les résultats obtenus par la méthode classique d'extraction de micro-quantités d'eau

Enfin, nous verrons s'il nous est possible de mettre en évidence une influence éventuelle de la photosynthèse sur la composition isotopique de l'eau du limbe. Pour cela, nous serons amenés à étudier la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau foliaire à la lumière puis à l'obscurité afin de déterminer l'influence des phénomènes photosynthétiques, et, enfin, à comparer la composition isotopique de plantes à métabolismes différents pour confirmer ou infirmer la présence d'un fractionnement isotopique d'origine biologique.

2.1 - TENEUR EN  $^{18}\text{O}$  DE L'EAU PRESENTE DANS DIFFERENTS ORGANES VEGETAUX.

2.1.1 - CHEZ UNE PLANTE AERIENNE : PHASEOLUS VULGARIS.

Ces expériences vont porter sur l'étude isotopique de l'eau présente dans les organes végétaux, afin de pouvoir suivre l'évolution de l' $^{18}\text{O}$  de l'eau depuis la racine jusqu'à la feuille, en passant par la tige, le pétiole et la nervure centrale chez Phaseolus vulgaris. Ces organes ayant des fonctions physiologiques différentes dans la plante, nous allons voir si cela se traduit au niveau des teneurs en  $^{18}\text{O}$  de l'eau.

a) - Protocole expérimental.

a/1. Installation générale : figure(5).

L'analyse isotopique de l'eau présente dans les organes végétaux, nous a conduit à adopter un dispositif particulier pour la culture des plantes aériennes en milieu contrôlé.

Les plantes étudiées sont disposées sous une hotte en plexiglas balayée par un courant d'air de faible débit. Le réglage de ce débit permet de stabiliser l'humidité relative sous la hotte pour une période de quelques jours. Nous disposons pour les mesures de l'humidité relative d'un psychromètre RICHARD ventilé et d'un enregistreur d'humidité relative, de température, de pression atmosphérique.

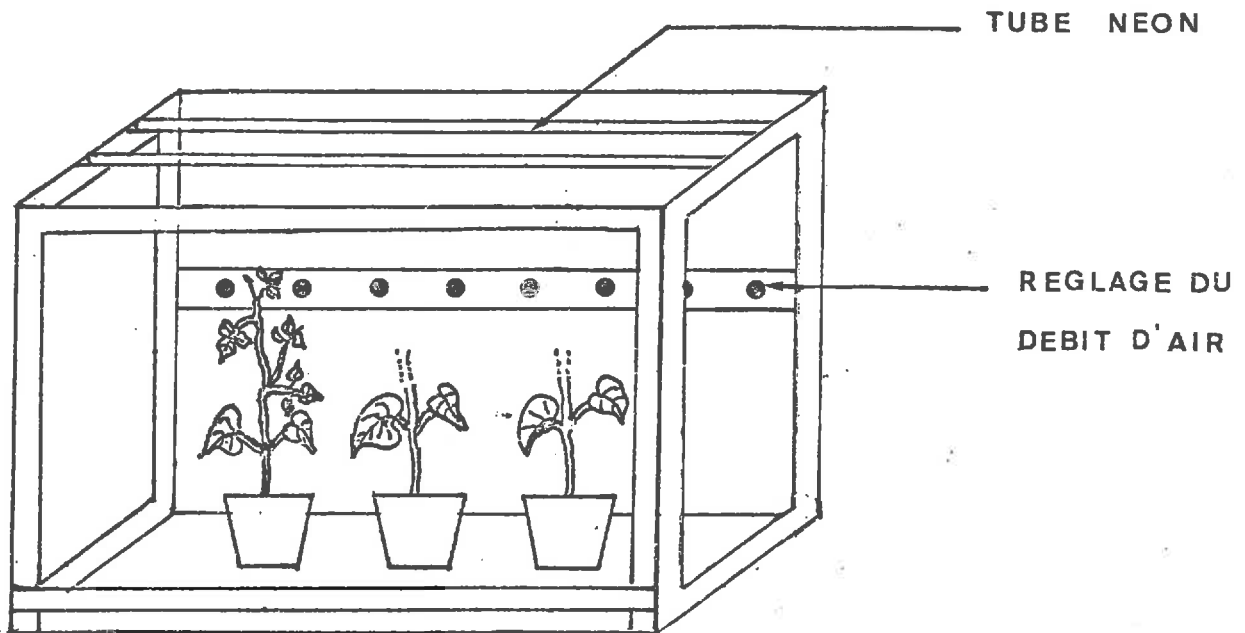


Figure (5) : Dispositif d'installation générale : Plantes aériennes.

Ces plantes sont régulièrement éclairées tous les matins à partir de 7 heures par une batterie de tubes néons et ce durant 12 heures. Nous obtenons ainsi au niveau des plantes une intensité lumineuse voisine de 10.000 lux.

a/2. Dispositif de contrôle de la composition isotopique de l'eau du sol.

De jeunes plants sont installés sous la hotte et arrosés avec une eau de composition isotopique connue. Une fois dans le sol, l'eau d'irrigation subit une modification isotopique dans le cas où on lui laisse la possibilité de s'évaporer.

a/2.1. Evolution de la composition isotopique de l'eau dans le sol nu au cours du temps.

Un sol est séché à l'étuve à 105°C jusqu'à poids constant ; puis il est réparti (150g) dans 10 béciers de 600ml. La

saturation du sol en eau ayant été déterminée à 57 % d'humidité pondérale, nous versons la même quantité d'eau dans la série des 10 béciers.

- Après avoir constaté au cours d'une autre expérience que le système racinaire de *Phaseolus vulgaris* se développait sur toute la hauteur de la colonne de sol dans le bécier, nous avons décidé d'extraire la totalité de l'eau du sol, afin de déterminer la composition isotopique de l'eau absorbée par les racines.

- Pour cela, nous avons utilisé la méthode d'extraction par distillation sous vide ; cette technique a été immédiatement appliquée à l'un de nos échantillons sans que celui-ci ait eu le temps de subir la moindre évaporation, et ce afin de conserver un échantillon-témoin.

- Les autres échantillons sont pesés deux fois par jour pour déterminer, après évaporation, leurs pertes en eau. Une fois l'humidité pondérale désirée obtenue, nous extrayons la totalité de l'eau du sol.

- Puis nous déterminons la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau de ces échantillons par la méthode d'équilibration eau-gaz carbonique.

Les résultats obtenus sont les suivants : (tableau VI et figure 6).

Echantillons	Fraction liquide restant dans le sol (%)	Durée de l'évaporation (heures)	<sup>18</sup> O ‰ SMOW
S <sub>1</sub>	100	0	- 7,83
S <sub>2</sub>	93,5	45	- 7,19
S <sub>3</sub>	87,4	92	- 6,37
S <sub>4</sub>	82,6	139	- 5,79
S <sub>5</sub>	72,3	195	- 5,75
S <sub>6</sub>	48,9	258	- 1,57
S <sub>7</sub>	43,6	314	- 0,62
S <sub>8</sub>	29,3	379	+ 0,57
S <sub>9</sub>	22,9	427	+ 1,14
S <sub>10</sub>	21,9	450	+ 1,35
S <sub>11</sub>	16,1	499	+ 2,40
Eau d'irrigation du sol			- 7,56

- Tableau VI.

On peut constater sur le tableau VI que l'enrichissement isotopique en <sup>18</sup>O de l'eau du sol est linéaire en raison inverse de la fraction liquide restant.

La droite de régression obtenue est la suivante :

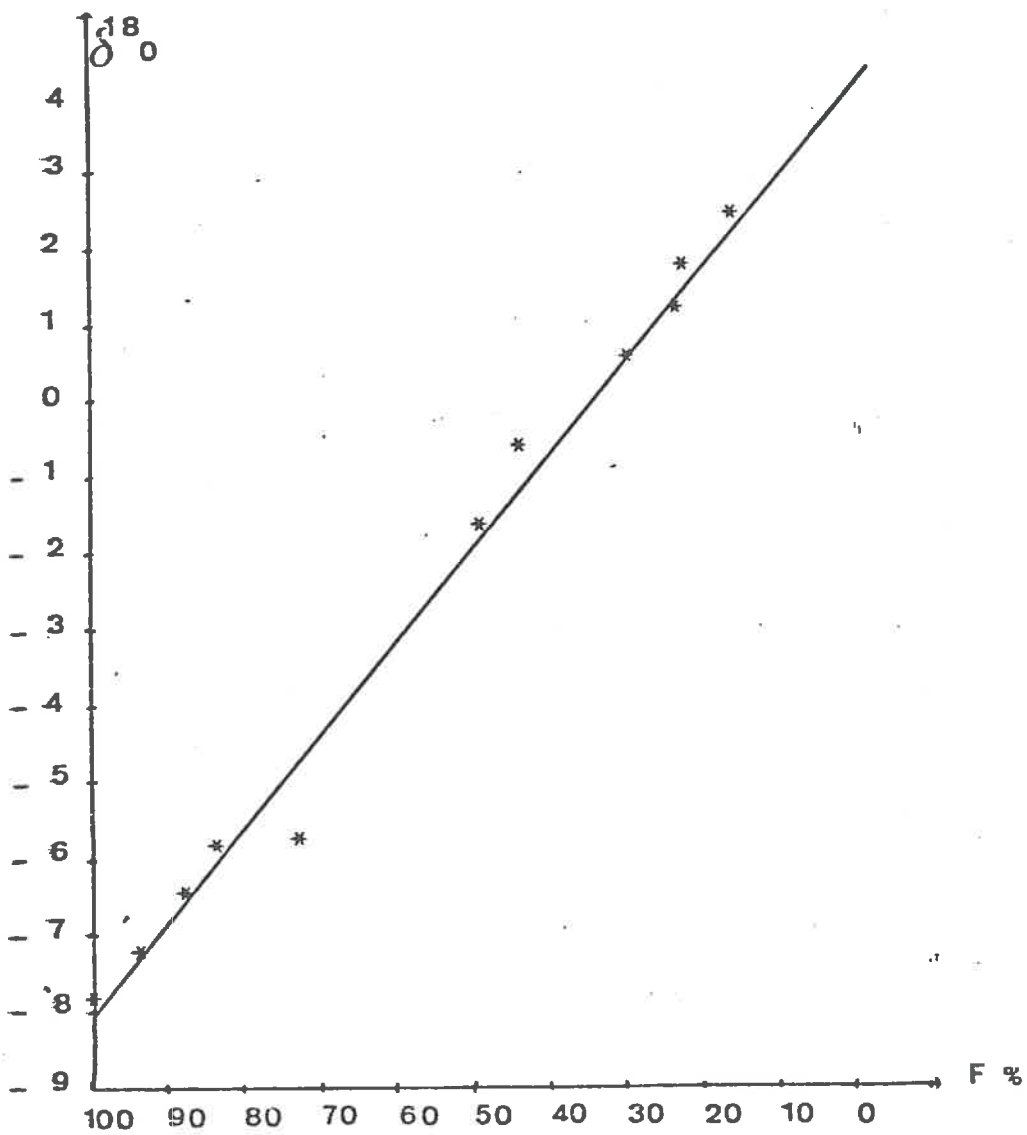
$$\delta^{18}\text{O} \text{ (eau du sol)} = 4,2 - 12,2 \cdot F$$

F = fraction liquide restant dans le sol

Le coefficient de corrélation calculé pour cette droite est :

$$R = -0,994$$

L'évaporation de l'eau dans le sol se traduit donc par un enrichissement en <sup>18</sup>O dû au départ sélectif de l'<sup>16</sup>O. Ce phénomène sera discuté en annexe I.



FIGURES 6 VARIATION DE LA COMPOSITION ISOTOPIQUE DE L'EAU DU SOLEN FONCTION DE LA FRACTION LIQUIDE RESTANT.

a/2.2 Contrôle de l'évaporation de l'eau du sol.

L'expérience précédente a montré qu'il ne faut pas garder le sol dans les mêmes conditions d'évaporation que la plante si l'on veut pouvoir disposer d'un signal isotopique de valeur constante.

Pour cela nous avons utilisé le dispositif mis au point par FERHI et LETOLLE (1978), figure (7)

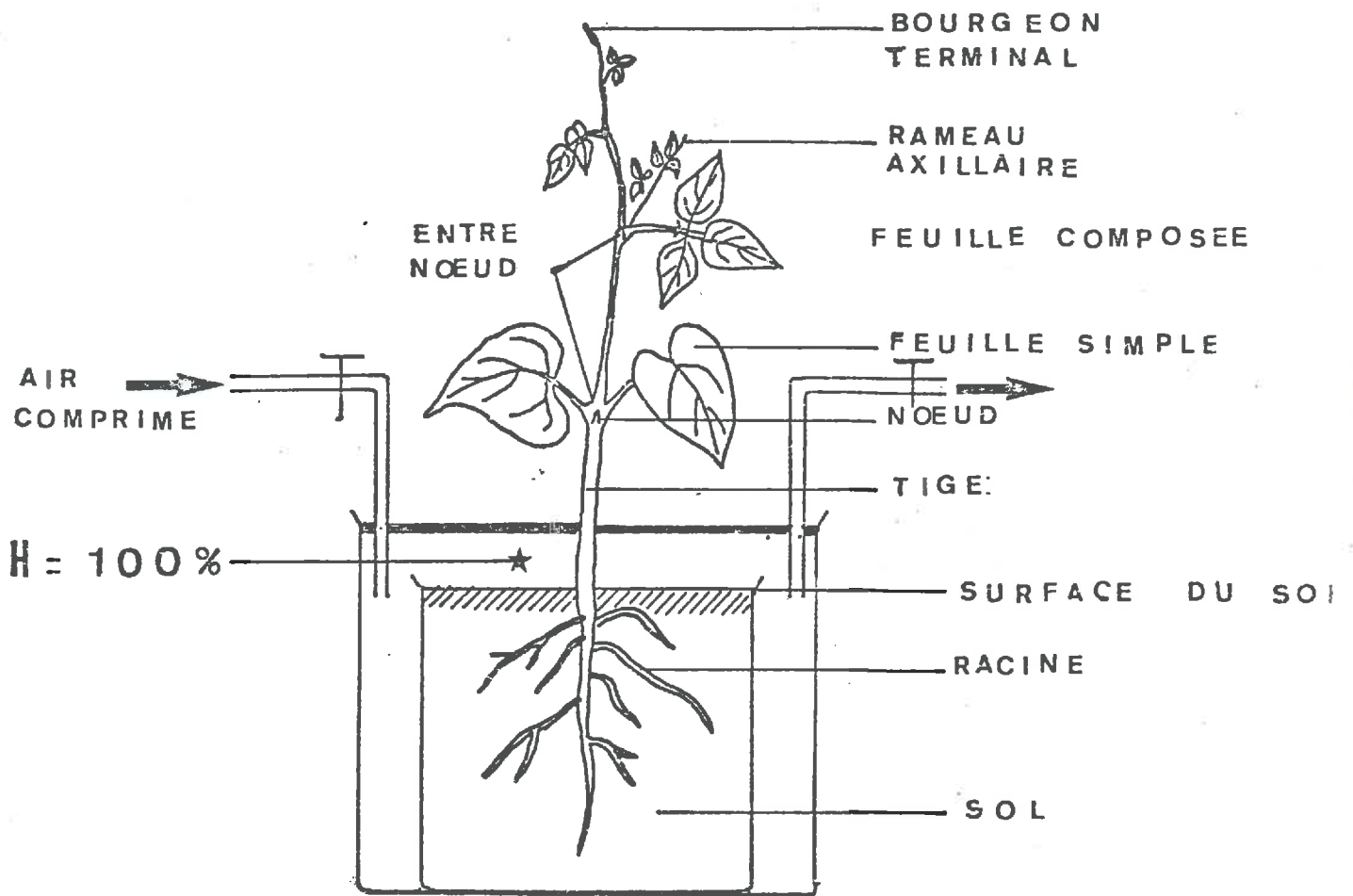


Figure (7) : Dispositif de blocage de l'évaporation de l'eau du sol



Ce dispositif a été conçu de façon à limiter au maximum toute transformation isotopique de l'eau dans le sol par évaporation, le sol étant placé sous une humidité relative de 100 %. Sous cette atmosphère saturante, l'évaporation est ainsi fortement ralentie. Il faut cependant renouveler régulièrement cette atmosphère de façon à assurer l'aération du sol et des racines : l'aération est nécessaire à l'oxygénation des tissus racinaires.

Afin de contrôler l'efficacité de ce dispositif, nous avons arrosé trois sols avec des eaux de compositions isotopiques différentes et déterminées.

Les échantillons de sol sont prélevés au bout de 15 jours. L'eau contenue est alors extraite, sa teneur en  $^{18}\text{O}$  déterminée.

Résultats : Tableau (VII).

Nature de l'échantillon analysé	$\delta^{18}\text{O}$ ‰ S.L.O.W.
Eau d'irrigation n° 1	- 7,5
Eau du sol au bout de 15 jours	- 6,6
Eau d'irrigation n° 2	- 4,2
Eau du sol au bout de 15 jours	- 3,1
Eau d'irrigation n° 3	- 0,7
Eau du sol au bout de 15 jours	- 0,2

Cette méthode limite donc l'enrichissement de  $^{18}\text{O}$  de l'eau dans le sol à 1 % environ.

b) - Mise en évidence de l'évolution isotopique de l'oxygène de l'eau au cours de son cheminement dans la plante.

Pour détecter l'existence d'une évolution de la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau dans la plante nous avons prélevé, deux à deux des organes végétaux afin de comparer leurs compositions

isotopiques.

Nature de l'échantillon analysé	Horaire du prélèvement	H(%)	$\theta$ (°C)	$\delta^{18}\text{O}$ (‰) S.K.O.W.
racine Phaseolus vulgaris	6	58	22	- 0,3
limbe Phaseolus vulgaris	6	58	22	+ 12,1
gaine Phaseolus vulgaris	10	48	18	+ 1,4
limbe Phaseolus vulgaris	10	48	18	+ 15,7
racine primaire Phaseolus	10	45	18	+ 3,6
limbe Phaseolus vulgaris	10	45	18	+ 15,8
Eau d'irrigation du sol				- 0,7

- Tableau (VIII).

De ces résultats, nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

Il existe de grandes différences entre les compositions isotopiques de l'eau présente dans les organes.

Nous pouvons ainsi mettre en évidence deux groupes :

- Celui de limbe, d'une part, dont l'eau est fortement enrichie en  $^{18}\text{O}$ . Au sein de ce groupe il semble exister d'importantes variations.

- Celui des autres organes végétaux, dont l'eau est beaucoup plus faiblement enrichie en  $^{18}\text{O}$  par rapport aux teneurs respectives dans le limbe.

Afin de pouvoir suivre les variations simultanées de  $^{18}\text{O}$  de l'eau de la plante, nous avons prélevé tous les organes en même temps, figure (8).

1<sup>ERE</sup> EXPERIENCE :

HORAIRE : 19 HEURES

H (%) : 41

θ (°C) : 26

+4,6

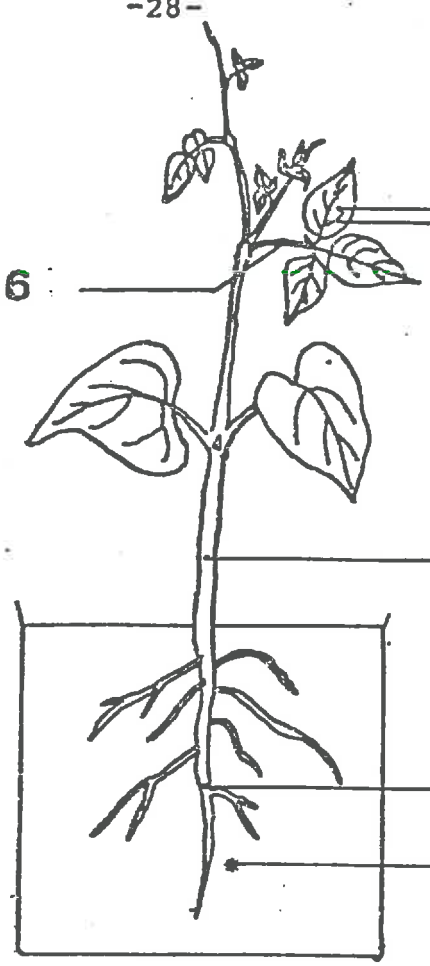
+22,7

+5,4

+3,3

+2,2

-0,2



2<sup>EME</sup> EXPERIENCE :

HORAIRE : 3 HEURES

H (%) : 70

θ (°C) : 21

+2,2

+9,8

-0,7

-0,9

?

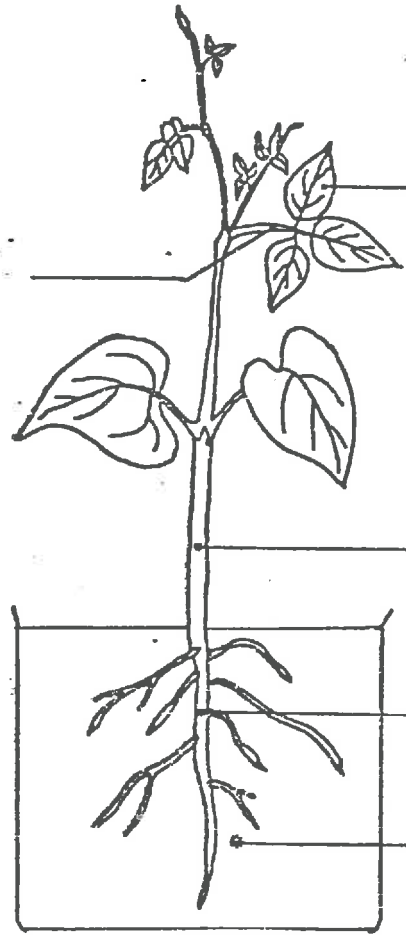


Figure (2) : Teneur en H<sub>2</sub>O de l'eau de différents organes de Phaseolus vulg prélevés en même temps.

Une autre série d'analyses a été réalisée sur une renoncule (*Ranunculus montanus*), prélevée au Col du Grand Saint-Bernard (horaire du prélèvement : 12 heures, température de l'air 13°C), tableau (IX).

Nature de l'organe prélevé	Humidité relative (%)	$^{18}\text{O}$ ‰ SMOW
Tige <i>Ranunculus montanus</i>	71	-7,9
Pétiole <i>Ranunculus montanus</i>	71	-3,4
Limbe <i>Ranunculus montanus</i>	71	?
Pétale <i>Ranunculus montanus</i>	71	-1,2

Tableau (IX)

Ayant cassé la pièce contenant l'échantillon de limbe durant le transport, sa teneur en  $^{18}\text{O}$  n'a pu être déterminée. De même, nous ne disposons pas du  $^{18}\text{O}$  de l'eau présente dans le sol et dans les racines. Toutefois, la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du lac du Grand Saint-Bernard prélevée 50 mètres plus bas, était ce jour-là de -14 ‰.

c) - Observations.

De l'ensemble de tous ces résultats, nous pouvons dégager un certain nombre de constatations.

- A l'entrée du système constitué par ce végétal, il n'existe pas une grande différence entre la composition isotopique de l'eau dans le sol et celle des racines. Puis cette différence s'accroît au fur et à mesure que l'on s'éloigne des racines vers les feuilles, la discrimination isotopique devenant de plus en plus forte. Dans le limbe il existe des teneurs nettement supérieures à celles des autres organes; ces teneurs subissent de fortes variations en fonction de paramètres étudiés plus loin.

- De plus, l'existence d'une différence entre les teneurs en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe et celles des nervures démontre que l'on ne peut considérer la feuille comme un bassin homogène du point de vue isotopique : deux types d'eau différents circulent donc dans la feuille. Cette observation justifie la relative mauvaise reproductibilité obtenue lors du test effectué sur les feuilles de plantes aériennes.

Nous avons donc affaire à des échantillons hétérogènes du point de vue isotopique : d'où le plus grand soin à apporter lors du prélèvement de ces échantillons pour éviter les plus grosses nervures.

#### 2.1.2 - CHEZ DES PLANTES AQUATIQUES : ELODEA CANADENSIS, APO- GETON ULVACEUS.

a) - Détermination de la teneur en  $^{18}\text{O}$  globale de l'eau des plantes aquatiques totalement immergées.

a/1. Prélèvements sur le terrain et extraction de l'eau.

Les plantes aquatiques étudiées sont des plantes fixées totalement immergées. Ces prélèvements ont été effectués dans le Betz (affluent du Loing) le 30/10/77. Les échantillons recueillis sont amenés au laboratoire avec l'eau du milieu dans des récipients hermétiques.

Ils sont soigneusement et rapidement essuyés, puis ils sont placés dans la cuve à dessiccation de la ligne d'extraction sous vide.

Les résultats obtenus vont donc nous donner une idée de la composition isotopique globale de l' $^{18}\text{O}$  de l'eau circulant dans ces végétaux, tableau (X)

a/2. Résultats.

a/2. Résultats.

Nature de l'échantillon analysé	$\delta^{18}\text{O}$ (‰) S.L.O.W.
Plant Elodea canadensis	- 5,5
Plant Elodea canadensis	- 5,4
Plant Elodea canadensis	- 5,2
Eau de la rivière	- 5,6

Tableau (XI)

a/3. Observations.

La détermination de la composition isotopique globale de  $1^{18}\text{O}$  de l'eau circulant dans ce végétal, nous montre qu'il n'existe pas de différence significative entre les plants d'*Elodea canadensis*. On peut également remarquer que l'eau circulant dans cette plante a sensiblement la même composition isotopique que l'eau du milieu.

Cependant, la méthode de déshydratation sous vide nécessite une grande masse végétale, tous organes confondus. Cette méthode ne permet donc pas de suivre l'évolution de  $1^{18}\text{O}$  dans les organes ne contenant que quelques microlitres d'eau. C'est ce qui nous conduit à abandonner ce type de méthode et à n'utiliser que la méthode de micro-analyse.

b) - Etude de la teneur en  $^{18}\text{O}$  au cours du cheminement de l'eau dans la plante.

L'emploi de la méthode portant sur des micro-quantités d'eau nous permet de comparer le  $\delta^{18}\text{O}$  de l'eau des plantes aquatiques avec le  $\delta^{18}\text{O}$  de l'eau des plantes aériennes.

b/1. Protocole.

Il s'agit cette fois d'expériences réalisées au laboratoire. Les plantes aquatiques sont cultivées dans des aquariums thermostatés de 50 litres et de 100 litres. Ces bacs sont soigneusement recouverts de façon à éviter toute évaporation de l'eau et par là, toute modification isotopique du milieu de culture. L'aération de l'eau est assurée par des diffuseurs d'air. Figure (9).

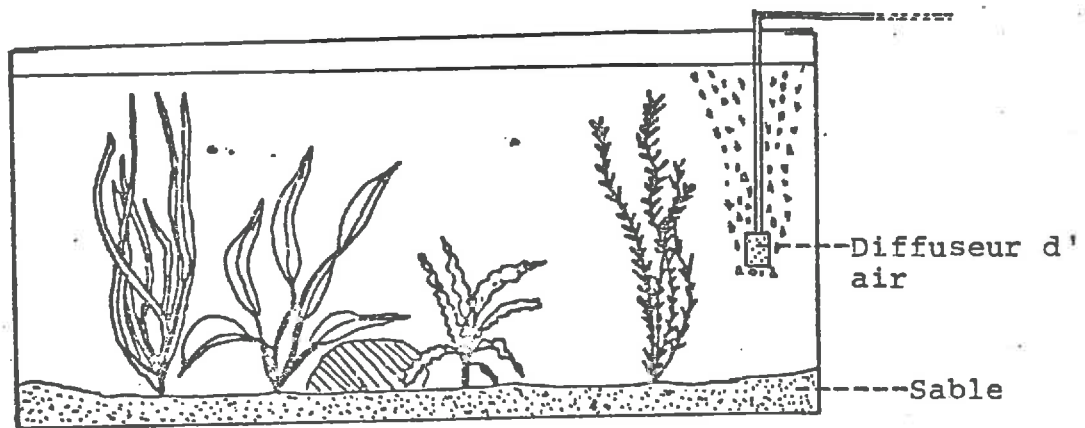


Figure (9) : Dispositif d'installation générale pour la culture des plantes aquatiques.

b/2. Résultats. Tableau (XII).

Nature de l'échantillon analysé		$\delta^{18}\text{O}$ (‰) S.I.O.P.
Racine	Aponogeton ulvaceus	+ 8,3
Tige	Aponogeton ulvaceus	+ 8,4
Nervure primaire	Aponogeton ulvaceus	+ 8,1
Limbe	Aponogeton ulvaceus	+ 7,9
Eau du milieu de culture		+ 8,1

c) - Observations.

Si l'on compare ces résultats à ceux obtenus lors d'une expérience semblable chez *Phaseolus vulgaris*, il ne semble pas y avoir dans le cas de cette plante aquatique la moindre variation dans la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau des différents organes. De plus, il n'existe pas de variation entre le  $\delta^{18}\text{O}$  de l'eau du milieu de culture et celui des organes végétaux, contrairement à ce qui a été observé chez *Phaseolus vulgaris*. Il semble donc, dans le cas des plantes aquatiques immergées, que ce soit le milieu de culture qui règle la composition isotopique de l'eau de la plante. Cela est également mis en évidence dans le tableau suivant :

Tableau XIII.

Nature de l'échantillon	$\delta^{18}\text{O}$ de l'eau de cet échantillon	$\delta^{18}\text{O}$ de l'eau du milieu de culture
Limbe <i>Aponogeton ulvaceus</i>	- 6,15	- 5,72
Limbe <i>Anubias lanceolata</i>	- 5,94	- 5,72
Limbe <i>Cryptocoryne lingua</i>	- 6,26	- 5,72

Enfin, l'absence de différence entre les teneurs en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe et des nervures, implique l'homogénéité de la feuille du point de vue isotopique. D'où un bon résultat lors du test de reproductibilité effectué sur les feuilles des plantes aquatiques.

2.2 - ETUDE DE LA VARIATION DE LA TENEUR EN  $^{18}\text{O}$  DE L'EAU DU LIMBE EN FONCTION DE L'AGE DE LA FEUILLE.

2.2.1 - CHEZ UNE PLANTE AERIENNE : PHASEOLUS VULGARIS.



a) - Etude de la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe au sein d'une même feuille.

a/1. Protocole expérimental.

Nous avons observé une hétérogénéité de la composition isotopique de l'eau dans la feuille, ce qui nous a amené à distinguer la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau dans le limbe de celle des nervures. Il nous reste à examiner, si au sein de ce limbe, la teneur en  $^{18}\text{O}$  est homogène ou non.

Pour cela, nous prélevons sur une même feuille, trois échantillons de limbe, dont nous déterminons la teneur en  $^{18}\text{O}$ .

a/2. Résultats.

Nature de l'échantillon analysé	$\delta^{18}\text{O}$ (eau organe) ‰ S.M.O.W.
Limbe Phaseolus vulgaris	+ 14,4
Limbe Phaseolus vulgaris	+ 14,8
Limbe Phaseolus vulgaris	+ 14,5
Eau d'irrigation	- 0,7

Puis dans des conditions expérimentales différentes, nous refaisons la même manipulation.

Nature de l'échantillon analysé	$\delta^{18}\text{O}$ (eau organe) ‰ S.M.O.W.
Limbe Phaseolus vulgaris	+ 12,5
Limbe Phaseolus vulgaris	+ 12,3
Limbe Phaseolus vulgaris	+ 11,9
Eau d'irrigation	- 0,7

a/3. Observations.

L'homogénéité du limbe d'une même feuille, du point de vue isotopique, est mise en évidence à travers tous ces résultats. La feuille semble donc être constituée par deux ensembles :

- les nervures
- le limbe, lieu privilégié de l'enrichissement isotopique.

b) - Etude de la composition isotopique de l'eau du limbe prélevé sur la même plante, à des niveaux foliaires différents.

b/1. Protocole.

Le but de cette expérience est d'étudier les variations de la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du mésophylle en fonction de la position de la feuille le long de la tige, c'est-à-dire en fait, en fonction de l'âge de la feuille.

Ainsi, il nous sera possible de déterminer si l'enrichissement isotopique observé dans le limbe est uniforme dans toutes les feuilles de la même plante. Pour cela, nous prélevons à un instant donné, des échantillons de limbe à différentes hauteurs sur un même plant de *Phaseolus vulgaris*.

b/2 Résultats

HORAIRE : 20 HEURES

H (h) : 58

θ (°C) : 23

14,9

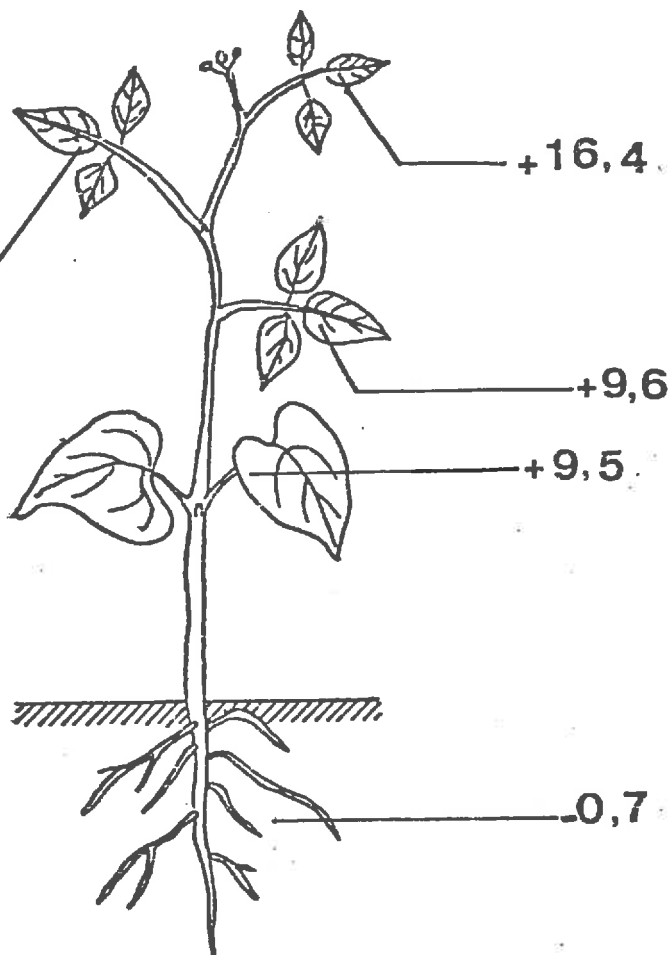


Figure (10): Variation de la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe en fonction de l'âge de la feuille.

b/3 - Observations.

Nous avons déjà constaté l'existence d'une très grande variabilité des teneurs en  $^{18}\text{O}$  de l'eau des organes végétaux. Les résultats de cette expérience nous enseignent maintenant que dans le limbe, ces mêmes teneurs peuvent varier suivant l'âge de la feuille de façon considérable : plus on se rapproche des feuilles les plus jeunes, plus l'eau s'enrichit en  $^{18}\text{O}$  dans le limbe.

Les plus grandes variations isotopiques ayant été enregistrées dans les feuilles les plus jeunes, nous sommes ainsi amenés à prélever pour la suite de nos expériences, les limbes des feuilles situées en position les plus hautes, afin d'enregistrer les plus fortes variations.

2.2.2 - CHEZ UNE PLANTE AQUATIQUE : Aponogeton ulvaceus.

a) - Etude de la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau présente dans le limbe d'une même feuille.

a/1. Protocole expérimental.

Nous allons rechercher si les teneurs en  $^{18}\text{O}$  de l'eau présente dans le limbe d'Aponogeton, sont homogènes ou non. Sur une même feuille, nous prélevons en même temps divers fragments de limbe, dont nous déterminons la composition isotopique de l'oxygène de l'eau.

a/2. Résultats.

Tableau (XVI).

Nature de l'échantillon analysé	$\delta^{18}\text{O}$ (‰) S.L.O.W.
Limbe Aponogeton ulvaceus	+ 7,8
Limbe Aponogeton ulvaceus	+ 8,3
Limbe Aponogeton ulvaceus	+ 8,3
Limbe Aponogeton ulvaceus	+ 8,0
Eau du milieu de culture	+ 8,1

a/3. Observations.

La feuille d'Aponogeton est comparable, du point de vue isotopique à celle du haricot, en ce sens, que dans les deux cas, le limbe a une teneur en  $^{18}\text{O}$  homogène. Mais, comme nous avons pu le constater chez Aponogeton, toute la feuille, nervures comprises, possède la même teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau, ce qui est fort différent dans le cas de Phaseolus vulgaris.

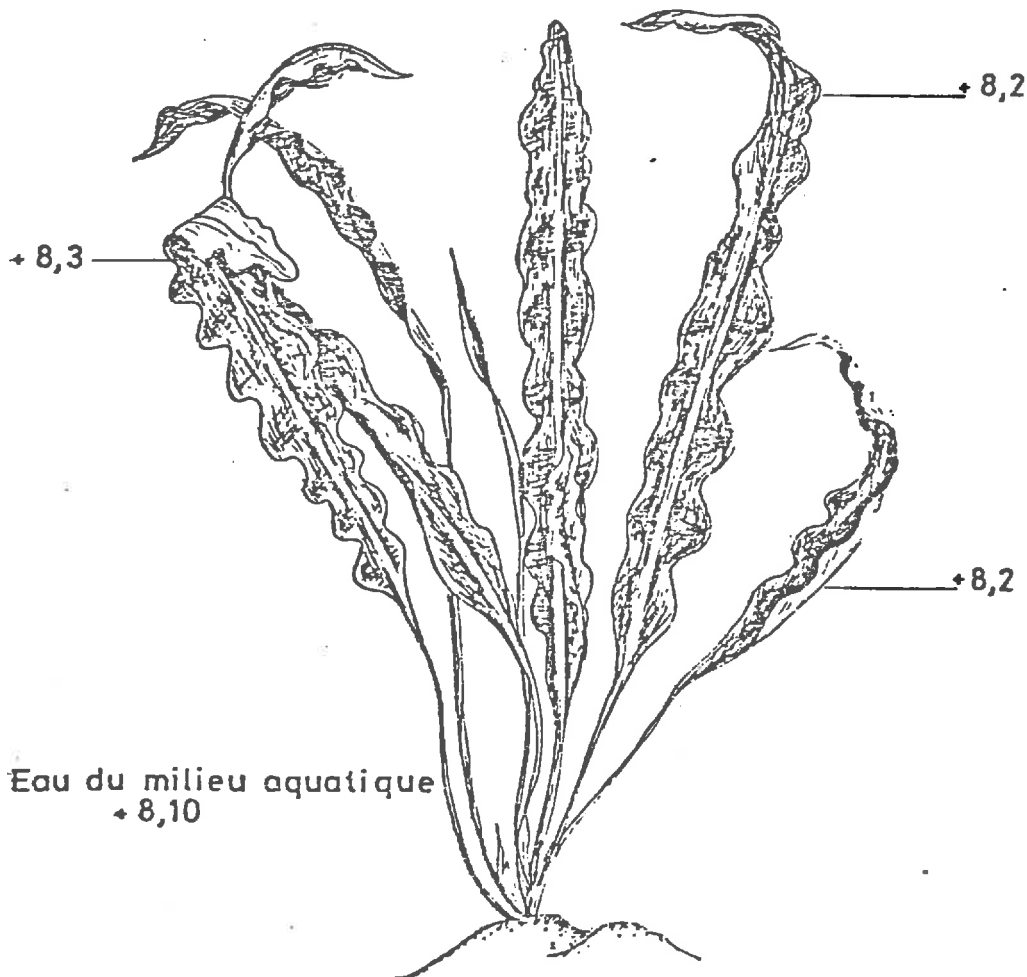
b) - Etude de la composition isotopique de l'eau du limbe d'Aponogeton ulvaceus en fonction de l'âge de la feuille.

b/1. Protocole expérimental.

Après avoir constaté qu'il existait une grande variation dans l'enrichissement isotopique de l'eau de la feuille des plantes aériennes, en fonction de l'âge foliaire, nous allons réaliser la même expérience sur une plante aquatique : sur différentes feuilles d'un plant d'Aponogeton ulvaceus, des échantillons de limbe sont prélevés au même moment.

b/2. Résultats.

Figure (11) : Evolution de la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe d'Aponogeton en fonction de l'âge de la feuille.



b/3. Observations.

Contrairement à ce qui avait été observé chez *Phaseolus vulgaris*, l'âge de la feuille n'influence pas la composition isotopique de l'eau foliaire dans le cas d'une plante aquatique totalement immergée.

A la suite de cette étude, nous pouvons donc distinguer deux catégories de plantes :

- les plantes aériennes, isotopiquement totalement hétérogènes, et dont les feuilles les plus jeunes présentent la teneur en  $^{18}\text{O}$  la plus forte.

- les plantes aquatiques, totalement homogènes du point de vue isotopique, caractérisées par une absence de fractionnement isotopique entre l'eau du milieu de culture et celle des organes de la plante.

Après cette étude de la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau présente dans les organes des plantes, nous allons maintenant examiner l'action des paramètres du milieu sur ces mêmes teneurs. En effet nous avons pu constater tout au long de cette étude, que certains paramètres du milieu influençaient la composition isotopique de l'eau de la plante :

- teneur en  $^{18}\text{O}$  du milieu de culture dans le cas d'*Aponogeton ulvaceus*.

- humidité relative atmosphérique dans le cas de *Phaseolus vulgaris*.

Nous allons donc rechercher, dans ces deux milieux, les paramètres pouvant agir sur la composition isotopique de l'oxygène de l'eau dans les végétaux, et examiner l'influence de ces paramètres sur la variation de cette teneur.

2.3 - EVOLUTION DE LA COMPOSITION ISOTOPIQUE DE L'EAU DU LIMBE DES PLANTES AERIENNES LORS DES VARIATIONS DU DEFICIT HYGROMETRIQUE ATMOSPHERIQUE.

Depuis les travaux de GONFIANTINI (1965), nous savons que l'eau des feuilles des plantes aériennes s'enrichit en  $^{18}\text{O}$  par la transpiration. Connaissant la relation existant entre l'humidité relative de l'air et la transpiration, figure (12),

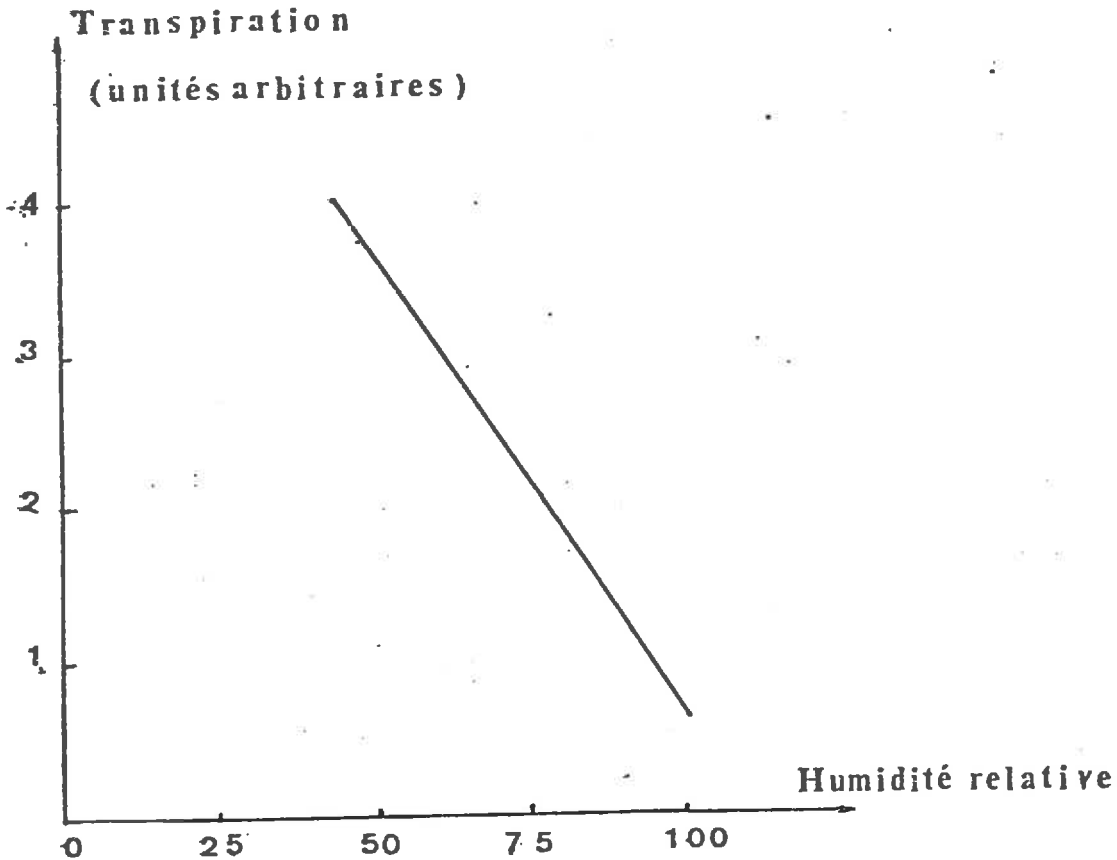


Figure (12) : variation de la transpiration d'un pied de Tourne-sol en fonction de l'humidité relative de l'air (MAZLIAK 1974).

Nous allons maintenant rechercher quelle influence peuvent avoir les fluctuations de l'humidité relative sur les teneurs en  $^{18}\text{O}$  de l'eau dans le limbe. Tous les autres composants du milieu étant maintenus constants, nous n'introduirons dans cette expérience, qu'une seule variable, l'humidité atmosphérique. Nous serons ainsi amenés à distinguer deux cas suivant la variation de l'humidité relative dans un intervalle de 40% à 100 %, et dans un intervalle de 20 % à 40 %. En dessous de 20 %, le haricot se flétrit. Il sera ainsi possible d'examiner

la réponse isotopique de l'oxygène de l'eau du limbe de *Phaseolus vulgaris* cultivé dans des milieux de culture très différents.

a) - Protocole expérimental.

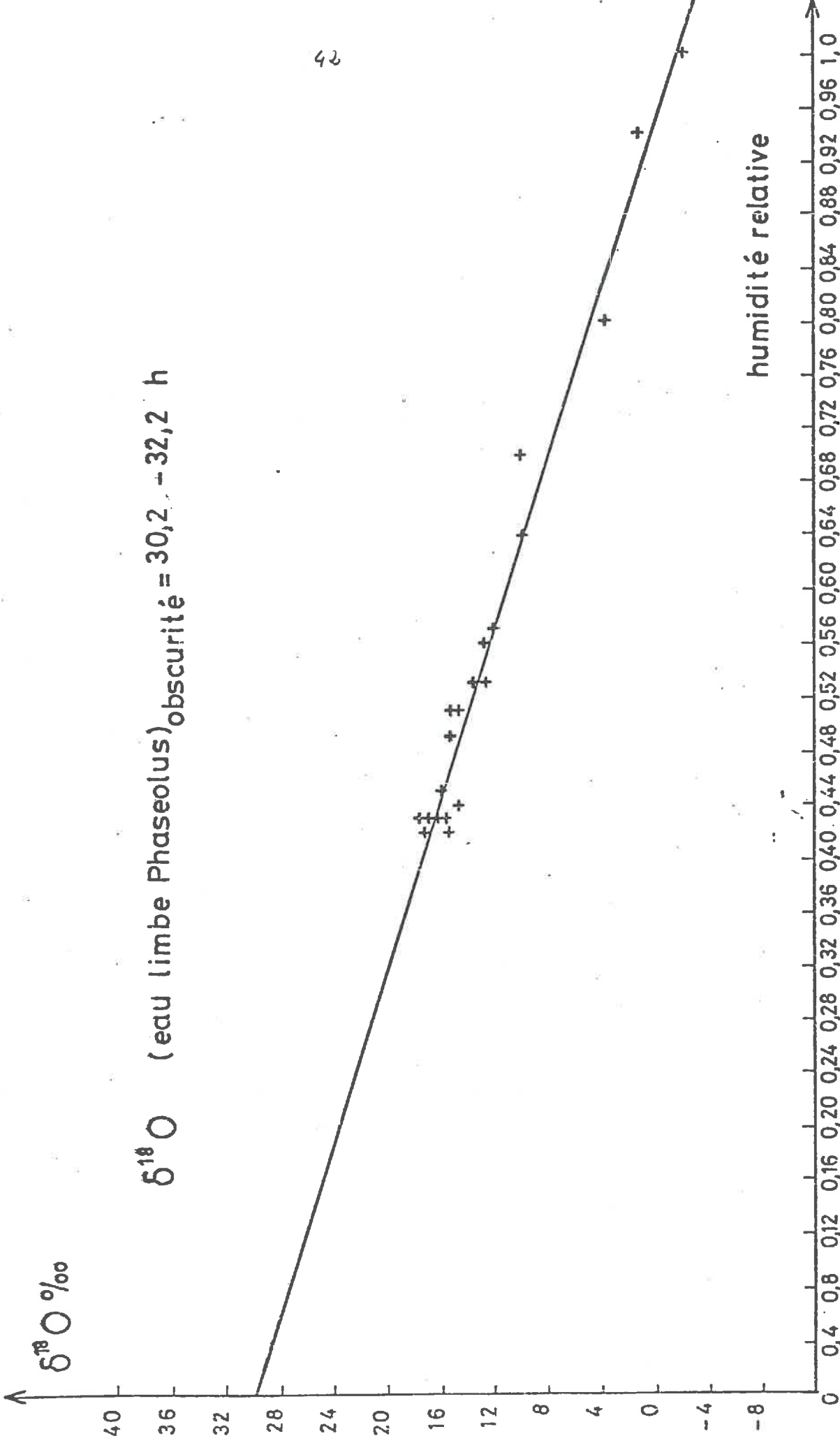
Les paramètres du milieu composition isotopique de l'eau du sol, vitesse du vent, intensité lumineuse, périodes d'éclairement de douze heures chacune étant maintenus constants, des plants de haricots sont cultivés sous des humidités relatives différentes (de 40 % à 100 %) et rigoureusement contrôlées.

Au bout de trois jours de stabilisation de l'humidité relative de l'air, nous prélevons des échantillons de limbe sur les feuilles les plus jeunes, et ce, après douze heures d'exposition à l'obscurité.

b) - Résultats. Tableau (XVII) et figure (13).

Humidité relative (%)	Température (°C)	<sup>18</sup> O ‰ SMOW
42	22	+17,2
42	24	+15,2
43	20	+17,2
43	19	+16,7
43	20	+15,9
43	20,5	+15,7
44	20	+14,4
45	?	+15,8
49	25	+15,0
51	22,5	+14,5
51	21	+14,4
53	22,5	+13,3
53	20	+13,2
53	21	+12,3
56	16	+12,5
57	26	+11,9
64	20	+ 9,6
70	21	+ 9,8
80	?	+ 3,3
90	20,5	+ 1,1
100	22	- 2,4





$\delta^{18}O$  (eau limbe Phaseolus) obscurité = 30,2 - 32,2 h

Fig 13 Variation de la teneur en  $^{18}O$  de l'eau du limbe de Phaseolus vulgaris en fonction de l'humidité relative de l'air (après 12 heures de phase obscure)

c) - Observations.

Les résultats consignés dans le tableau (XVII) font apparaître l'existence d'une étroite relation entre les variations de l'humidité relative et celles des teneurs en  $^{18}\text{O}$ . Comme on peut le constater sur la figure (13), la composition isotopique de l'oxygène de l'eau du limbe s'enrichit linéairement lorsque l'humidité relative atmosphérique décroît.

L'équation de cette droite (I) a été établie à partir de 21 couples de valeurs :

$$\delta^{18}\text{O} \text{ (eau limbe Phaseolus) } = 30,2 - 32,2 H$$

H, étant l'humidité relative de l'air

Le coefficient de corrélation calculé pour cette période est de :

$$R = - 0,987$$

Cette droite est voisine de celle déterminée par FORSTEL en 1975. Il nous reste maintenant à examiner le comportement isotopique de l'eau du limbe lorsque l'humidité relative de l'air est abaissée en dessous de 40 %, c'est-à-dire lors d'une transpiration intense du végétal.

2.4 - EVOLUTION DE LA TENEUR EN  $^{18}\text{O}$  DE L'EAU DU LIMBE DES PLANTES AERIENNES LORS D'UN ACCROISSEMENT BRUTAL DU DEFICIT HYGROMETRIQUE ATMOSPHERIQUE.

Nous allons étudier lors de cette expérience la façon dont se comporte du point de vue isotopique, l'oxygène de l'eau du limbe d'une plante aérienne lors d'une accentuation brutale de la transpiration.

a) - Protocole expérimental.

Des haricots sont cultivés suivant nos conditions habituelles, sous une humidité relative de 50 %. Puis ils sont rapidement transférés sous des humidités respectives de 34 %, 28%, 25 %, 20 %. Au bout de trois heures, nous prélevons des échantillons de limbe sur les feuilles les plus jeunes exposées

à ces diverses humidités.

Afin de pouvoir suivre l'évolution de cette composition isotopique dans le temps nous refaisons ces prélèvements trois jours, sous les mêmes humidités relatives.

b) - Résultats. Tableau (XVIII).

b/1. 1ere série de prélèvements effectués au bout de trois heures.

Nature de l'organe prélevé	Heure du prélèvement	H %	$\theta(^{\circ}\text{C})$	$\delta^{18}\text{O} \text{ ‰}_{\text{SNOW}}$
Limbe de Phaseolus	7 heures	34	23	+ 25,9
Limbe de Phaseolus	7 heures	28	23	+ 30,3
Limbe de Phaseolus	7 heures	25	25	+ 35,5
Limbe de Phaseolus	7 heures	20	25	+ 41,8
Eau d'irrigation				- 0,7

b/2. 2<sup>eme</sup> série de prélèvements effectués au bout de trois jours.

Nature de l'organe prélevé	Heure du prélèvement	H %	$\theta(^{\circ}\text{C})$	$\delta^{18}\text{O} \text{ ‰}_{\text{SNOW}}$
Limbe Phaseolus	7 heures	34	24	+ 19,7
Limbe Phaseolus	7 heures	28	25	+ 22,1
Limbe Phaseolus	7 heures	25	26	+ 22,8
Limbe Phaseolus	7 heures	20	26	Limbe flétri
Eau d'irrigation				- 0,7

c) - Observations.

Bien que l'humidité relative soit identique dans les deux séries, nous obtenons des résultats très différents suivant la durée de l'exposition du végétal à cette humidité. Nous enregistrons, lors de l'abaissement brutal de l'humidité relative, un enrichissement très important de la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau dans le limbe d'un échantillon prélevé au bout de quelques heures. Puis, après trois jours d'exposition à la même humidité en atmosphère desséchée, la composition isotopique s'appauvrit notablement en isotopes lourds, pour atteindre une valeur plus conforme, déduite à partir de la droite de régression calculée précédemment, figure (14).

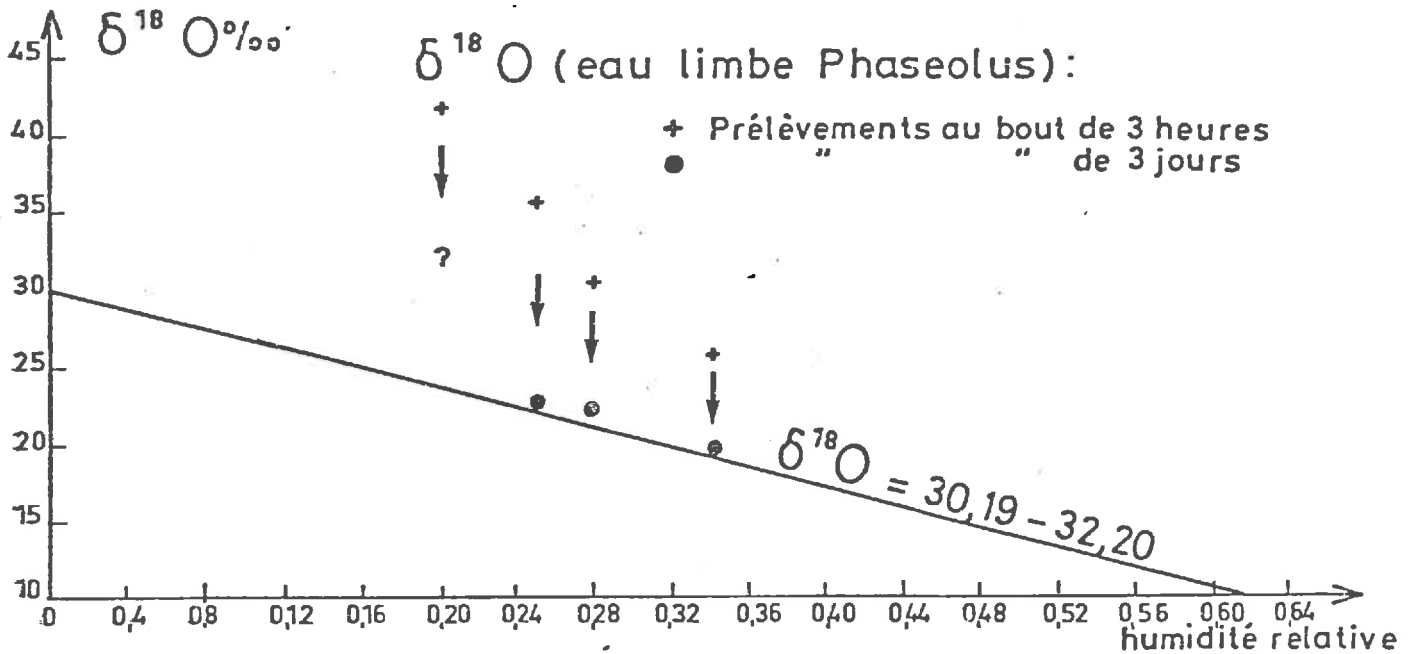


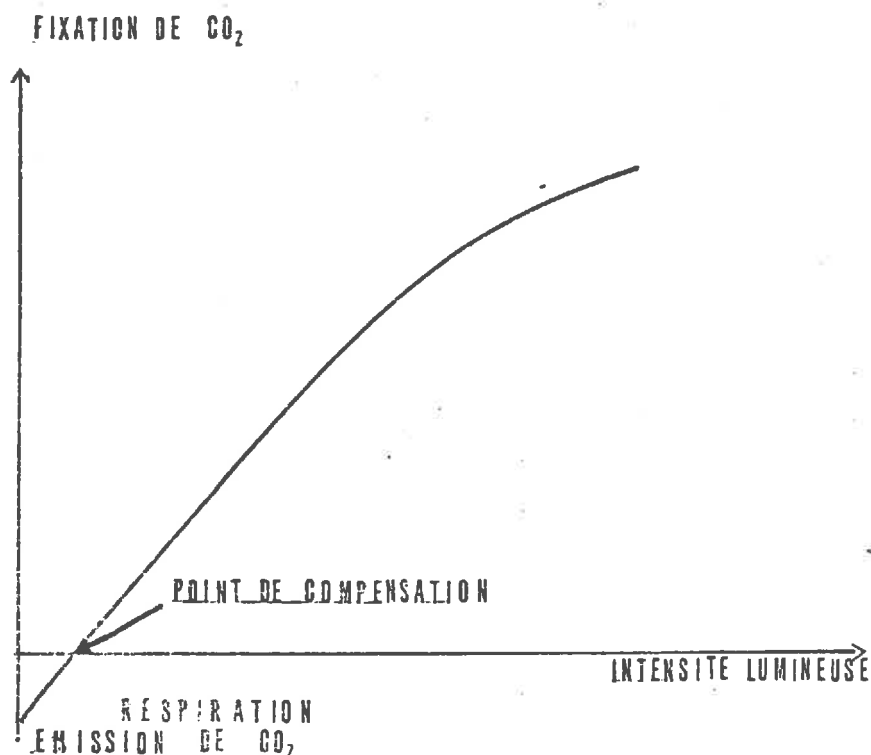
Figure (14) : évolution de la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe d'échantillons prélevés au bout de 3 heures et de 3 jours, sous une humidité relative très faible.

Après avoir ainsi mis en évidence le rôle fondamental joué par l'humidité relative dans l'enrichissement de l'eau du limbe, nous allons maintenant étudier l'influence d'un autre paramètre du milieu : la lumière

## 2.5 - ETUDE DE L'EVOLUTION DE LA COMPOSITION ISOTOPIQUE DE L'EAU DU LIMBE EN FONCTION DE LA LUMINOSITE

Il s'agit de prélever cette fois des échantillons de limbe après une exposition plus ou moins longue à la lumière et à l'obscurité. Ces mesures ont pour but de contrôler l'effet éventuel de la photosynthèse sur les teneurs en  $^{18}\text{O}$ , la feuille étant le siège de la photosynthèse.

N'ayant pu mesurer directement l'intensité photosynthétique, nous allons utiliser l'un des facteurs de variation de la photosynthèse, la lumière. En effet, la photosynthèse ne peut se dérouler qu'en milieu éclairé et l'intensité de ce phénomène est directement proportionnelle à l'intensité de l'éclairage jusqu'à des valeurs de l'ordre de 40.000 lux.



### 2.5.1 - EVOLUTION DE LA TENEUR EN $^{18}\text{O}$ DE L'EAU DU LIMBE DE PHASEOLUS VULGARIS LORS D'UNE EXPOSITION A LA LUMIERE DE CETTE PLANTE, SOUS HUMIDITE CONSTATANTE

a) - Protocole expérimental.

Afin de mettre en évidence le rôle joué par la lumière, nous prélevons, au cours d'une journée, des échantillons de limbe de *Phaseolus vulgaris* de 3 heures en 3 heures. Tous les paramètres du milieu (composition de l'eau du sol, humidité relative, vitesse de balayage de l'enceinte par un courant d'air, intensité lumineuse, période d'éclairement et période d'obscurité de douze heures chacune) sont maintenus constants. Ces prélèvements, à la différence des expériences précédentes, se déroulent en milieu éclairé (10 000 lux).

b) - Résultats. Tableau(XIX)

Heure du prélèvement	H%	$\theta(^{\circ}\text{C})$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{‰ SMOW}}$	Intensité lumineuse
7 heures	50	20	+ 13,9	0 lux
10 heures	51	24	+ 15,2	10.000 lux
13 heures	52	24	+ 15,9	10.000 lux
16 heures	50	24	+ 18,2	10.000 lux
19 heures	50	24	+ 18,7	10.000 lux
Eau d'irrigation			- 0,7	

c) - Observations.

A partir de ces mesures, on peut tracer la courbe suivante : Figure (16).

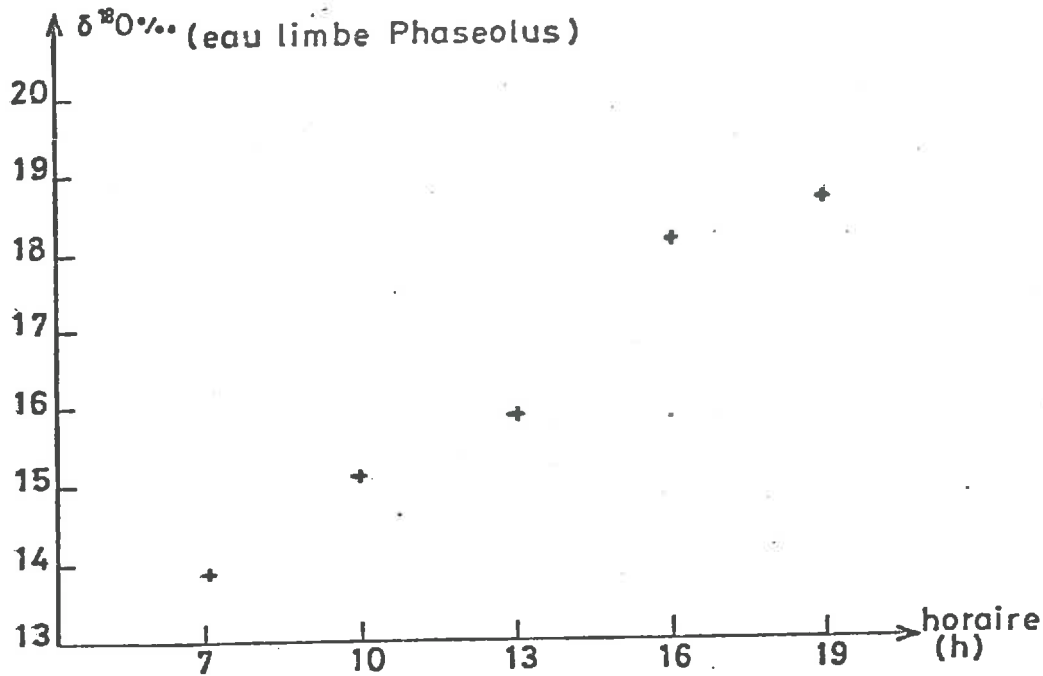


Fig:16 Evolution de la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe de Phaseolus vulgaris au cours de la journée.

Figure (16) : Evolution de la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe de Phaseolus au cours de la journée.

Cette courbe reflète donc l'enrichissement progressif des teneurs en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe de cette plante aérienne ; il s'agit de vérifier si c'est bien le facteur "lumière", qui a la responsabilité de cet enrichissement. Pour cela, nous allons effectuer les mêmes prélèvements, à l'obscurité cette fois.

2.5.2 - EVOLUTION DE LA TENEUR EN  $^{18}\text{O}$  DE L'EAU DU LIMBE DE PHASEOLUS VULGARIS LORS D'UNE EXPOSITION A L'OBSCURITE DE LA PLANTE, SOUS UNE HUMIDITE RELATIVE CONSTANTE.

a) - Protocole expérimental.

Au cours d'une même nuit, sous humidité constante, nous prélevons des échantillons de limbe de Phaseolus vulgaris dont nous déterminons la teneur en  $^{18}\text{O}$ .

b) - Résultats Tableau (XX).

heure du prélèvement	H (%)	$\theta(^{\circ}\text{C})$	$\delta^{18}\text{O} \text{‰ SMOW}$	I. (Lux)
19 heures	48	26	19,4	10.000
22 heures	49	23	17,3	0
1 heure	50	22,5	15,1	0
4 heures	50	22,5	15,5	0
7 heures	50	22,5	14,5	0
eau d'irrigation			- 0,7	

c) - Observations

Nous obtenons la courbe suivante : Figure (17).

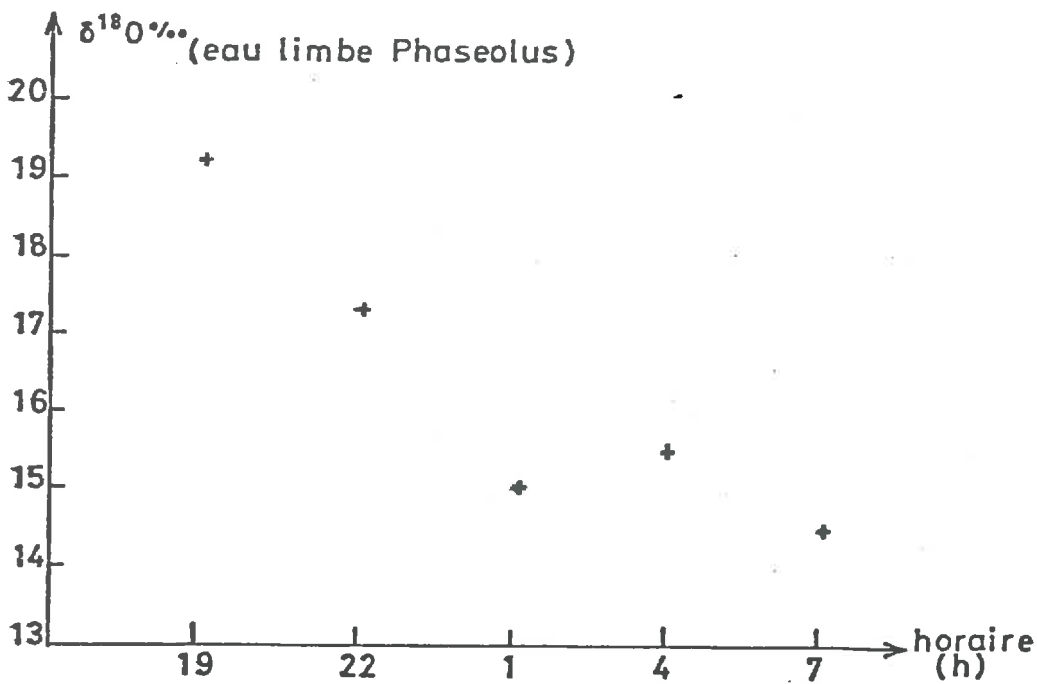


Figure (17) : Evolution de la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe de *Phaseolus vulgaris* au cours de la nuit.



Dès que la lumière est coupée, la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe chute rapidement : ce palier d'appauvrissement est atteint au bout de six heures. La teneur en  $^{18}\text{O}$  au niveau de ce palier est très proche de celle du point de départ de la courbe précédente. Figure (16).

Il semble donc que ce soit bien la lumière, qui sous humidité relative constante, contrôle la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau des plantes aériennes.

Après avoir ainsi mis en évidence le rôle de la lumière, nous allons rechercher quelle est la réponse isotopique d'une plante aérienne soumise à l'action simultanée de l'éclairement et aux variations de l'humidité relative.

### 2. 5. 3 - EVOLUTION DE LA TENEUR EN $^{18}\text{O}$ DE L'EAU DU LIMBE DE PHASEOLUS VULGARIS, APRES DOUZE HEURES D'EXPOSITION A LA LUMIERE, EN FONCTION DES VARIATIONS DE L'HUMIDITE ATMOSPHERIQUE.

L'expérience précédente nous a permis d'enregistrer l'enrichissement, sous l'effet de l'éclairement, des teneurs en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe par rapport à celles des échantillons prélevés à l'obscurité, et ce, sous humidité atmosphérique constante.

Nous avons également déjà montré les variations de ces mêmes teneurs en fonction des modifications de l'humidité relative, et ce, après 12 heures d'exposition à l'obscurité.

Nous allons reprendre ces deux expériences en étudiant les variations des teneurs en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe en fonction de l'humidité relative, mais après 12 heures d'éclairement cette fois.

#### a) - Protocole.

Ces conditions expérimentales (composition isotopique

de l'eau du sol, intensité lumineuse, périodes d'éclairement et d'obscurité de douze heures chacune, vitesse de balayage de l'enceinte) étant maintenues constantes, nous prélevons des échantillons de limbe, après stabilisation de l'humidité relative durant 3 jours

L'échantillonnage est réalisé après 12 heures d'éclairement.

b) - Résultats.

Les résultats sont portés dans le tableau suivant :  
Tableau (XXI) et voir figure (18).

Humidité relative (%)	Température (°C)	$\delta^{18}O$ ‰ SMOW
36	22	+24,5
36	22	+23,6
37	24	+21,4
37	24	+22,9
39	25,5	+24,7
40	22	+22,9
40	26	+23,3
42	24	+22,6
42	24	+22,1
42	25,5	+19,8
42	18	+18,2
43	20	+20,8
43	20	+20,2
44	21	+18,8
45	20	+19,4
45	25	+17,2
51	23	+19,1
52	23	+18,1
58	23	+18,4
64	21	+14,5
70	22,5	+10,6
80	19,5	+ 6,8
95	20	+ 3,5
98	24	+ 2,0
100	24	- 0,1

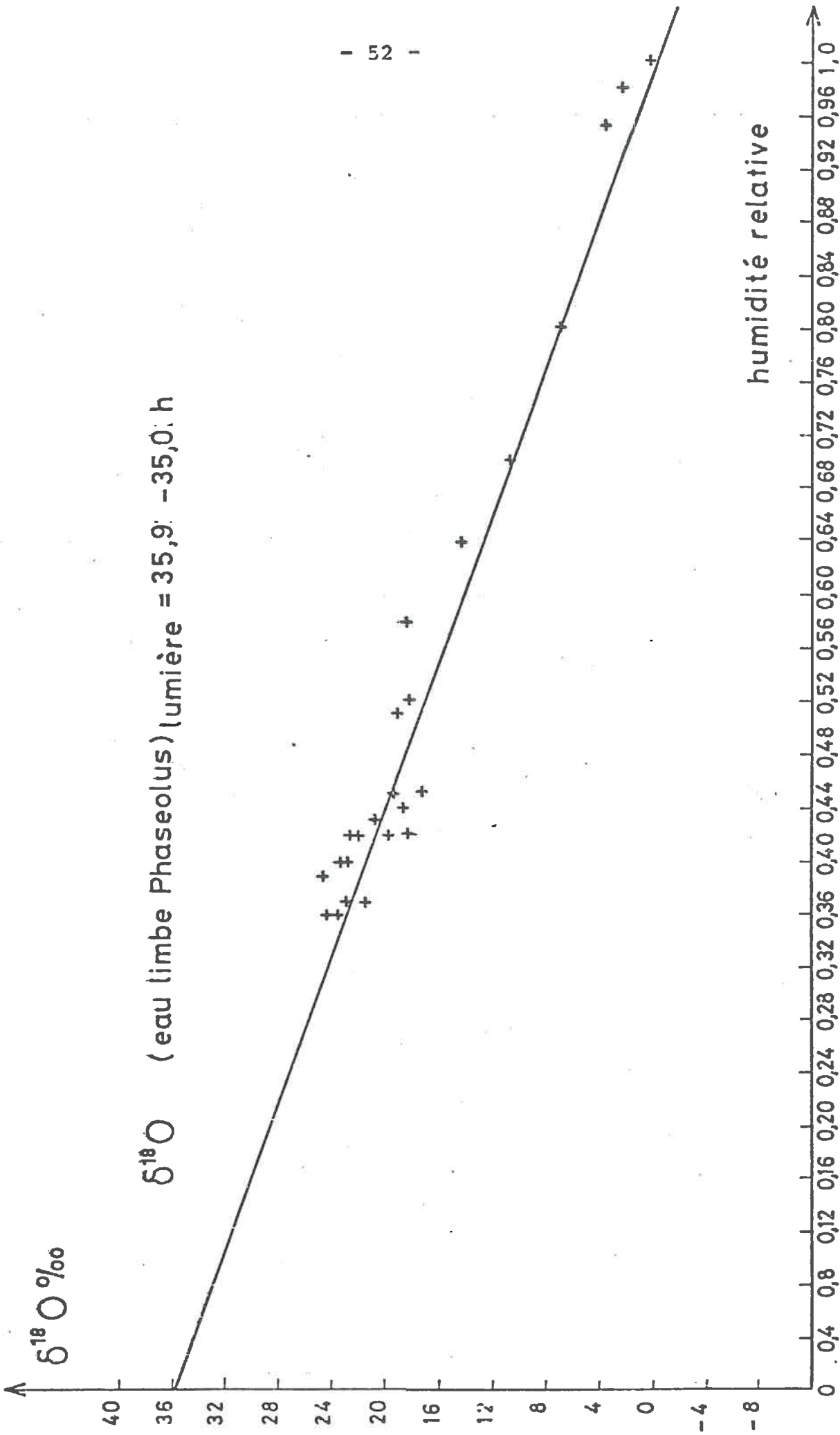


Fig:18 Variation de la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe de Phaseolus vulgaris en fonction de l'humidité relative de l'air (après 12 heures de phase lumineuse)

c) - Observations.

De la même façon, on peut constater que la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe d'une feuille aérienne exposée à la lumière, s'enrichit linéairement lorsque le déficit hygrométrique s'accroît.

A partir des 25 couples de mesures, nous établissons la droite de régression suivante (II) :

$$\delta^{18}\text{O} \text{ (eau limbe Phaseolus)}_{\text{lumière}} = 35,9 - 35,0 \cdot H$$

Le coefficient de corrélation est :

$$R = -0,978$$

Cette droite (II) est donc différente de celle (I) obtenue à partir des prélèvements effectués à l'obscurité : les teneurs en  $^{18}\text{O}$  mesurées à la lumière, sont systématiquement supérieures à celles de l'obscurité, et ce quelle que soit la valeur de l'humidité atmosphérique.

Cependant, l'écart entre les deux droites de régression n'est pas constant ; il augmente au fur et à mesure que le déficit s'accroît : de moins de  $2\text{‰}$  ( $H = 100\%$ ) cette différence va atteindre  $4,5\text{‰}$  pour des valeurs de l'humidité atmosphérique voisines de  $40\%$ .

Nous pouvons donc, après l'humidité relative, retenir la lumière, comme facteur déterminant de la composition isotopique de l'eau des plantes aériennes.

Il est également possible de vérifier le rôle de la photosynthèse et du fractionnement isotopique biologique qu'elle produit, en comparant les teneurs en  $^{18}\text{O}$  de l'eau des plantes de métabolisme différent.

2.6 - COMPARAISON ENTRE LES TENEURS EN  $^{18}\text{O}$  DE L'EAU DU LIMBE D'UNE PLANTE EN  $\text{C}_3$  (CYCLE PHOTOSYNTHETIQUE DE CALVIN) ET CELLES D'UNE PLANTE EN  $\text{C}_4$  (CYCLE DE HATCH ET SLACK)

La plupart des plantes réalisent la photosynthèse par la voie en  $C_3$ , tandis que les graminées tropicales et le maïs la réalisent par la voie en  $C_4$ . Choisisant deux plantes (blé et maïs) appartenant à ces deux types photosynthétiques, nous avons voulu ainsi vérifier l'effet possible de cette différence de métabolisme sur la composition isotopique de l'eau du limbe de plantes cultivées dans le même milieu.

a) - Protocole expérimental

Dans un même pot, sont cultivés des plants de blé (*Triticum vulgare*) et de maïs (*Zea mays*). L'humidité relative de l'air étant stabilisée durant trois jours, les prélèvements des échantillons de limbe sont effectués après 12 heures d'exposition lumineuse.

b) - Résultats : Tableau (XXII) et voir figure (19).

Nature de l'échantillon	H (%)	$\theta(^{\circ}C)$	$\delta^{18}O$ ‰ SMOW
Limbe <i>Triticum vulgare</i>	53	24	17,2
Limbe <i>Zea mays</i>	53	24	24,2
Limbe <i>Triticum vulgare</i>	56	26	14,1
Limbe <i>Zea mays</i>	56	26	21,9
Limbe <i>Triticum vulgare</i>	64	22	11,8
Limbe <i>Zea mais</i>	64	22	18,2
Limbe <i>Triticum vulgare</i>	72	22	9,1
Limbe <i>Zea mais</i>	72	22	14,4
Limbe <i>Triticum vulgare</i>	76	24	9,0
Limbe <i>Zea mays</i>	76	24	13,1
Eau d'irrigation			- 0,7
Intensité lumineuse			10.000 Lux

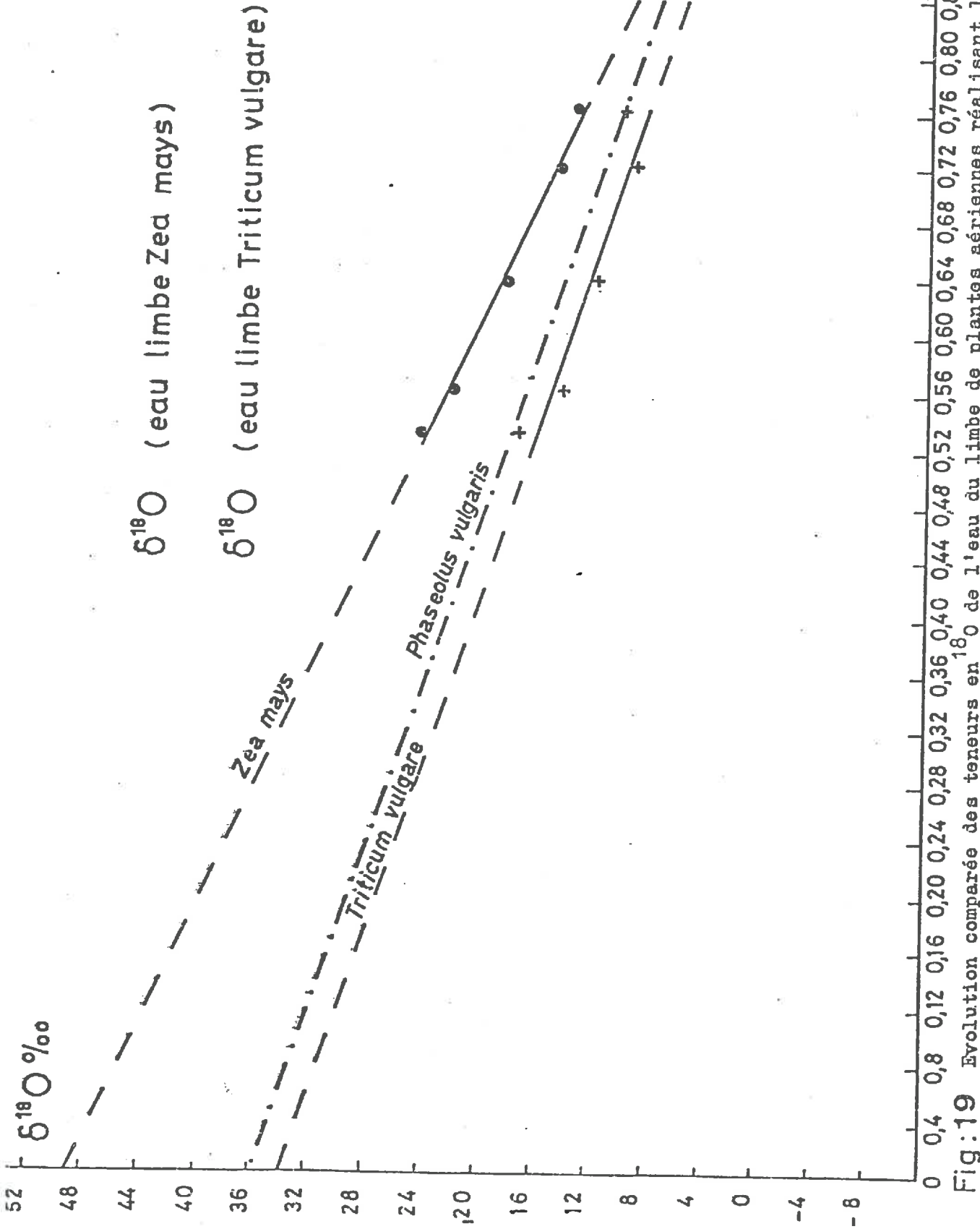


Fig:19 Evolution comparée des teneurs en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe de plantes aériennes réalisant la photosynthèse par des voies différentes, après douze heures d'exposition à la lumière.

c) - Observations.

\* *Triticum vulgare*

La teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe du blé exposé à la lumière s'enrichit linéairement lors de la décroissance de l'humidité relative atmosphérique.

Bien que celle-ci n'ait pas une grande signification, vu le faible nombre d'analyses, nous allons calculer la droite de régression obtenue à partir des cinq couples de mesures.

$$\delta^{18}\text{O} \text{ (eau limbe blé)} = 34,17 - 34,14 \text{ H avec } R = 0,967$$

Si nous comparons cette droite de régression à celle calculée dans le cas de *Phaseolus* ( $\delta^{18}\text{O}$  (eau limbe) = 35,9 - 35,0 H), on peut constater que l'enrichissement isotopique de l'oxygène de l'eau du limbe dans le cas de ces deux plantes est semblable, quoique légèrement supérieur dans le cas du *Phaseolus vulgaris*.

\* *Zea mays*

La teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe de *Zea mays* s'enrichit également linéairement après 12 heures d'exposition à la lumière, lors de la décroissance de l'humidité relative de l'air. De même, nous pouvons établir une droite de régression, avec les mêmes réserves, afin de la comparer à celle de *Triticum vulgare*.

$$\delta^{18}\text{O} \text{ (eau limbe maïs)} = + 48,9 - 47,6 \quad R = -0,996$$

L'enrichissement des teneurs en  $^{18}\text{O}$  est nettement supérieur dans le cas du maïs, à ce qui a été observé dans le cas du blé. Si l'on reporte sur la figure (18), les trois droites de régression obtenues, nous constatons que l'on peut distinguer deux familles de droites :

\* celles du groupe (*Triticum*, *Phaseolus*) dont la photosynthèse est réalisée par la voie en  $\text{C}_3$ .

\* celle de *Zea* dont la photosynthèse est réalisée par la voie en  $\text{C}_4$ , et qui se distingue des précédentes par un enrichissement isotopique plus important.

On note ici que les 2 plantes en  $C_3$  donnent des réponses identiques en dépit d'une morphologie et d'une structure foliaire très différentes, ce qui nous amène à considérer l'effet constaté comme relié au métabolisme plutôt qu'à la morphologie (densité stomatique, surface foliaire...)

Ces études successives, mettent en relief le rôle joué par la lumière et par le métabolisme des végétaux, et à travers eux par la photosynthèse dans le fractionnement isotopique de l'oxygène de l'eau du limbe des plantes aériennes.

Après avoir effectué ces analyses sur les plantes aériennes, nous allons examiner le comportement isotopique de l'eau d'une plante aquatique soumise à l'action de la lumière.

2. 7 - ETUDE DE LA COMPOSITION ISOTOPIQUE DE L'OXYGENE DE L'EAU DU LIMBE D'APONOGETON ULVACEUS LORS D'UNE EXPOSITION A LA LUMIERE DE LA PLANTE.

Après avoir constaté l'influence de la composition isotopique de l'eau du milieu de culture dans le cas des plantes aquatiques nous allons examiner le rôle éventuel de la lumière dans la teneur en  $^{18}O$  de l'eau du limbe.

a) - Protocole expérimental.

Des échantillons de limbe d'Aponogeton ulvaceus exposés à la lumière, sont prélevés toutes les six heures.

b) - Résultats : Tableau (XXIII)



Nature de l'organe prélevé	Horaire	$\delta^{18}\text{O}$ (‰)	S.M.C.W.	Intensité lumineuse (Lux)
Limbe Aponogeton ulvaceus	8	+ 8,3.		0
Limbe Aponogeton ulvaceus	14	+ 8,4.		10.000
Limbe Aponogeton ulvaceus	20	+ 8,6.		10.000
Limbe Aponogeton ulvaceus	8	+ 7,9		0
Limbe Aponogeton ulvaceus	14	+ 8,4		10.000
Limbe Aponogeton ulvaceus	20	+ 8,4		10.000
Eau du milieu de culture		+ 8,1		

Tableau XXIII

c) - Observations.

Les différences observées entre les séries de prélèvements, sont insuffisantes pour pouvoir être prises en considération. Le développement de la plante s'étant normalement effectué, il semble donc que l'effet isotopique de la photosynthèse soit masqué, du fait de la dilution de l'eau ambiante.

De cette étude, il nous faut retenir que, de tous les organes végétaux, la feuille chez les plantes aériennes possède la teneur en  $^{18}\text{O}$  la plus élevée. Mais cette teneur est susceptible de varier fortement. Différents facteurs peuvent provoquer cette variation : dans le milieu de culture, d'une part, où la composition isotopique de l'eau du sol et surtout l'humidité relative de l'air modifient la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau foliaire : d'autre part, la lumière et par elle, la photosynthèse induisent un fractionnement d'origine biologique. L'hypothèse de ce fractionnement est confirmée par les différences enregistrées entre les teneurs en  $^{18}\text{O}$  de l'eau de plantes à métabolisme différent.

Il nous faut maintenant établir une relation entre les coefficients de fractionnement isotopique et le comportement de la plante tant du point de vue physique que biologique.

- CHAPITRE 3 -  
=====

LES FRACTIONNEMENTS ISOTOPIQUES ET LA PLANTE : INTERPRETATIONS.

3. 1 - L'ENRICHISSEMENT ISOTOPIQUE DANS L'EAU DU LIMBE DES PLANTES AERIENNES ET LA TRANSPIRATION.

3. 1. 1 - LES MODELES DE L'ENRICHISSEMENT DE  $1^{18}\text{O}$  DE L'EAU DES FEUILLES DES PLANTES AERIENNES.

Nous avons vu, que depuis les travaux de GONFIANTINI (1965), l'enrichissement des teneurs en  $^{18}\text{O}$  de l'eau foliaire a été attribué au passage de cette eau de la phase liquide à la phase vapeur au cours du processus de la transpiration.

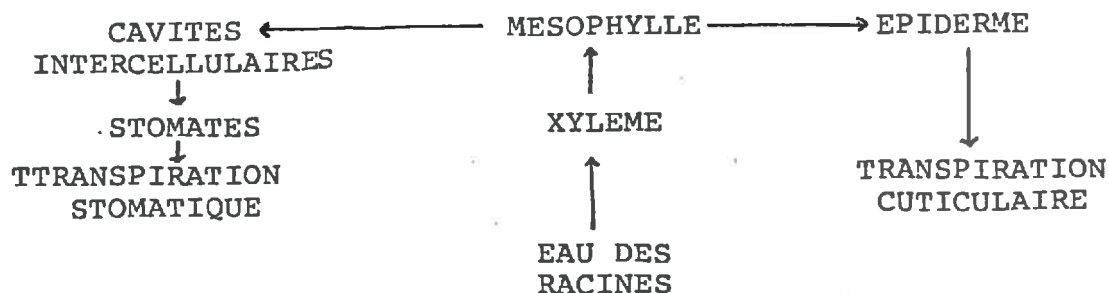


Figure (20) : Schéma général de la circulation de l'eau à travers la feuille.

Les différents modèles proposés pour justifier cet enrichissement proviennent des équations de bilan isotopique établies en hydrologie sur des bassins évaporatoires à niveau

constant ; la feuille est ainsi assimilée à un bassin dont la composition isotopique demeure parfaitement homogène

GONFIANTINI et FONTES (1963) réalisent l'expérience suivante :

après avoir maintenu à un niveau constant, par un système de trop plein, un bac contenant trois litres de solution, l'évaporation de cette solution est provoquée par un épiradiateur. La composition isotopique de l'eau est régulièrement déterminée, les couples de valeurs obtenus sont reportés sur la figure (21).

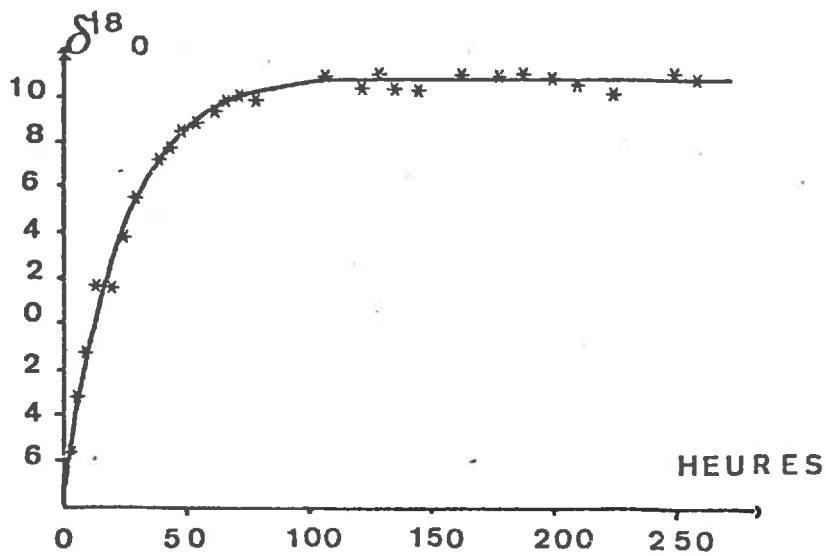


Figure (21) Etat stationnaire d'un bassin à niveau maintenu constant. (Fontes 1963)  
Gonfiantini

La composition isotopique de ce bassin tend vers un régime permanent ou stationnaire, donné par l'équation suivante :

$$\delta_L^S = \frac{k h \delta_C + (1 - h) \delta_i + \epsilon_V k}{1 - h + h k} \quad (\text{FONTES, 1976})$$

avec :

$\delta_L^3$  = composition isotopique de l'eau du système en évaporation à l'état stationnaire.

$\delta_i$  = composition isotopique de l'eau d'importation avant évaporation.

$\delta_c$  = composition isotopique de la vapeur condensante à la surface liquide.

$\epsilon_v$  = Facteur d'enrichissement isotopique à l'évaporation, normalisé à la température de surface du liquide.

$h$  = humidité relative normalisée à la température de la surface du liquide.

$k$  = fraction de l'apport évaporée.

La composition isotopique d'un bassin à niveau constant, qui s'évapore à l'air libre, atteint une valeur limite qui dépend de l'humidité relative, de la composition isotopique de la vapeur atmosphérique et du facteur d'enrichissement isotopique à l'évaporation. Cette composition dépend également de la composition isotopique de l'eau affluente, et du taux d'évaporation réelle. (FONTES, 1976).

C'est de ce type d'expérience, que sont nés les modèles d'enrichissement isotopique de l'eau foliaire, après avoir assimilé la feuille à un film d'eau, homogène et à niveau constant.

a) - Equation de DONGMANN et FORSTEL (1974).

La variation de la composition isotopique de l'eau de la feuille est donnée par la relation :

$$\delta_L = \epsilon_c + \epsilon_E + (\delta_v - \epsilon_c) h$$

Avec :

$\delta_L = {}^{18}\text{O}$  de l'eau dans la feuille à l'état stationnaire.

$\delta_V = {}^{18}\text{O}$  de la vapeur d'eau dans l'environnement de la feuille.

$h$  = humidité relative atmosphérique.

$\epsilon_E$  = facteur d'enrichissement isotopique à l'équilibre dans le système  $(\text{H}_2\text{O})$  liquide -  $(\text{H}_2\text{O})$  vapeur, où  $\epsilon_E = \alpha_E - 1$

$\epsilon_C$  = facteur d'enrichissement cinétique dans le système

$$\epsilon_C = \alpha_C - 1$$

b) - Equation de FERHI et LETOLLE (1978)

La variation dynamique de la composition isotopique de l'eau dans la feuille au cours du temps nous est donnée par la relation :

$$\delta_{t_F} = \delta_{o_F} e^{-\frac{Q}{q}} + \left[ (1-h) \delta_S + \epsilon_E + \epsilon_C + h (\delta_V - \epsilon_C) \right] \left[ 1 - e^{-\frac{Q}{q}} \right]$$

Avec :

$\delta_{t_F} = {}^{18}\text{O}$  de l'eau dans la feuille au temps  $t$ .

$\delta_{o_F} = {}^{18}\text{O}$  de l'eau dans la feuille au temps  $t_0$ .

$Q$  = quantité totale de l'eau transpirée dans l'intervalle de temps  $t-t_0$ .

$q$  = quantité d'eau contenue dans la feuille.

$h$  = humidité relative atmosphérique.

$\delta_S = {}^{18}\text{O}$  de l'eau dans le sol.

$\epsilon_E$  = facteur d'enrichissement isotopique à l'équilibre entre  $\text{H}_2\text{O}$  liquide et  $\text{H}_2\text{O}$  vapeur.

$\epsilon_C$  = Facteur d'enrichissement cinétique.

$\delta_V$  =  $^{18}O$  de la vapeur d'eau de l'atmosphère.

Dès que la quantité d'eau transpirée augmente fortement,  $\delta_{t_F}$  tend vers une limite, on atteint ainsi une situation d'équilibre isotopique, qui nous est donnée par la relation :

$$\delta^{18}O \text{ (équilibre)} = (1 - h) \delta_S + \epsilon_E + \epsilon_C + h (\delta_V - \epsilon_C)$$

A partir d'une telle relation, il devient donc possible de calculer la composition isotopique de l'eau des feuilles, à l'équilibre. Mais pour cela, il nous faut connaître (la teneur en  $^{18}O$ ,  $\delta_S$ , ayant été imposée et maintenue constante) :

$\epsilon_E$ ,  
 $\epsilon_C$ ,  
 $\delta_V$ ,

c) - Etude des variables de l'équation de FERHI et

LETOLLE.

c/1. Le coefficient d'enrichissement isotopique à l'équilibre dans le système  $(H_2O)_l - (H_2O)_v = \epsilon_E$

Diverses expériences ont été effectuées pour déterminer  $\epsilon_E$ . Parmi toutes celles-ci, nous retiendrons la formule de BAERTSCHI THURKHAUF, selon laquelle :

$$\epsilon_E = 5,8 \frac{1}{T} - 10,5 \cdot 10^{-3}$$

T est la température absolue.

On voit sur la figure (22) que  $\epsilon_E$  varie faiblement en fonction de la température :

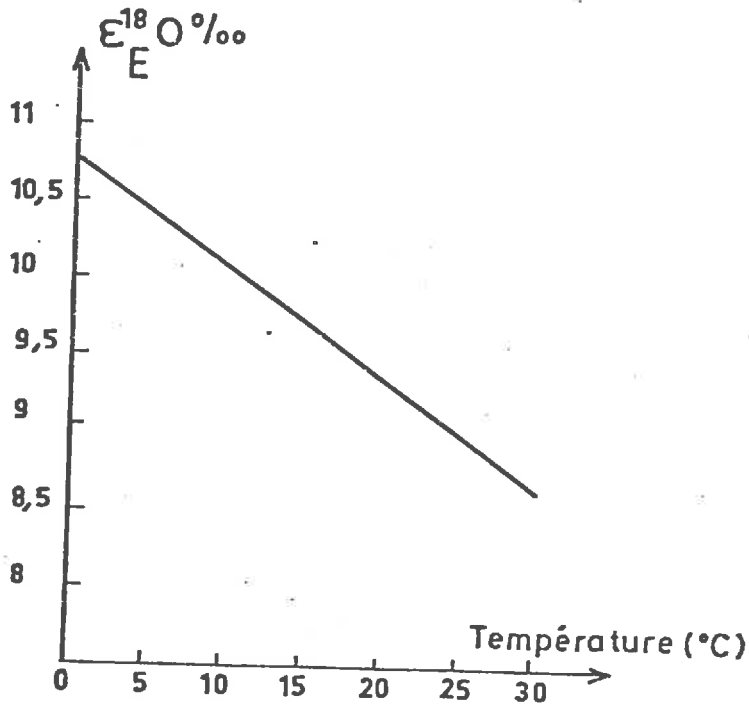


Figure (22) : variation du coefficient d'enrichissement isotopique en fonction de la température.

Nous prendrons donc pour  $\epsilon_E$  une valeur voisine de + 9,0 ‰.

c/2. Le coefficient d'enrichissement cinétique :  $\epsilon_C$ .

Ce coefficient est dû à la différence des vitesses de diffusion des molécules  $\text{H}_2^{16}\text{O}$  et  $\text{H}_2^{18}\text{O}$ . ( MERLIVAT et COANTIC 1975).

Il est particulièrement difficile à estimer car il dépend essentiellement du degré de turbulence du vent à la surface des feuilles, comme le montre le tableau (XXIV) (d'après FORSTEL et DONGMANN 1974).



Tableau XXIV

Degré de turbulence de l'air	$\epsilon_c$
Turbulent	+ 16 ‰
Laminaire	+ 21 ‰
Statique	+ 32 ‰

Ce coefficient, lié aux conditions expérimentales, sera calculé un peu plus loin.

c/3. La composition isotopique de la vapeur d'eau atmosphérique  $\delta_v$ .

Dans l'étude isotopique de l'interface sol, végétal-atmosphère, la prise en compte de la vapeur d'eau atmosphérique indispensable. Or, les mesures de la teneur en  $^{18}\text{O}$  de cette vapeur sont encore rares. Cette teneur a été le plus souvent estimée indirectement par le bilan isotopique réalisé à partir des teneurs en  $^{18}\text{O}$  de l'eau en phase liquide. Des mesures directes ont été également effectuées, mais elles nécessitent des pompes et piègeages délicats à mettre en oeuvre et fort longs ; d'où une représentativité parfois discutable des échantillons prélevés.

Néanmoins, ces mesures ont permis de mettre en évidence d'importantes variations isotopiques dans la vapeur atmosphérique : ces variations dépendent essentiellement de l'histoire de la vapeur, c'est-à-dire de tous les processus de condensation, d'échanges et de mélanges subis par cette masse d'air au cours de son déplacement dans l'espace et dans le temps.

La méthode "réduction-conversion" nous a permis de déterminer les teneurs en  $^{18}\text{O}$  directement sur la vapeur après prélèvement de celle-ci dans des bouteilles à vide de 250 ml.

Pour expérimenter cette méthode, nous avons choisi le cadre d'une situation bien connue : celui de l'appauvrissement

en isotopes lourds des précipitations et donc de la vapeur avec l'altitude.

\*) Détermination de la teneur en  $^{18}\text{O}$  de la vapeur atmosphérique sur un versant neigeux des Alpes Italiennes.

Les prélèvements de vapeur ont été effectués par C. JUSSERAND le 10 février 1979 à SAUZE OULX (MONTE TRIPLEX).

Tableau (XXV) :

Altitude	Heure du prélèvement	$\theta(^{\circ}\text{C})$	$\delta^{18}\text{O}$ ‰ SMOW
2490 m	13 <sup>h</sup> 40	- 1	- 29,0
2155 m	13 <sup>h</sup> 47	+ 3	- 22,8
1660 m	14 <sup>h</sup> 0	+ 5	- 22,0
1400 m	14 <sup>h</sup> 25	+ 9	- 20,8

Ces résultats mettent en évidence l'existence d'un gradient inverse de la teneur en  $^{18}\text{O}$  de la vapeur en fonction de l'altitude et d'un gradient normal de cette teneur en fonction de la température (figure 23).

La vapeur atmosphérique, à la suite d'un épisode de condensation subit, à une altitude donnée, un premier fractionnement isotopique qui l'appauvrit en isotopes lourds.

Une nouvelle précipitation se produit dans le cas où cette vapeur a la possibilité de se condenser : c'est ce qui se passe lors de l'ascension de cette vapeur, la température diminuant avec l'altitude ; la vapeur atmosphérique, déjà appauvrie en isotopes lourds, subit alors une nouvelle perte en  $^{18}\text{O}$ , en donnant naissance à une précipitation, elle-même moins riche en  $^{18}\text{O}$  que lors de l'épisode précédent.

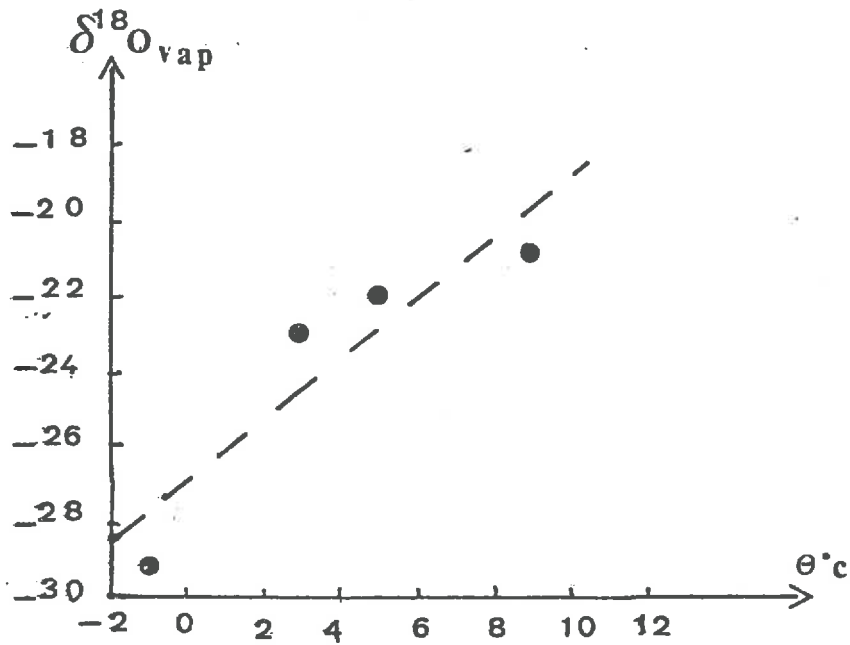
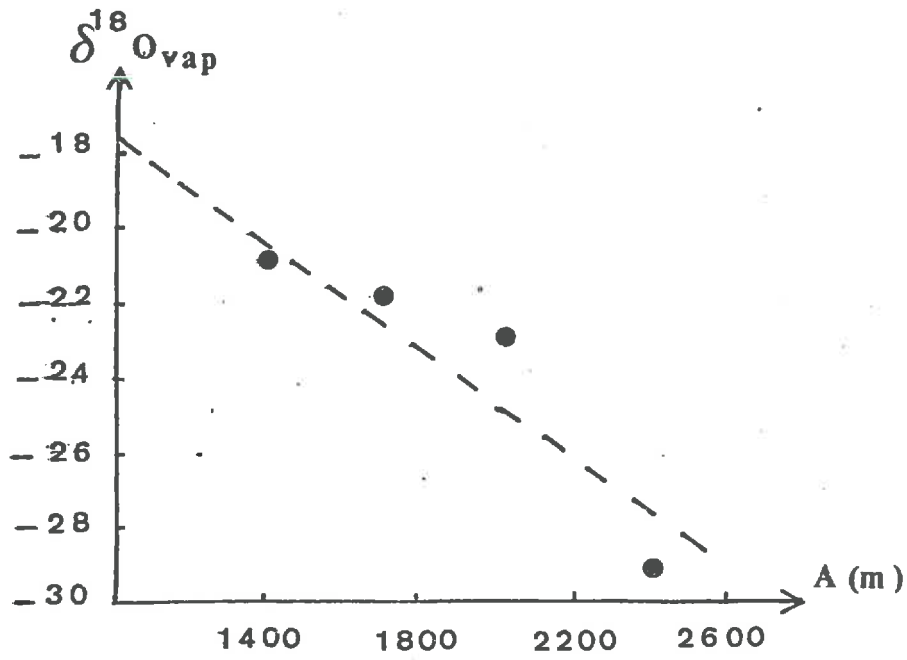


Fig (23) : variation de la teneur en <sup>18</sup>O de la vapeur atmosphérique en fonction :

- de l'altitude: A
- de la température: θ

Ces phénomènes se traduisent par l'existence d'un gradient d'appauvrissement isotopique de la vapeur atmosphérique en fonction de l'altitude.

Nous avons ensuite examiné les variations isotopiques de la vapeur lors de situations météorologiques différentes.

\*. Détermination de la teneur en  $^{18}\text{O}$  de la vapeur d'eau atmosphérique en fonction de la situation météorologique.

Les prélèvements de vapeur ont été effectués à l'Université PIERRE et MARIE CURIE, à une vingtaine de mètres d'altitude

Dates	Heure	$\theta$ °C	H%	Nébulosité	Vent (force)	Direction	$\delta^{18}\text{O}\text{‰}$
7/4/78	18 <sup>h</sup>	12	31	dégagé	5	N	- 12,7
27/4/78	14 <sup>h</sup>	15	81	couvert	3	N	- 16,4
28/4/78	10 <sup>h</sup>	12	85	couvert	3	SW	- 14,8
5/5/78	12 <sup>h</sup>	15	93	couvert	0	-	- 15,3
12/5/78	13 <sup>h</sup>	15	71	couvert	5	W	- 11,8
13/5/78	16 <sup>h</sup>	12	69	couvert	5	W	- 18,2
23/8/78	14 <sup>h</sup>	24	42	dégagé	3	NW	- 13,4

Tableau XXVI -

D'où une très grande variabilité dans ces résultats qui les rend difficilement interprétables. Cette variabilité se retrouve également dans l'enceinte où sont cultivés les végétaux. Tableau XXVII

Dates	Heure	$\theta$ (°C)	H%	$\delta^{18}\text{O}\text{‰}$ SMOW
12/3/79	7 <sup>h</sup>	26	57	- 18,0
2/4/79	11 <sup>h</sup>	26	45	- 10,3
17/4/79	19 <sup>h</sup>	26	41	- 13,2

3. 1. 3 - APPLICATION DU MODELE DE FERHI ET LETOLLE AUX VARIATIONS DE LA TENEUR EN  $^{18}\text{O}$  DE L'EAU FOLIAIRE EN FONCTION DE L'HUMIDITE RELATIVE.

a) - Calculs de  $\epsilon_C$  et de  $\delta_V$   
=====

L'équation de DONGMANN et FORSTEL (3.1.1) n'étant utilisable que dans le cas où  $\delta_S = 0$ , nous appliquerons à nos résultats l'équation de FERHI et LETOLLE.

$$\delta^{18}\text{O} (\text{eau feuille}) = \delta_S (1 - h) + \epsilon_C + \epsilon_E + h (\delta_V - \epsilon_C)$$

Cette équation peut également s'écrire :

$$\delta^{18}\text{O} (\text{eau feuille}) = \delta_S + \epsilon_E + \epsilon_C + h (\delta_V - \epsilon_C - \delta_S)$$

Nous avons obtenu expérimentalement :

$$\delta^{18}\text{O} (\text{eau limbe}) = + 30,19 - 32,30 H$$

Par identification, membre à membre,

$$\delta_S + \epsilon_E + \epsilon_C = 30,19$$

$$\delta_V - \epsilon_C - \delta_S = -32,20$$

Nous avons vu que  $\epsilon_E$  a une valeur voisine de 9‰, et  $\delta_S$ , la composition de l'eau introduite dans le sol ( $\delta_S = -0,70$ ).

Il nous est ainsi possible de calculer la valeur expérimentale du coefficient d'enrichissement cinétique :

$$\begin{aligned} \epsilon_{C1} + 9 - 0,70 &= + 30,19 \\ \text{d'où } \epsilon_{C1} &= 21,89 \end{aligned}$$

Si l'on considère qu'il existe un léger enrichissement de l'oxygène de l'eau dans le sol (tableau VII)

$$\delta_S = -0,19 \text{ d'où } \epsilon_{C2} = 21,38$$

Il nous est également possible de calculer une valeur moyenne de la composition isotopique de la vapeur d'eau atmosphérique en réalisant la seconde identification.

$$\delta_v = - 11,01$$

Cette teneur est sensiblement supérieure aux mesures effectuées au laboratoire (tableau XXVI).

Cette différence entre les teneurs en  $^{18}\text{O}$  de la vapeur, mesurées et celle calculée va nous amener à examiner de plus près le processus transpiratoire.

b) - La transpiration et la composition isotopique de la vapeur d'eau atmosphérique.

La transpiration des végétaux est provoquée par le déficit de saturation de la vapeur d'eau atmosphérique.

Chez les végétaux vasculaires elle se déroule en deux temps :

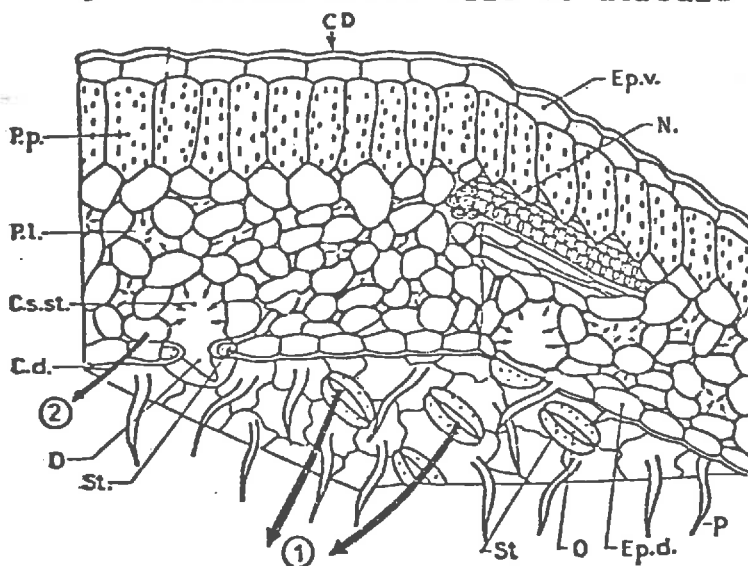


Fig (24) : les voies de la transpiration foliaire (in BINET (1967))

1) Transpiration par les stomates de la face dorsale (voie principale); 2 et 2') Transpiration cuticulaire, plus importante sur la face dorsale où la cuticule est plus mince.

C.D: cuticule dorsale; Ep.v : épiderme ventral; P.p : parenchyme palissadique; P.l : parenchyme lacuneux; Ep.d : épiderme dorsal; C.v : cuticule ventrale; St : cellules stomatiques; D : ostiole; C.s.st : chambre sous-stomatique; N : nervure; p : scutrage de poils.

- L'eau à la surface des cellules entourant les lacunes, figure. (2), s'évapore dans l'atmosphère interne de ces lacunes.

- Cette vapeur est alors rejetée vers l'atmosphère

externe, principalement par les orifices appelés "stomates". Un stomate est constitué de deux cellules stomatiques (cellule de garde). Les faces concaves de ces cellules bordent une orifice appelé "ostiole" et dont l'ouverture varie en fonction de l'état de turgescence des cellules de garde.

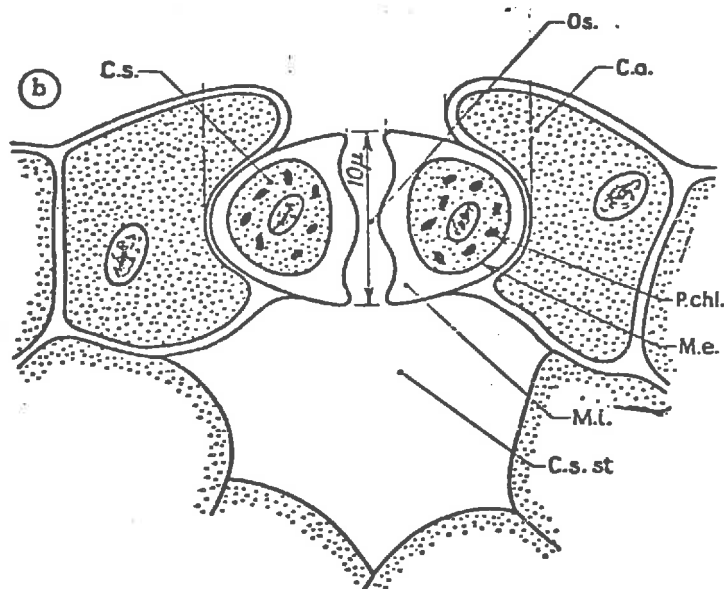


Fig (25) : Structure d'un stomate (in BINET, 1967)

a) Vue de face; b) En coupe transversale.  
 C.s : cellules stomatiques; C.a : cellules annexes; Os : ostiole; M.i : membrane squelettique interne épaisse; M.e : membrane squelettique externe mince; P.chl : pseudochloroplastes; C.s.st : chambre sous-stomatique.  
 Remarque : En fait, la structure du stomate est très variable. Le type choisi ici est un stomate d'*Amaryllis*.

Donc, dans l'environnement immédiat de la feuille, il existe deux sources de vapeur d'eau avec lesquelles l'eau du limbe à la possibilité de subir un échange isotopique :

- la vapeur d'eau atmosphérique :  $\delta_a$
- la vapeur d'eau évapotranspirée :  $\delta_e$

L'humidité relative  $h$  au niveau de la feuille est donc composée d'une contribution  $h_a$  due à l'humidité atmosphérique et d'une contribution  $h_e$  due à l'évapotranspiration.

D'où en terme de bilan isotopique,  $\delta_v$  étant la teneur en  $^{18}\text{O}$  de la vapeur d'eau au niveau de la feuille :

$$\delta_v h = h_a \delta_a + h_e \delta_e$$

Or les mesures que nous avons effectuées, ne portent que sur  $\delta_a$  et  $h_a$ . Cette teneur en  $^{18}\text{O}$   $\delta_v$ , sera donc plus ou moins modifiée au niveau de la feuille en fonction de la teneur en  $^{18}\text{O}$ ,  $\delta_e$  l'eau foliaire étant enrichie en isotopes lourds on peut supposer que la vapeur d'eau transpirée le sera également par rapport à la vapeur d'eau atmosphérique. D'où, une teneur en  $^{18}\text{O}$ ,  $\delta_v$ , obtenue par le calcul, supérieure aux mesures effectuées sur  $\delta_a$ .

c) - Influence de la saturation de l'humidité atmosphérique relative, sur la composition isotopique de l'oxygène de l'eau du mésophylle.

$$\delta^{18}\text{O} \text{ (eau feuille)} = \delta_s (1 - h) + \epsilon_E + \epsilon_C + h (\delta_v - \epsilon_C)$$

Dans le cas où  $h = 100 \%$ , cette équation se réduit à :

$$\delta^{18}\text{O} \text{ (eau feuille)} = \epsilon_E + \delta_v$$

avec  $\epsilon_E = 9$   
 $\delta_v = - 11,0$

D'où  $\delta^{18}\text{O} \text{ (eau feuille)} = - 2,0$

Cette valeur est très proche de la composition isotopique de l'eau du sol ( $\delta^{18}\text{O} = 0,7$ ). Il semble que dans le cas la teneur en  $^{18}\text{O}$  de la vapeur d'eau atmosphérique soit pratiquement en équilibre isotopique avec l'eau du sol.

Entre la feuille et l'atmosphère, toutes deux saturées, la diffusion de la vapeur est pratiquement nulle : la transpiration est réduite à l'extrême, ce qui explique la faiblesse de l'enrichissement isotopique de l'oxygène de l'eau dans le limbe.



En conclusion, l'application du modèle de FERHI et LETOLLE aux mesures effectuées sur la teneur en  $^{18}\text{O}$  dans le limbe sous diverses humidités relatives, nous a permis de calculer deux paramètres difficilement accessibles : l'enrichissement cinétique  $\epsilon_c$ , et la teneur en  $^{18}\text{O}$  de la vapeur d'eau présente dans l'environnement immédiat de la feuille,  $\delta_v$ . Les deux valeurs ainsi obtenues sont toutes deux acceptables.

Nous allons maintenant étudier le cas des échantillons présentant des teneurs en  $^{18}\text{O}$  supérieures à celles calculées par le modèle de FERHI et LETOLLE : en effet, quand on place la plante dans des conditions de déséquilibre brutal, les échantillons de limbe de Phaseolus présentent des teneurs en  $^{18}\text{O}$  sensiblement plus fortes que celles obtenues par la prolongation de la droite de régression (I) calculée précédemment (figure 13)

### 3. 2 - INFLUENCE DE LA DIMINUTION DE LA TURGESCEANCE SUR LA COMPOSITION ISOTOPIQUE DE L'EAU DU LIMBE DE PHASEOLUS VULGARIS.

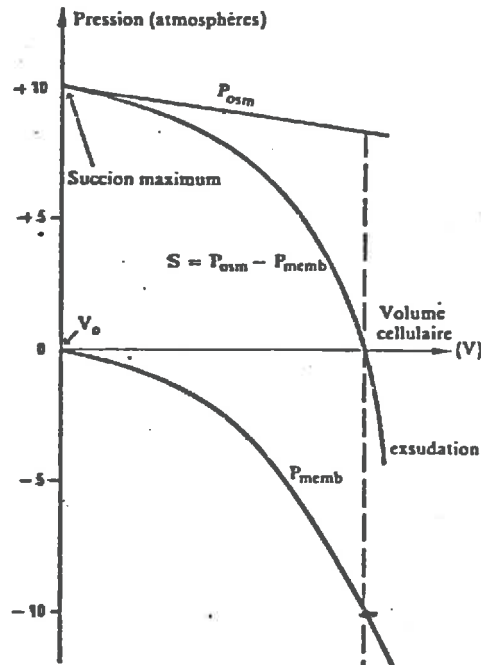
Un abaissement brutal de l'humidité relative suivi d'un prélèvement rapide (au bout de 3 heures) des échantillons de limbe de Phaseolus, s'est traduit par un enrichissement très important des teneurs en  $^{18}\text{O}$  de l'eau foliaire. Puis après avoir attendu 72 heures, nous avons pu constater un net affaiblissement de cet enrichissement, qui concorde cette fois avec celui proposé par le modèle.

Nous allons rechercher quel phénomène permet d'expliquer ces divers enrichissements.

#### 3. 2. 1 - VARIATION DU VOLUME D'EAU FOLIAIRE LORS DU DESSECHEMENT DE L'ATMOSPHERE.

Un phénomène de succion cellulaire apparait dans la feuille dès que l'eau disponible ne suffit plus à provoquer la pleine turgescence de cet organe.

La plante, pour compenser les pertes en eau dues à l'accroissement brutal du déficit hygrométrique, va devoir accroître sa succion de l'eau : ce résultat peut être obtenu grâce à une diminution de la turgescence, ce qui se traduit par une réduction de volume.



Fig(26) : Variation de la succion (S) en fonction du volume cellulaire. ( $P_{osc}$  : pression osmotique.  $P_{memb}$  : résistance de la paroi aux déformations.  $V_0$  = volume cellulaire en conditions isotoniques. (in MAZLIAK, 1974)

Les travaux d'ASTON (1970) relatifs aux variations de turgescence chez *Phaseolus vulgaris*, en fonction de la demande évaporatoire ambiante, nous permettent de suivre l'évolution de ce phénomène.

Dans un premier temps, ASTON étudie les variations de la turgescence relative des feuilles de *Phaseolus* en fonction de l'abaissement de l'humidité relative atmosphérique, figure (27) :

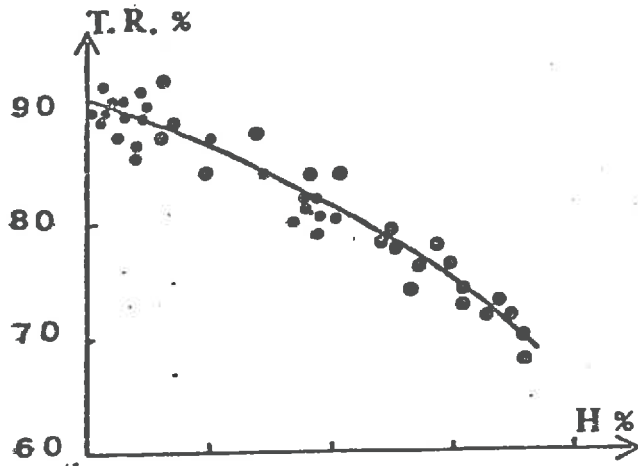


Fig (27) : Variation de la turgescence relative en fonction de l'humidité de l'air

Bien que cette plante soit correctement alimentée en eau, elle est sujette au stress hydrique : cela est mis en évidence par la chute de la turgescence relative qui passe de 92 % à 68 %. Cette diminution de la turgescence est donc due à un excès des pertes en eau par rapport à l'alimentation racinaire.

Puis dans un deuxième temps, ASTON étudie les variations de la transpiration en fonction de l'abaissement de l'humidité relative, figure (28).

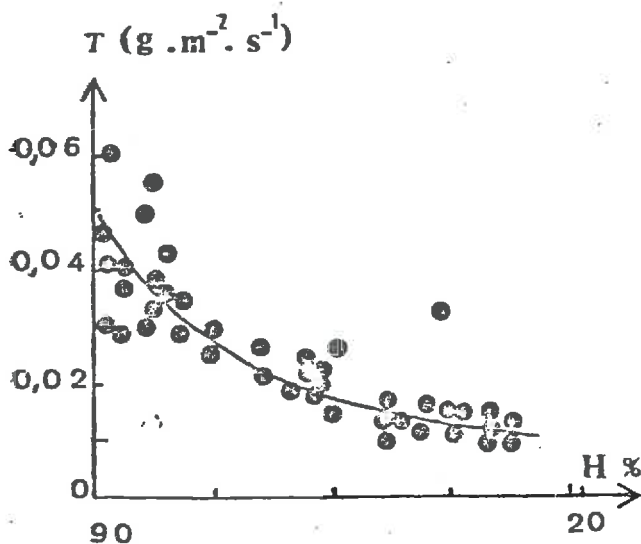


Fig (28) : Variation de la transpiration en fonction de l'humidité de l'air

L'augmentation de la demande évaporatoire se traduit, tout d'abord, par un brutal accroissement de l'intensité transporatoire par rapport au niveau initial. Puis au bout de quelques minutes, cette intensité se stabilise à un niveau inférieur au niveau initial. D'où une diminution générale de la transpiration provoquée par la fermeture des stomates, ce qui provoque une augmentation de la résistance totale à la diffusion, figure (29).

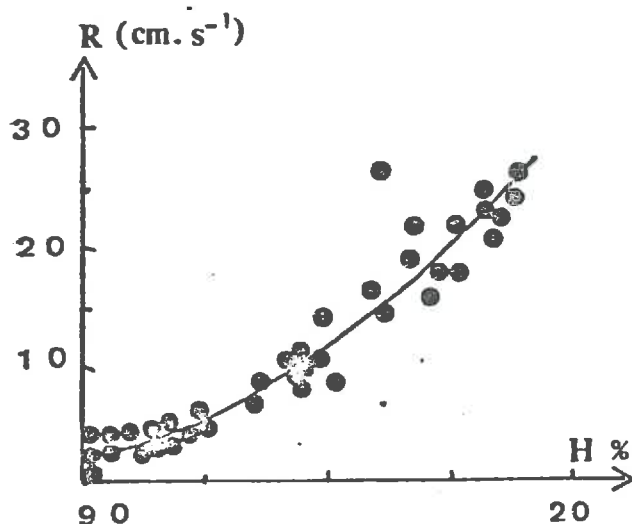


Fig (29) : Variation de la résistance à la diffusion en fonction de l'humidité relative

### 3. 2. 2 - INFLUENCE DE LA REDUCTION DU VOLUME D'EAU CELLULAIRE SUR LA COMPOSITION ISOTOPIQUE DE L'EAU DU LIMBE.

La réduction de la turgescence cellulaire, lorsqu'elle s'effectue de façon brutale, a une conséquence directe sur l'une des hypothèses de départ du modèle FERHI et LETOLLE : le volume d'eau cellulaire diminuant rapidement, nous ne nous trouvons plus dans le cas d'un bassin à volume constant mais à réduction de volume. Les teneurs en  $^{18}\text{O}$  reflètent la décroissance volumique rapide en s'enrichissant brutalement.

FONTES et GONFIANTINI, (1967), ont mesuré l'influence de la réduction de volume sur la composition isotopique d'un bassin naturel (GUELTA DE LA GARA DIBA, Nord-Ouest saharien), figure (30).

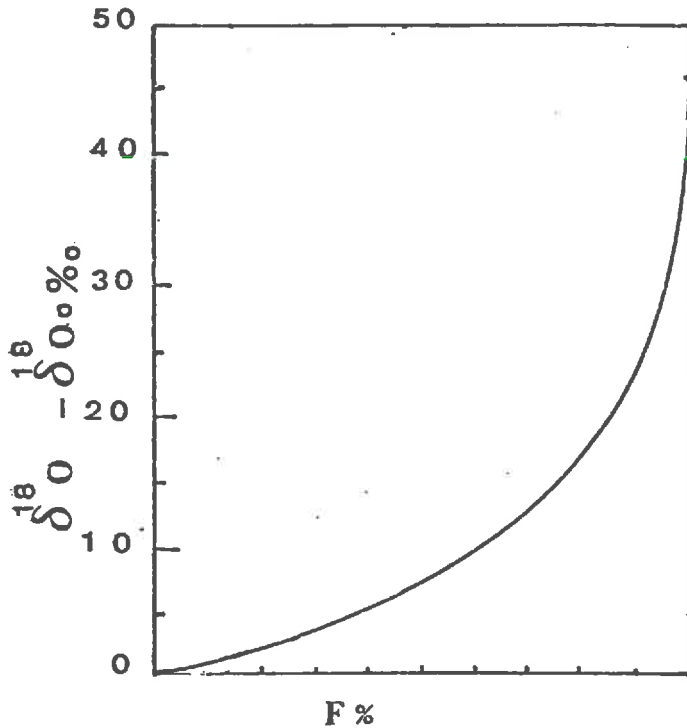


Fig (30) Evolution de la composition isotopique d'un bassin naturel à réduction de volume : GUELTA de la GARA DIBA (Nord-Ouest saharien). (Bontes et Gonfiantini 1967)

Avec une équation finale de bilan isotopique :

$$\delta_L - \delta_L^0 = \frac{[h (\delta_A - \delta_L^0)^{\epsilon}]}{h + \epsilon} [1 - f (h + \epsilon) (1 - h)]$$

Avec :

$\delta_L$  = composition isotopique de l'eau du système en évaporation.

$\delta_L^0$  = composition isotopique de l'eau du système avant l'évaporation.

$\delta_A$  = composition isotopique de la vapeur de l'atmosphère.

$\epsilon$  = facteur d'enrichissement isotopique à l'évaporation.

$h$  = humidité relative normalisée à la température de la surface liquide.

$f$  = fraction de liquide restant.

Si l'on applique ce type de modèle à la feuille, on

constatè que les enrichissements mesurés sont explicables.

Mais à la différence d'un simple bassin, la feuille est capable de contrôler ses pertes en eau et la réduction volumique qu'elles entraînent, par la fermeture de ses stomates. La feuille, après stabilisation de l'humidité relative, conservera un volume constant, bien qu'inférieur au volume précédent.

La première série des échantillons (A) analysées présentent des teneurs en  $^{18}\text{O}$ , qui n'ont pas atteint l'état stationnaire, leur prélèvement étant effectué trop rapidement (après trois heures d'exposition à la nouvelle humidité relative).

Mais dans le cas d'un bassin à volume constant, les teneurs de la série (A) devraient être inférieures à celles correspondant à ce nouvel équilibre, pour une humidité relative donnée; or, la brutale réduction de volume se traduit par un fractionnement isotopique qui enrichit ces teneurs bien au-delà de celles du nouvel état stationnaire attendu (Tableau XVIII)

Si nous laissons ensuite au végétal le temps de s'adapter aux conditions du milieu, le volume cellulaire peut se stabiliser; les prélèvements de la deuxième série d'échantillons (B) présentent des teneurs en  $^{18}\text{O}$  qui ont atteint l'état stationnaire cette fois, le volume cellulaire étant de nouveau constant. Le modèle de FERHI et LETOLLE est de nouveau applicable: on peut supposer que l'équilibre isotopique sera atteint plus rapidement, le volume foliaire étant plus petit.

Humidité relative initiale = 0,50			
Humidité relative	$^{18}\text{O}\%$ Série (A)	$^{18}\text{O}\%$ Série (B)	$^{18}\text{O}\%$ Modèle
0,34	25,9	19,7	19,7
0,28	30,3	22,1	21,2
0,25	35,5	22,8	22,8
0,20	41,8	Limbe flétri	23,8

Tableau (XVIII)

Nous nous sommes placés, lors de cette expérience dans une situation, où la variation brutale d'un des paramètres du milieu de culture, allait à l'encontre de l'une des hypothèses du modèle de FERHI-LETOLLE ; ce qui rendait ce modèle inapplicable, pendant le laps de temps où la composition isotopique n'était pas à l'état stationnaire.

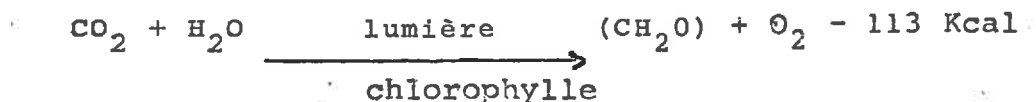
Nous allons maintenant examiner le cas de l'enrichissement enregistré dans le limbe de *Phaseolus vulgaris*, après 12 heures d'exposition à la lumière.

### 3. 3 - L'ENRICHISSEMENT ISOTOPIQUE DE L'OXYGENE DE L'EAU DU LIMBE DE PHASEOLUS VULGARIS ET LES REACTIONS PHOTOSYNTHETIQUE.

Les échantillons du limbe de *Phaseolus vulgaris* présentent le soir, après 12 heures d'éclairement, des teneurs en  $^{18}\text{O}$  de l'eau foliaire, supérieures à celles observées le matin après 12 heures d'obscurité. Bien que l'humidité relative soit maintenue constante, nous enregistrons des écarts en  $^{18}\text{O}$  allant jusqu'à 4,5 ‰. Ces teneurs sont donc sensibles à la luminosité et l'influence de la transpiration ne suffit donc pas à justifier les teneurs plus élevées du soir. Nous allons donc rechercher un processus différent de la transpiration pour expliquer cet enrichissement. L'influence de la lumière nous a conduit à faire appel à un fractionnement de nature physiologique, lié à la photosynthèse. (FERHI, BARIAC, LETOLLE 1979).

#### 3. 3. 1. - RESUME DES PHENOMENES PHOTOSYNTHETIQUES.

La photosynthèse est un phénomène physiologique qui en présence de lumière aboutit à la conversion du gaz carbonique et de l'eau en hydrates de carbone et en oxygène suivant la réaction :



La photosynthèse présente une double phase :

- une phase d'approvisionnement énergétique aux dépens de la lumière solaire (réactions claires).

- une phase de capture du  $\text{CO}_2$  atmosphérique et de son incorporation dans les produits photosynthétiques (réactions sombres) (figure 31).

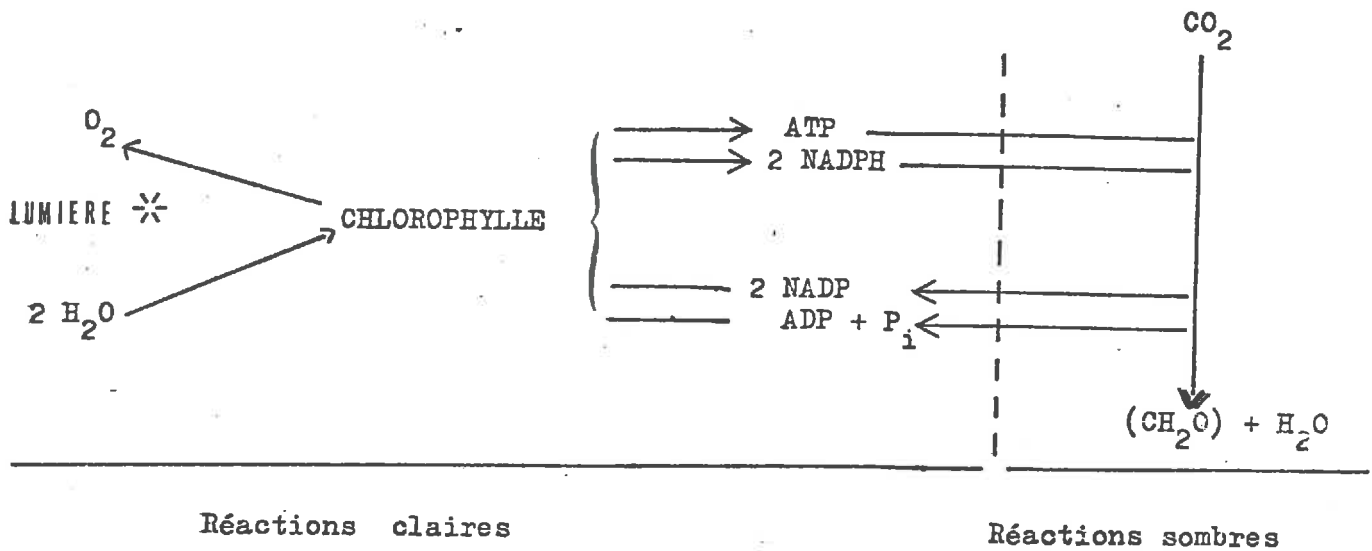


Fig (31): Relations existant entre les réactions claires et les réactions sombres de la photosynthèse (in KAZLIAK, 1974)

3. 3. 2 - HYPOTHESE DE L'ENRICHISSEMENT ISOTOPIQUE DE LA TENEUR EN <sup>18</sup>O de L'EAU DU LIMBE DE PHASEOLUS VULGARIS A TRAVERS LES REACTIONS CLAIRES.

La photolyse de l'eau, qui est provoquée au cours de ces réactions claires, peut être évoquée pour justifier l'enrichissement isotopique observé tout au long de la phase lumineuse, dans l'eau foliaire de Phaseolus vulgaris.

On peut penser que ce fractionnement isotopique se produit au cours de la photo-oxydation de ces molécules d'eau.





On sait que tout l'oxygène rejeté provient de la décomposition de la molécule d'eau initiale. Un bilan isotopique nous montre que si la recombinaison des ions  $\text{OH}^-$  pour donner  $\text{H}_2\text{O}$  et  $\text{O}_2$  se traduit par un enrichissement isotopique de cette eau, cela va se traduire par un appauvrissement en  $^{18}\text{O}$  de l'oxygène rejeté.

Mais si nous admettons à la suite de nombreux auteurs que l'oxygène atmosphérique provient essentiellement de l'activité photosynthétique des végétaux, nous constatons que sa teneur en  $^{18}\text{O}$  (23,5 %) contredit l'hypothèse précédente : en effet dans des conditions naturelles, la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'oxygène atmosphérique est égale sinon supérieure à celle mesurée dans l'eau foliaire.

Comme il n'est pas possible d'avoir à la fois un enrichissement dans l'oxygène et dans l'eau rejetée, l'hypothèse d'un fractionnement isotopique au cours de la photolyse de l'eau ne paraît pas du tout convaincante, du moins dans l'état actuel de nos connaissances à ce sujet.

Un autre hypothèse consiste à faire intervenir la réduction du gaz carbonique .

### 3. 3. 3 - HYPOTHESE DE L'ENRICHISSEMENT ISOTOPIQUE DE LA TENEUR EN $^{18}\text{O}$ DE L'EAU DU LIMBE DE PHASEOLUS VULGARIS A TRAVERS LES REACTIONS SOMBRES DE LA PHOTOSYNTHESE (VOIE EN $\text{C}_3$ ) .

Lors des réaction claires de la photosynthèse sont élaborées des molécules d'A.T.P. et de N.A.D.P.H.. Le processus global de la photosynthèse se résume en une fixation du gaz carbonique suivie de sa réduction grâce à l'énergie lumineuse transformée, puis son incorporation dans l'anabolisme. Ces derniers cycles de réactions se déroulent lors des réactions sombres et c'est dans ces cycles qu'il nous faut rechercher l'enrichissement isotopique de l'eau foliaire.

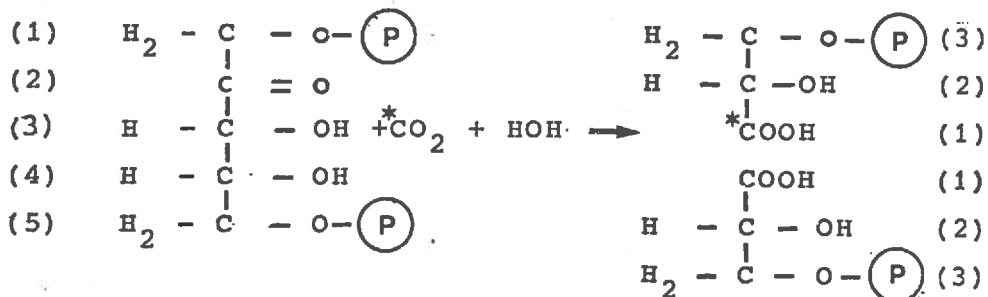
Nous allons étudier successivement

- la fixation du CO<sub>2</sub> sur un accepteur

- la réduction du CO<sub>2</sub> ainsi fixé

a) - La fixation du CO<sub>2</sub>.

Elle se déroule lors d'une phase de carboxylation avec addition de CO<sub>2</sub> et d'eau sur un sucre phosphorylé à 5 carbones :

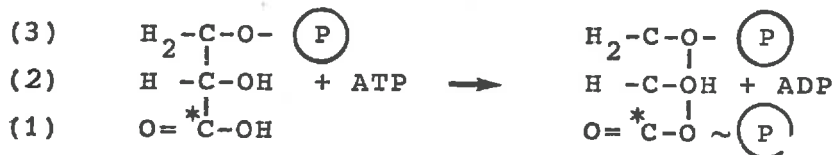


Ribulose diphosphate + gaz carbonique+eau      2 acides phosphoglycériques

b) - La réduction du gaz carbonique.

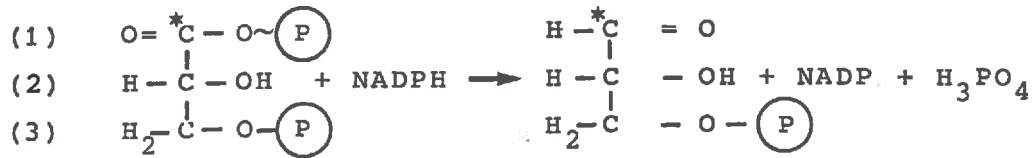
Cette réduction se déroule en deux étapes

\*



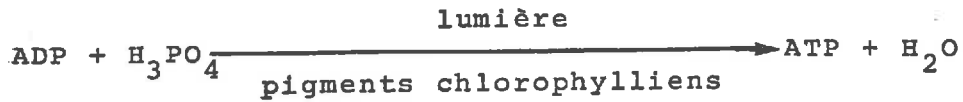
Glycérate 3-phosphate      glycérate 1,3 diphosphate  
 Acide phosphoglycérique+ ATP      Acide 1-3 diphosphoglycérique+ADP

\* Réduction de l'acide 1-3 diphosphoglycérique.



Acide 1-3 diphosphoglycérique + NADPH                      3-phosphoglycéraldéhyde + NADP + H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>

Et, enfin :



Suivant ce processus, l'un des atomes d'oxygène issu de la réduction de CO<sub>2</sub> se retrouve d'abord dans une molécule d'acide phosphorique. Puis c'est au cours des réactions de photophosphorylations, lors des réaction claires, de l'ADP en ATP qu'il y aurait libération d'eau contenant l'un des oxygènes de l'acide phosphorique, et qui pourrait être justement celui qui a été arraché au CO<sub>2</sub> fixé. Le CO<sub>2</sub> atmosphérique ayant une composition isotopique voisine de 41 %, ce processus expliquerait l'enrichissement observé au fur et à mesure de l'exposition de la plante à la lumière. (Voir annexe II).

Puis durant la phase obscure, l'eau du limbe se renouvelle progressivement par la transpiration et donc par absorption racinaire. Les photophosphorylations étant bloquées dans l'obscurité, ce renouvellement du stock d'eau va se traduire par une diminution des teneurs isotopiques observées en fin de journée. La composition isotopique de l'oxygène de l'eau foliaire tendra vers un nouvel équilibre ne dépendant plus que de l'humidité relative de l'air et de la composition isotopique de l'eau du sol.

En conclusion, tout semble donc indiquer, que sous humidité relative constante l'enrichissement progressif de la composition isotopique de l'eau foliaire en fonction de la durée de l'éclairement, soit à mettre en relation avec la production d'eau enrichie par l'activité photosynthétique.

L'intensité de la photosynthèse apparaît donc, après l'humidité relative comme un des facteurs fondamentaux de la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau des feuilles.

Tout ce qui favorise donc l'activité photosynthétique devrait dans ces conditions, favoriser en même temps l'enrichissement isotopique de l'eau du mésophylle.

C'est ce que nous allons maintenant vérifier.

### 3. 4 - L'ENRICHISSEMENT ISOTOPIQUE ET LES DIFFERENCES DE METABOLISME CHEZ LE BLE ET LE MAIS.

Pour comparer les teneurs en  $^{18}\text{O}$  de plantes dont l'activité photosynthétique est différente, nous avons des prélèvements de limbe sur *Triticum vulgare* et *Zea mays*. La première de ces deux plantes réalise la photosynthèse par la voie  $\text{C}_3$ , la seconde par la voie  $\text{C}_4$ . Si notre hypothèse concernant l'influence de la photosynthèse est juste, la différence entre la voie  $\text{C}_3$  et la voie  $\text{C}_4$ , doit se retrouver dans l'enrichissement isotopique de l'eau foliaire après 12 heures d'éclairement. C'est en effet, ce qui a été observé, figure (19): les teneurs en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe du maïs sont supérieures, après 12 heures d'exposition à la lumière, à celles du blé, alors que celles-ci sont comparables aux teneurs en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe du haricot, ces deux plantes réalisant la photosynthèse par la voie en  $\text{C}_3$ :

- L'enrichissement isotopique comparé de la teneur en  $^{18}\text{O}$  du limbe de *Zea mays* par rapport à celui de *Triticum vulgare*.

Les plantes accomplissant la photosynthèse par la voie en  $\text{C}_4$  assimilent de façon bien plus intense le  $\text{CO}_2$  atmosphérique : Figure (32).

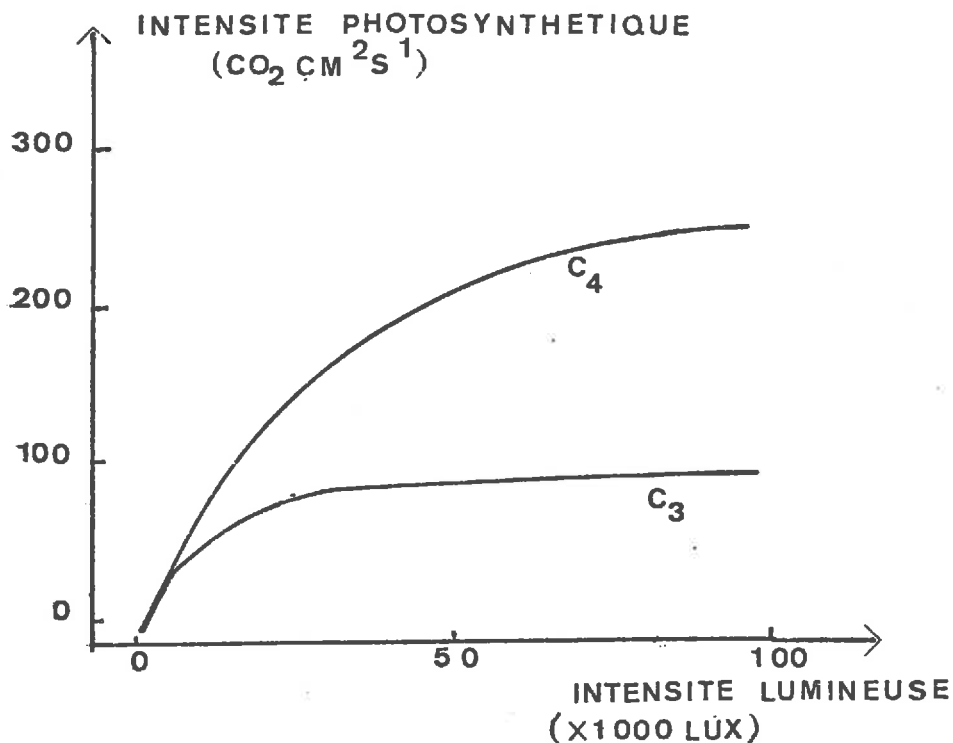


Figure (32) : Intensités photosynthétiques comparées des plantes en C<sub>3</sub> et en C<sub>4</sub> en fonction de l'intensité lumineuse.

La réduction photosynthétique du CO<sub>2</sub> atmosphérique, chez les plantes en C<sub>4</sub> nécessite la succession de deux carboxylations : la première utilisant le CO<sub>2</sub> atmosphérique, la seconde utilisant le CO<sub>2</sub> interne libéré à partir des produits de la première réaction de carboxylation ; le CO<sub>2</sub> interne ainsi libéré carboxyle le ribulose diphosphate du cycle en C<sub>3</sub> et est réduit lors des réactions sombres du cycle de Calvin.

La succession des réactions du cycle photosynthétique chez le maïs, permet de justifier l'assimilation bien plus intense du CO<sub>2</sub> atmosphérique chez les plantes en C<sub>4</sub> : il n'est donc pas étonnant de constater que les teneurs en <sup>18</sup>O de l'eau de *Zea mays* soient nettement supérieures à celles observées dans les échantillons de *Triticum vulgare*.

De plus, les travaux antérieurs (FERHI et LETOLLE, 1977) ont également démontré que la composition isotopique de l'oxygène de la cellulose des plantes en C<sub>4</sub> était supérieure à celle des plantes en C<sub>3</sub>. D'autres travaux plus récents (FERHI et LETOLLE,

1979) ont mis en évidence le rôle prépondérant de la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du mésophylle sur la composition isotopique de la cellulose.

Il est donc maintenant possible d'expliquer cet écart entre la composition isotopique de l'oxygène de la cellulose des plantes en  $\text{C}_3$  et en  $\text{C}_4$  par l'enrichissement supérieur de l'eau du mésophylle des plantes en  $\text{C}_4$ , due à une activité photosynthétique plus forte.

L'influence de l'activité photosynthétique sur la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe peut être également mis en évidence par l'âge des feuilles de *Phaseolus vulgaris*.

### 3. 5 - L'ENRICHISSEMENT ISOTOPIQUE ET L'AGE DE LA FEUILLE.

L'étude de la variation sur un même plant de haricot de la composition isotopique de l'oxygène de l'eau du limbe prélevé à des hauteurs différentes, nous a montré que les feuilles les plus proches de l'apex, présentent après 12 heures d'éclairement les teneurs les plus élevées en  $^{18}\text{O}$ .

Or, d'une façon générale, les mesures de l'activité photosynthétique, au même instant, des diverses feuilles d'une même plante, montrent qu'elle est maximale au niveau des feuilles les plus jeunes.

Au début du développement de la plante, les deux premières feuilles (celle du quart inférieur du végétal) sont la seule source de carbone organique. Puis elles deviennent sénescentes et leur activité photosynthétique est très réduite. D'autres feuilles se développent, l'activité photosynthétique devenant plus importante chez les feuilles les plus jeunes ainsi que SESTAK l'a mis en évidence en 1967 sur les feuilles d'un pied de tabac, figure (33)

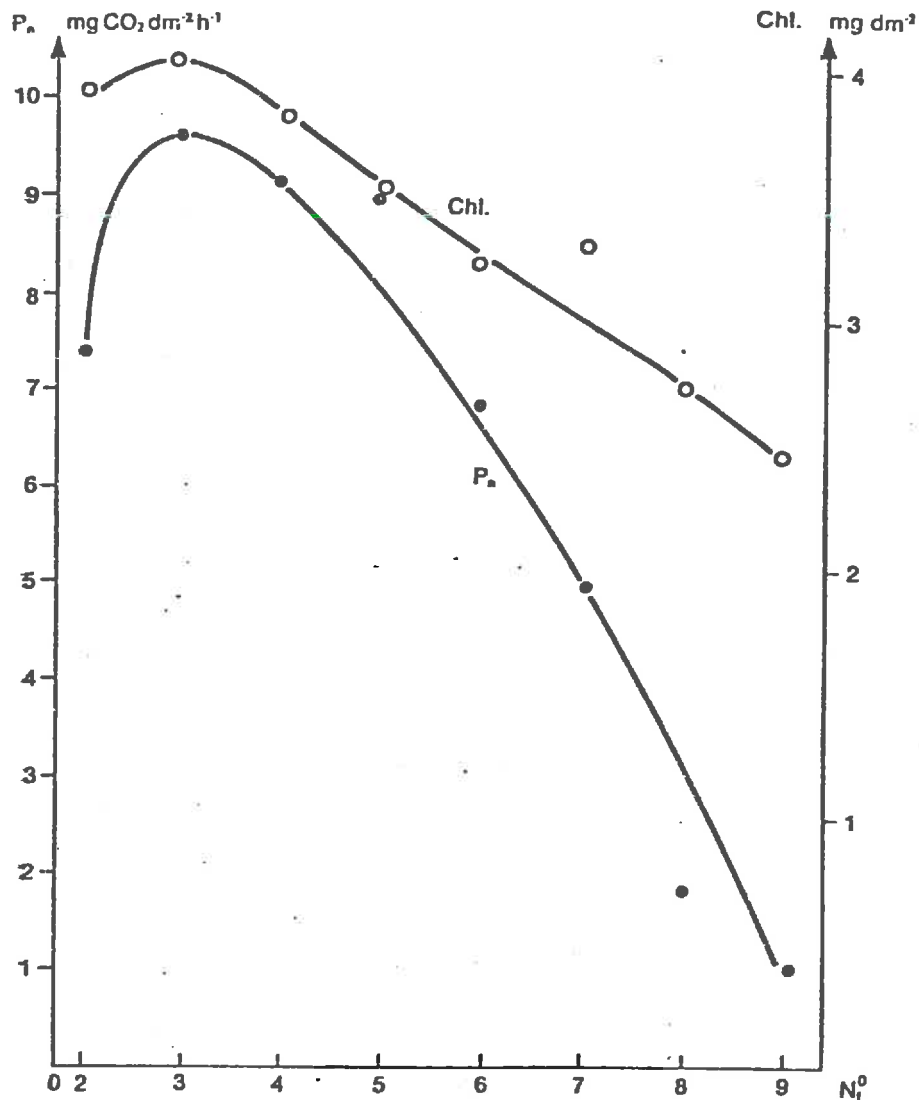


FIG33 Evolution de l'intensité photosynthétique nette (●—●) et de la teneur en chlorophylle par unité de surface (○—○) des feuilles d'un pied de Tabac (*Nicotiana sanderae hort*) âgé de 110 jours, en fonction de leur rang sur la plante à partir de l'apex. (d'après SESTAK 1967)

L'activité photosynthétique étant plus forte chez les feuilles les plus jeunes, les teneurs en <sup>18</sup>O de l'eau des feuilles les plus hautes seront donc les plus élevées.

En conclusion à l'étude isotopique de la feuille des plantes aériennes, on peut retenir que l'oxygène de l'eau présente dans cet organe, subit deux fractionnements isotopiques provoqués :

- par l'évaporation de l'eau au cours de la transpiration,

- par l'éclairement et à travers lui par l'activité

photosynthétique. Dans ce dernier cas, l'importance de ce fractionnement est réglé par le métabolisme de la plante.

Il nous reste maintenant à étudier le cas des organes présentant un enrichissement moindre (plantes aériennes) ou une absence totale d'enrichissement (plantes aquatiques totalement immergées).

### 3. 6 - ETUDE DES ORGANES VEGETAUX DES PLANTES AERIENNES OU L'ENRICHISSEMENT ISOTOPIQUE RESTE FAIBLE PAR RAPPORT A LA TENEUR EN $^{18}\text{O}$ DE L'EAU DU SOL

Cette catégorie d'organes comprend, en fait, l'ensemble des organes, le limbe foliaire étant exclus. On trouve dans cette famille :

- la racine
- la tige
- le pétiole
- la nervure centrale

Or la nature des fractionnements isotopiques relatifs à l'oxygène de l'eau du limbe, implique que l'on ne peut appliquer ce type de fractionnement à ces organes, ceux-ci ayant transpiration et une activité photosynthétique très limitées ou absentes. Le rôle essentiel de ces organes étant la conduction de l'eau, c'est trajet de l'eau dans le végétal que nous allons étudier.

#### 3. 6. 1 - CIRCULATION DE L'EAU DANS LES RACINES.

Après avoir été absorbée par les poils absorbants de la racine, l'eau se déplace dans cet organe sous l'action de gradients de succion depuis l'assise pilifère jusqu'au niveau du cylindre central radiculaire (figure 34).



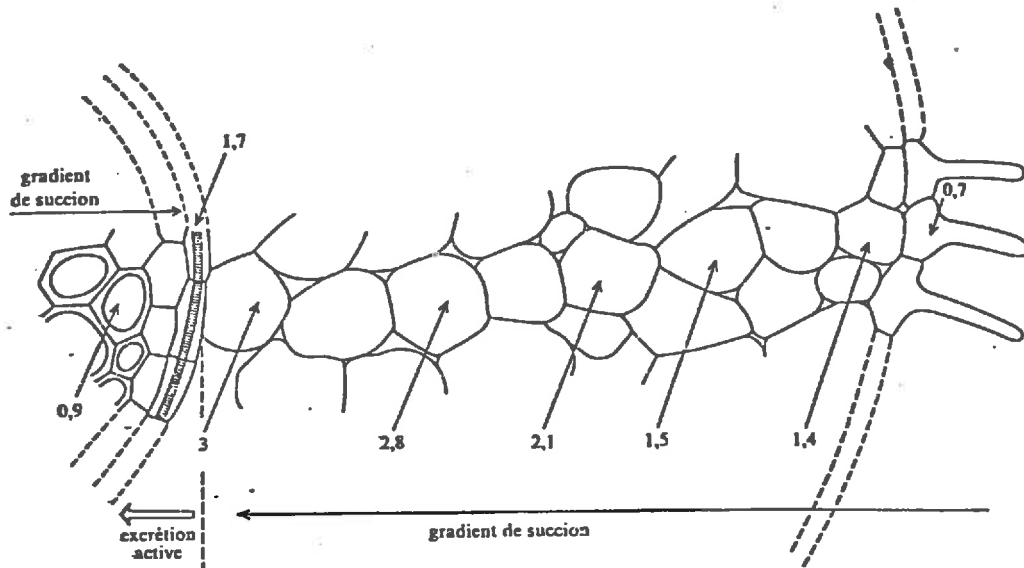


Figure 34 Gradients de succion mesurés sur une coupe transversale de racine de *Vicia faba*. Les valeurs portées sur la coupe sont les valeurs des succions (en atmosphères) dans les différentes cellules. On voit que le passage de l'eau du milieu, jusqu'au cylindre central s'explique très bien par le gradient naturel de succion. Puis de l'endoderme jusqu'aux vaisseaux du bois, le gradient de succion s'inverse et donc la formation de la sève brute dans les vaisseaux du bois résulte d'une excrétion active de l'eau à partir de l'endoderme.

(in MAZLIAK, 1974)

Puis l'intervention active du métabolisme cellulaire à partir de l'endoderme jusqu'aux vaisseaux du bois, permet à l'eau de circuler contre le gradient naturel de pression.

### 3. 6. 2 - ASCENSION DE LA SEVE BRUTE : CONDUCTION VASCULAIRE.

Une forte intensité transpiratoire provoque une dépression dans les vaisseaux d'où une ascension passive de la sève brute : la conduction dans les vaisseaux s'effectuant sous une pression atmosphérique, l'eau rejetée par les racine dans le cylindre central est alors aspirée ; c'est le mécanisme principal de la conduction vasculaire (98% de la sève brute est transportée sous son action).

### 3. 6. 3 - CIRCULATION DE L'EAU DANS LES FEUILLES.

Cette circulation de l'eau dans les feuilles est expliquée par l'existence d'un gradient de succion depuis les vaisseaux de bois jusqu'aux cellules les plus éloignées.

Enfin, l'eau s'évapore dans les lacunes du parenchyme d'où elle peut diffuser vers le milieu extérieur. (Figure 35).

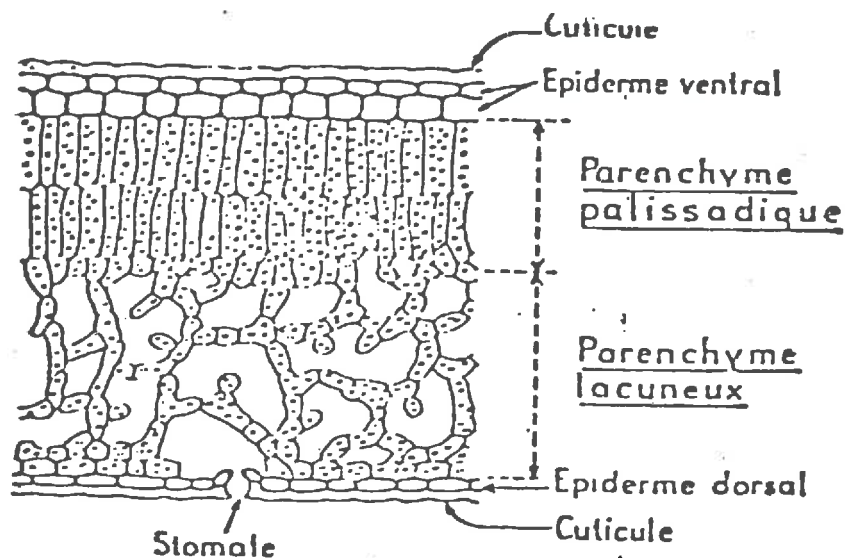


Fig (35) : Détail du parenchyme foliaire (in CAMEFORT, 1977)

Il ne semble pas que l'eau avant de pénétrer dans la feuille, subisse un fractionnement isotopique. Une fois dans la feuille, l'oxygène de l'eau s'enrichit suivant les processus déjà étudiés. La grande partie de cette eau est éliminée par transpiration. Cependant, un courant dit de "sève élaborée" (car riche des produits de la photosynthèse) se crée depuis la feuille jusqu'au niveau des racines, figure (36)

Cette sève élaborée circule dans les tube criblés du phloème, qui lorsqu'ils sont fonctionnels sont de véritables cellules vivantes à la différence des vaisseaux de la sève brute.

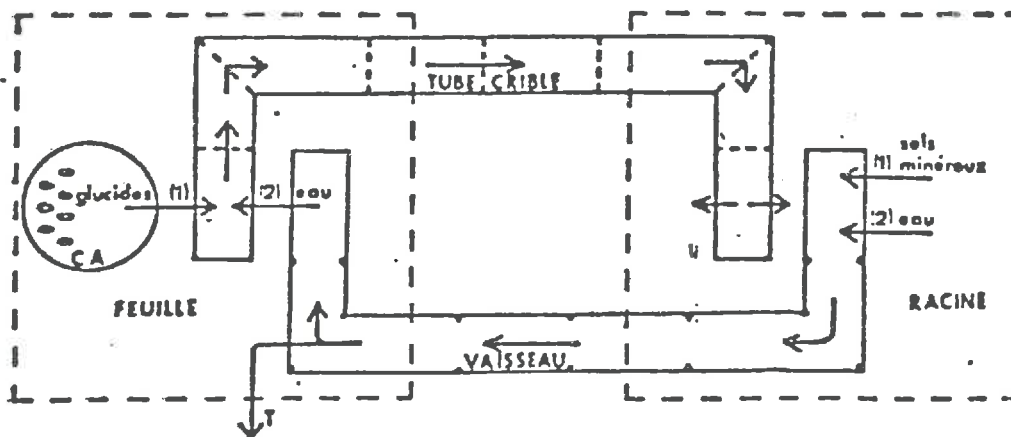


Fig (36) La circulation des sèves chez le végétal (in BINET , 1967)

Du point de vue isotopique, l'analyse d'un échantillon se traduit donc par la prise en compte des teneurs en  $^{18}\text{O}$  de deux types d'eau.

- La sève brute, pauvre en  $^{18}\text{O}$ , ascendante.
- La sève élaborée, très enrichie en  $^{18}\text{O}$ , descendante.

Les organes (nervure centrale, pétiole) proches de la source d'enrichissement, c'est-à-dire du limbe, auront donc une teneur en  $^{18}\text{O}$  plus élevée, la proportion de sève élaborée étant plus importante.

Les organes (racine, tige) proches de la source d'alimentation pauvre en  $^{18}\text{O}$  auront donc une teneur en  $^{18}\text{O}$  plus faible, la proportion de sève brute étant plus importante, cette fois.

3. 7 - ETUDE DE L'ABSENCE D'ENRICHISSEMENT ISOTOPIQUE : LES  
PLANTES AQUATIQUES TOTALEMENT IMMERGEES;

Nous avons pu constater tout au long de notre étude que la composition isotopique de ce type de plantes, reste constante et identique à celle de l'eau du milieu de culture.

L'absence de processus transpiratoires chez les végétaux totalement immergés supprime l'une des causes possibles de variation de la teneur en  $^{18}\text{O}$  de l'eau foliaire.

Dans le cas où cette transpiration existe, comme dans le cas de la Sagittaire (plante aquatique fixée présentant des feuilles aériennes et flottantes), BRICOUT (1977) a pu mettre en évidence, un enrichissement isotopique dans les feuilles aériennes et flottantes par la méthode extraction-équilibre  
Tableau (XXIX)

Nature de l'échantillon	$^{18}\text{O}$ ‰ SMOW
<hr/>	
Sagittaria sagittariae	
- feuilles immergées	- 5,5
-feuilles flottantes	- 3,6
-feuilles aériennes	- 1,2
<hr/>	
Eau de l'étang	- 6,7
<hr/>	

Tableau (XXIX)

Plus surprenante, est l'absence d'un enregistrement isotopique de l'activité photosynthétique, lors de l'enrichissement de la plante. Cela explique sans doute par les échanges d'eau incessants entre les milieux extra et intra-cellulaires, ce qui se traduit par une homogénéisation isotopique masquant l'effet de la photosynthèse.

Le milieu de développement impose donc sa composition isotopique à la plante aquatique immergée et masque ainsi les autres causes possibles de variation.

- CONCLUSION -  
=====

L'emploi de la méthode de micro-analyse par réduction de l'eau sur le diamant puis conversion du CO ainsi obtenu en CO<sub>2</sub> analysable au spectromètre de masse, a montré que la teneur en <sup>18</sup>O de l'eau circulant à l'intérieur d'une plante aérienne n'est pas homogène. Cette teneur varie depuis la partie souterraine du végétal jusqu'à la partie aérienne la plus haute ; parmi tous ces organes, les feuilles présentent les enrichissements isotopiques les plus élevés.

A l'intérieur d'une même feuille, nous sommes amenés à distinguer le  $\delta^{18}\text{O}$  de l'eau du limbe, du  $\delta^{18}\text{O}$  de l'eau des nervures, organes pauvres en isotopes lourds ; d'où les précautions à prendre pour éviter d'analyser un mélange d'eaux de compositions isotopiques différentes.

La composition isotopique de l'eau du limbe est soumise à des processus fractionnant d'origine physique et biologique.

Les processus d'origine physique sont liés à l'évaporation de l'eau dans la feuille lors de la transpiration. Ils dépendent des paramètres du milieu tels que l'humidité relative, la composition isotopique de l'eau du sol et de la vapeur d'eau atmosphérique. Pour pouvoir calculer la composition isotopique de l'oxygène de l'eau de la feuille, lors de la transpiration, un modèle a été mis au point dont l'application s'est révélée satisfaisante tant que nous sommes restés dans les limites de ce modèle, assimilant la feuille à un bassin homogène à niveau constant.

Les processus biologiques sont liés à des paramètres commandant la productivité végétale, en particulier, l'activité photosynthétique. A cet égard, il nous a été possible de mettre en évidence le rôle joué par l'éclairement.

Mais ces processus sont également contrôlés par les caractères intrinsèques de la plante du point de vue physiologique : les plantes réalisant la photosynthèse par la voie en  $C_4$  provoquent un enrichissement des teneurs en  $^{18}O$  de l'eau du limbe supérieur à celui créé par les plantes réalisant la photosynthèse par la voie en  $C_3$ .

Les plantes aquatiques totalement immergées, ne sont pas concernées par le fractionnement isotopique d'origine physique, la transpiration étant absente chez ce type de végétaux. Il n'existe pas, également de variation de  $H_2^{18}O$  dans le limbe de ces plantes en fonction de l'éclairement : ceci peut être expliqué par les échanges d'eau incessants entre le milieu intérieur et le milieu de culture d'où une absence d'enregistrement des effets photosynthétiques.

Enfin, ce travail se place dans un contexte plus général de l'étude des mouvements de l'eau dans le sol, la plante et l'atmosphère. Ces mouvements sont influencés par un ensemble d'interactions simultanées

L'emploi d'une méthode de micro-analyse peut donc servir à une meilleure compréhension des transferts de l'eau dans le système sol-plante-atmosphère ainsi qu'à l'étude des réponses de la plante à la disponibilité en eau du sol, en fonction des paramètres de l'environnement :

- "Paramètres du sol", tels que l'aération, la disponibilité en eau, en éléments nutritifs, la conductivité et la diffusivité
- "Paramètres du végétal", tels que la densité racinaire, la distribution des racines en profondeur, l'âge de la plante et ses caractéristiques génétiques.
- "Paramètres météorologiques", tels que l'intensité lumineuse, la durée de l'ensoleillement, la composition de l'atmosphère.

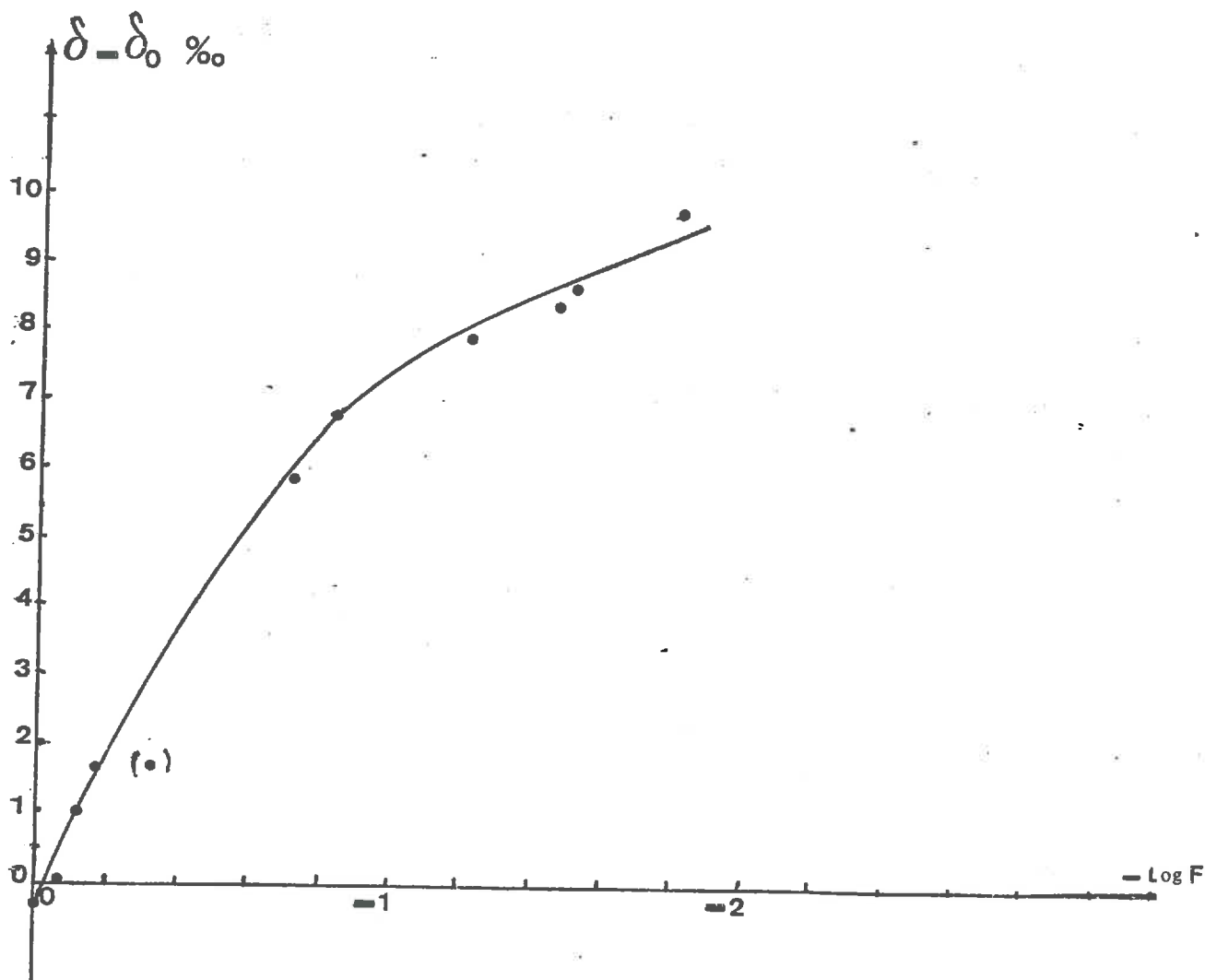
Tous ces facteurs peuvent influencer à des degrés divers le développement de la plante, et seront donc enregistrés par la composition isotopique de l'eau circulant dans le végétal, et en particulier dans les feuilles.

## ANNEXES



## ANNEXE I

L'expérience présentée page 21 (a/2.1) montre à l'évidence que l'extraction de l'eau s'effectue suivant des modalités différentes en fonction de l'humidité pondérale du sol. Les données numériques sont reportées sur la figure 37, en notant que l'eau extraite à 100 % d'humidité pondérale a une composition isotopique plus appauvrie en  $^{18}\text{O}$  que celle de l'eau d'irrigation du sol.



cette figure, les données expérimentales sont exprimées en  $\delta - \delta_0$  en fonction de  $\text{Log } F$ . En effet, le protocole expérimental correspond en principe à une distillation de RICH, dont on sait qu'elle aboutit isotopiquement à la relation :

$$\delta - \delta_0 = -\text{Log } F \times \epsilon$$

$F$  : fraction restante de liquide

$\epsilon$  : coefficient d'enrichissement cinétique instantané

On peut ainsi distinguer deux régions :

- De  $S_1$  à  $S_4$  (variation de l'humidité pondérale de 100% à 82,6%)

- De  $S_7$  à  $S_{11}$  (variation de l'humidité pondérale de 43,6% à 16,1%.

Entre les deux, existe une zone de transition

Dans la première partie, l'évolution est linéaire, avec un coefficient d'enrichissement cinétique variant entre -16‰ et -9‰ (selon que l'on tienne compte ou non de  $S_1$  et correspond effectivement au schéma théorique. On note, cependant que le coefficient de fractionnement isotopique mesuré ici est inférieur à celui déterminé par différents auteurs (MERLIVAT, 1963); ceci semble normal compte tenu des conditions expérimentales. Elle correspond à des enrichissements observés dans les mêmes conditions expérimentales, lors de l'évaporation de surface d'eau libre (LETOLLE, communication personnelle).

La seconde partie correspond à un enrichissement isotopique moyen de -3‰, donc beaucoup plus faible. Le mécanisme, que nous n'avons pas tenté d'approfondir, correspond très vraisemblablement à l'extraction de l'eau "liée", celle de la microporosité et celle qui est adsorbée. Nous ne pensons pas que l'on puisse attribuer l'abaissement du coefficient d'enrichissement cinétique à un phénomène de recondensation de la vapeur (CRAIG, GORDON, HORIBE, 1963).

La zone intermédiaire correspond, sans doute, à la transition entre les deux phases d'extraction, le passage entre ces deux phases s'effectuant progressivement.

Echantillons	F (%)	Log F	$\delta^{18}O$ ‰	$\delta - \delta_0$
$S_1$	0	0	-7,8	-0,3
$S_2$	93,5	-0,07	-7,2	+0,4
$S_3$	87,4	-0,14	-6,4	+1,2
$S_4$	82,6	-0,19	-5,8	+1,8
$S_5$	72,3	-0,32	-5,8	+1,8
$S_6$	48,9	-0,72	-1,6	+6,0
$S_7$	43,6	-0,83	-0,6	+6,9
$S_8$	29,3	-1,23	+0,6	+8,1
$S_9$	22,9	-1,47	+1,1	+8,7
$S_{10}$	21,9	-1,52	+1,4	+8,9
$S_{11}$	16,1	-1,82	+2,4	+10,0

## ANNEXE II

On peut tenter de schématiser l'enrichissement isotopique observé lors de l'exposition à la lumière de la plante

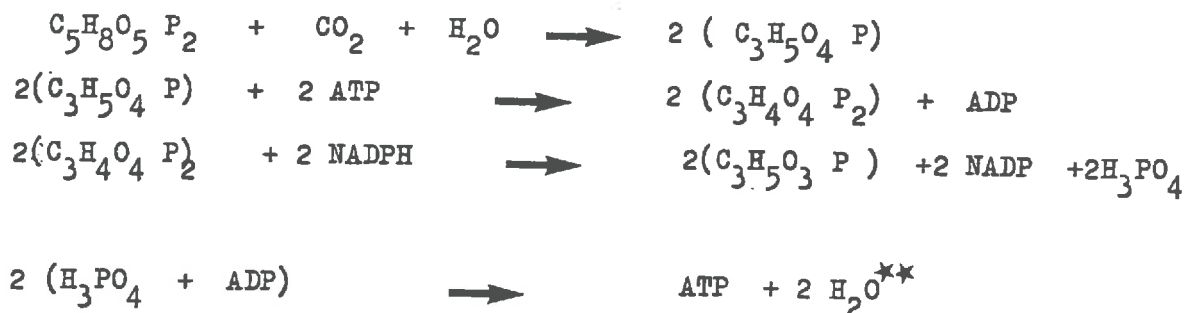
### 1) Réactions claires

Le schéma présenté page 82 est le suivant :



Au cours de cette réaction sont consommées deux molécules d'eau et restitué une

### 2) Réactions sombres

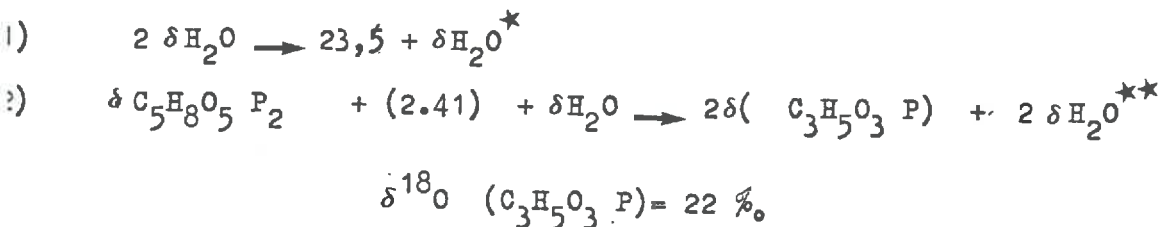


D'où :

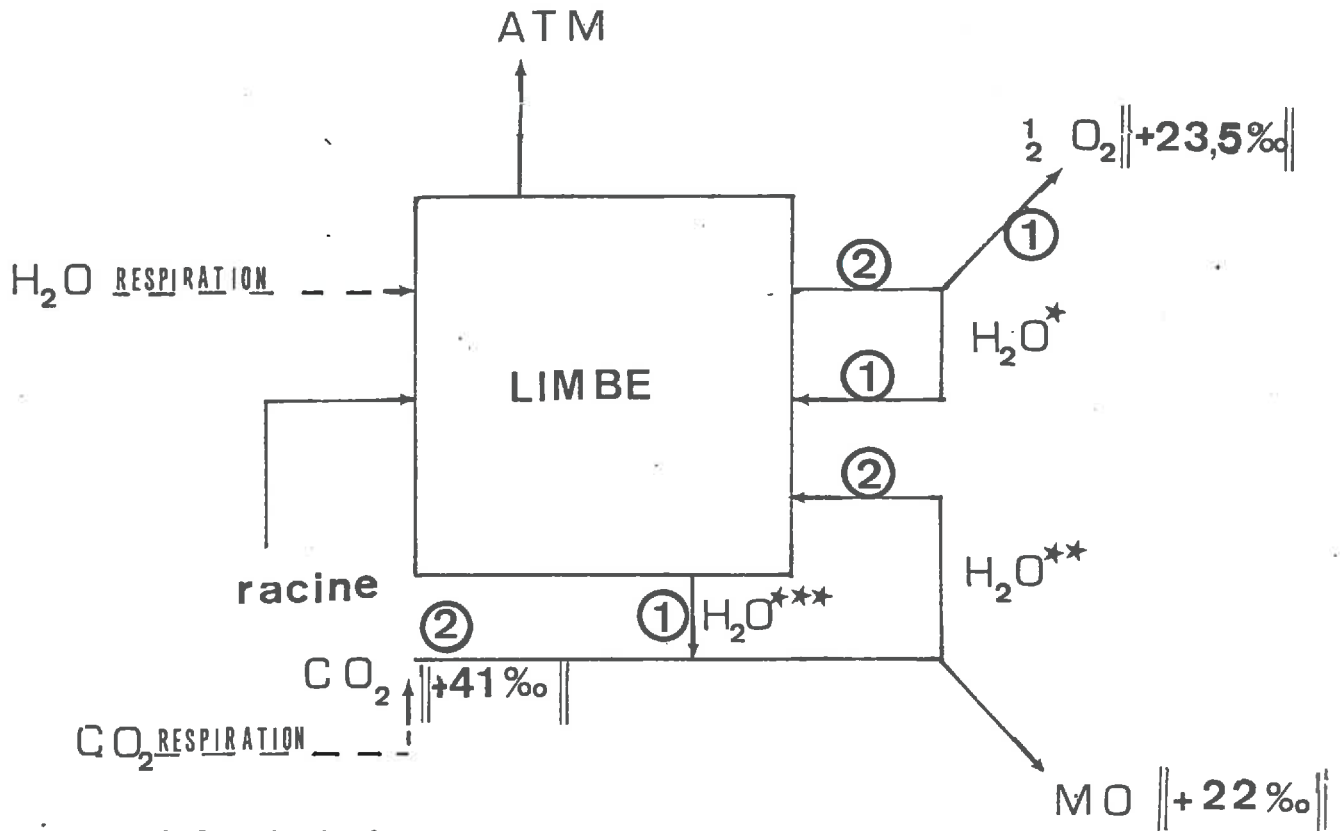


Au cours de cette réaction est consommée une molécule d'eau, tandis que deux sont restituées.

En négligeant arbitrairement tout fractionnement isotopique lors de ces réactions, et si nous considérons que le dioxyde de carbone atmosphérique utilisé au cours de ces réactions a une teneur en  $^{18}\text{O}$  de 41 ‰ et que l'oxygène atmosphérique provenant de la photosynthèse a une teneur en  $^{18}\text{O}$  de 23,5, nous pouvons écrire le bilan isotopique suivant :



Le cycle de l'oxygène dans l'eau de la plante peut être résumé de la façon suivante



Ecrivons le bilan isotopique :

$$\varphi_{\text{limbe}} \delta_{\text{limbe}} = \varphi_{\text{rac}} \delta_{\text{rac}} + \varphi_{\text{H}_2\text{O}^*} \delta_{\text{H}_2\text{O}^*} + \varphi_{\text{H}_2\text{O}^{**}} \delta_{\text{H}_2\text{O}^{**}} + \varphi_{\text{CO}_2} \delta_{\text{CO}_2} - \varphi_{\text{Atm}} (\delta_{\text{Vap rej}} - \varphi_{\text{O}_2} \delta_{\text{O}_2} - \varphi_{\text{H}_2\text{O}^{***}} \delta_{\text{limbe}} - \varphi_{\text{MO}} \delta_{\text{MO}})$$

$\varphi_{\text{rac}}$  et  $\varphi_{\text{atm}}$  sont sous la dépendance de l'humidité relative de l'atmosphère, les autres flux sous celle de l'intensité photosynthétique. Il y a proportionnalité entre ces  $\varphi$  et l'on peut remplacer :

$$\varphi_{\text{H}_2\text{O}} \text{ par } \varphi_{\text{CO}_2} ;$$

$$\varphi_{\text{MO}}, \varphi_{\text{O}_2}, \varphi_{\text{H}_2\text{O}^*} \text{ et } \varphi_{\text{H}_2\text{O}^{**}} \text{ par } \varphi_{\text{CO}_2}$$

D'où, avec l'égalité lors de la transpiration :

$$\varphi_{\text{rac}} = \varphi_{\text{Atm}}$$

$$(4) \varphi_{\text{limbe}} \delta_{\text{limbe}} = \varphi_{\text{rac}} \left( \delta_{\text{rac}} - \left[ \delta_{\text{limbe}} + \epsilon_{\text{evap}} \right] \right) + \varphi_{\text{CO}_2} \left[ \delta_{\text{H}_2\text{O}^*} \cdot \frac{1}{2} + \delta_{\text{H}_2\text{O}^{**}} + \delta_{\text{CO}_2} - \frac{1}{2} \delta_{\text{O}_2} + \delta_{\text{MO}} + \delta_{\text{limbe}} \right]$$

ou, à l'équilibre pendant la photosynthèse

$$(5) \quad 0 = \varphi_{\text{rac}} \left( \delta_{\text{rac}} - [\delta_{\text{limbe}} + \epsilon_{\text{evap}}] \right) + \varphi_{\text{CO}_2} \left[ 41 - 11,25 - 11 - \delta_{\text{limbe}}/2 + \delta_{\text{H}_2\text{O}^*/2} + \delta_{\text{H}_2\text{O}^{**}} \right]$$

Or, d'après (1),  $\delta_{\text{H}_2\text{O}} = 23,5 - 2\delta_{\text{limbe}}$

Et, en supposant dans (2)  $\delta_{\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_5 \text{ P}_2} = + 22 \%$

d'où  $2\delta_{\text{H}_2\text{O}^{**}} = 22 - 44 + (2.41) - \delta_{\text{limbe}}$

$2\delta_{\text{H}_2\text{O}^{**}} = 60 - \delta_{\text{limbe}}$

(5), devient donc :

$$0 = \varphi_{\text{rac}} \left( \delta_{\text{rac}} - [\delta_{\text{limbe}} + \epsilon_{\text{evap}}] \right) + \varphi_{\text{CO}_2} \left[ 18,75 - \delta_{\text{limbe}}/2 + 11,75 - \delta_{\text{limbe}} + 30 - \delta_{\text{limbe}}/2 \right]$$

D'où 
$$\delta_{\text{limbe}} = \frac{0,5 \varphi_{\text{CO}_2} + \varphi_{\text{rac}} (\delta_{\text{rac}} - \epsilon_{\text{evap}})}{2\varphi_{\text{CO}_2} + \varphi_{\text{rac}}}$$

Ce qui montre l'influence conjuguée des deux facteurs analysés

BIBLIOGRAPHIE

- AGGET J., BURTON C.A., LEWIS T.A., LLEWELLYN D.R., O'CONNOR C., ODELL A.L., (1965). - The isotopic analysis of oxygen in organic compounds and in coordination compounds containing organic hazards. *Int. Journ. of Applied Radiations and isotopes*, 16, 165 - 170.
- ASTON M.J., (1970). - Changes in internal water status and the gas exchange of leaves in response to ambient evaporative demand. In "Réponse des plantes aux facteurs climatiques", Act. Coll. Uppsala, UNESCO, 243 - 247.
- BARIAC T., (1977). - Evolution de la composition isotopique d'un sol nu soumis à l'évaporation. D.E.A. "Sciences de l'Eau", Univ. Pierre et Marie Curie, Paris
- BIGELEISEN J., (1965). - Chemistry of isotopes. *Science*, 147, 463 - 471
- BINET P., BRUNEL J.P. (1967). - Physiologie végétale, I, Doin, 439p
- BRICOUT J., (1978). - Recherches sur le fractionnement isotopique des isotopes stables de l'hydrogène et de l'oxygène dans quelques végétaux. Thèse de doctorat d'Etat, Univ. Pierre et Marie Curie, Paris
- BOTTINGA Y., CRAIG H., (1969). - Oxygen isotope fractionation between CO<sub>2</sub> and water and the isotopic composition of marine atmosphere. *Earth. Planet. Sc. Lett.*, 5, 285 - 295.
- CAMEFORT H., (1977). - Morphologie des végétaux vasculaires. Doin, 432p.
- COSTES C., (1978). - Photosynthèse et Production végétale. Gauthier-Villars, 372 p.
- CRAIG H., (1957). - Isotopic standards for carbon and oxygen and correction for mass-spectrometric analysis of carbon dioxide. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 12, 133 - 149.
- CRAIG H., GORDON L.I., (1961a). - Standards for reporting concentrations of deuterium and oxygen 18 in natural water. *S. 133*, 1833 - 1834.
- CRAIG H., (1961b). - Isotopic variations in meteoric waters. *Science*, 133, 1703 - 1703.
- CRAIG H., GORDON L.I., HORIBEY., (1963). - Isotopic exchange effects in the evaporation. I low temperature experimental results. *Journ. Geophys. Res.* 68; 5079 - 5087.
- CRAIG H., GORDON L.I. (1965). - Deuterium and oxygen variations in the ocean and marine atmosphere. In "Stable Isotopes in Oceanographic Studies and Paleotemperatures" Spoleto, IAEA. 7, 26 - 30.
- DANSGAARD W. (1953). - The abundance of <sup>18</sup>O in atmospheric water and water vapour. *Tellus V*, 461 - 469.
- DONGMANN G., FORSTEL H., WAGENER K., (1972). - <sup>18</sup>O-rich oxygen from land photosynthesis. *Nature, New Biol.*, 240, 127 - 128
- DOIGMAJI G., NURNBERG H., FORSTEL H., WAGENER K., (1974). - On the enrichment of H<sub>2</sub><sup>18</sup>O in the leaves of transpiring plants. *Rad. Environ. Biophys.* 11, 41-52.

- EPSTEIN S., MAYEDA T., (1953). - Variation of  $^{18}\text{O}$  content of waters from natural sources. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 4, 213 - 224.
- FERHI A., LETOLLE R., LERMAN J.C., (1975). - Oxygen isotope ratios of organic matter : analysis of natural compositions. *Proc. of 2<sup>nd</sup> Int. Conf. on stable isotopes*. Oak Brook, Illinois.
- FERHI A., LETOLLE R., (1977). - Variation de la composition isotopique de l'oxygène organique de quelques plantes en fonction du milieu. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 284, 1887- 1889.
- FERHI A., LETOLLE R., (1977). - Transpiration and evaporation as the principal factors in oxygen isotopes variations of organic matter in land. *Physiol. Veg.*, 15, 2, 363 - 370.
- FERHI A., LETOLLE R., (1979). - Relation entre le milieu climatique et les teneurs en oxygène-18 de la cellulose des plantes terrestres. *Physiol. Végét.*, 17, (1), 107 - 117.
- FERHI A., BARIAC T., LETOLLE R., (1979). - Oxygen isotopic composition of water in leaves .In *Nature*, sous presse
- FONTES J.CH., GONFIANTINI R., (1967). - Comportement isotopique au cours de l'évaporation de deux bassins sahariens .*Earth. Planet. Sc. Lett.*, 3, 253 - 256..
- FONTES J.CH., GONFIANTINI R., (1970). - Composition isotopique de la vapeur d'eau atmosphérique du lac Léman .*Earth. Planet. Sc. Lett.*, 7, 325 - 329.
- FONTES J.CH., (1976). - Isotopes du milieu et cycles des eaux naturelles Thèse de Doctorat d'Etat ès Sciences Naturelles, Paris, 218p
- FORSTEL H., PUTRAL A., SCHLESSER G., LIETH H., (1975), - The world pattern of oxygen-18 in rainwater and its importance in understanding the biogeochemical oxygen cycle. In "Isotope ratio as Pollutant . Source and Behaviour Indicators" IAEA, Vienna, 3 - 20
- FORSTEL H. (1978). - the enrichment of  $^{18}\text{O}$  in leaf water under natural conditions. *Rad. and Environ.*, 15, 323 - 344.
- FRIEDMAN I., O'NEIL J.R., (1977 ) . - Compilation of stable isotope fractionation factors of geochemical interest. *Geochemical Survey Professional, Data of geochemistry*.
- GONFIANTINI R., GRAZIU S., TONGIORGI E. (1965). - Oxygen isotopic composition of water in leaves. In "Isotopes and radiations in soil plant nutrition studies". *Proceed. Symp. IAEA, Vienna*, 405 - 410.
- HARDCASTLE K.G., FRIEDMAN I., (1974). - A method for oxygen isotope analysis of organic material. *Geophys. Res. Letters*, 1, 165 - 167.
- LESAINTE C., MERLIVAT L., BRICOUT J., FONTES J.CH., GAUTHERET R., (1974). - Sur la composition isotopique en isotopes stables de l'eau de la tomate et du maïs .*C.R. Acad. Sc., Paris*, 278, 2925 2930.



- LUDLOW M.M. (1976).-Ecophysiologie of C<sub>4</sub> grasses.In "Water and Plant Life".Ecological studies.Wurtzburg,364,386.
- MAJZOUB M. (1966).- Une méthode d'analyse isotopique de l'oxygène sur des microquantités d'eau.J.Chim.Phys.,4,563 - 568.
- MERLIVAT L.,BOTTER R.,NIEF G.(1963).- Fractionnement isotopique au cours de la distillation de l'eau.J.Chim.Phys.,56 - 59.
- MERLIVAT L.,(1970).- L'étude quantitative de bilans de lacs à l'aide des concentrations en deutérium et oxygène 18.In "Isotopes in hydrology".Proceed.Symp.IAEA.Vienna,89 - 107.
- MERLIVAT L.,COANTIC M.(1975).- Study of mass transfert at the air-water interface by an isotopic method.J.Geophys.Res.;80,3455- 3464.
- MAZLIAK P.,(1974).- Physiologie végétale.Nutrition et métabolisme. Hermann.35Op.
- Percevaux S.,(1964).- Transpiration végétale et production de matière sèche.Essai d'interprétation en fonction des facteurs du milieu. In"l'eau et la production végétale"INRA,61-144.
- THATCHER L.L. (1965).- Water tracing in the Hydrologic Cycle. In"Isotope Techniques in the Hydrological Cycle".AGU.,97 - 108.