



HAL
open science

Diversity and plasticity of leaf traits in tropical rain forest : a cost/benefit analysis of carbon gain

Sabrina Coste

► **To cite this version:**

Sabrina Coste. Diversity and plasticity of leaf traits in tropical rain forest : a cost/benefit analysis of carbon gain. Life Sciences [q-bio]. AgroParisTech, 2008. English. NNT : 08AGPT0046 . pastel-00004645

HAL Id: pastel-00004645

<https://pastel.hal.science/pastel-00004645>

Submitted on 12 May 2009

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

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

N° / / / / / / / / / / / / / /

THÈSE

pour obtenir le grade de

Docteur

de

**l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement
(Agro Paris Tech)**

Spécialité : Sciences forestières

*présentée et soutenue publiquement
par*

Sabrina Coste

2 juillet 2008

DIVERSITE ET PLASTICITE DES TRAITS FOLIAIRES EN FORET TROPICALE HUMIDE

UNE ANALYSE COUT/BENEFICE DE L'ACQUISITION DE CARBONE

Directeur de thèse : Erwin Dreyer

Codirecteur de thèse : Jean-Christophe Roggy

INRA, UMR 745 Ecologie des Forêts de Guyane, 97300 Kourou, Guyane française

Devant le jury :

Frans BONGERS
Marie-Laure NAVAS

Professeur, Université de Wageningen
Professeur, SupAgro, Montpellier

Rapporteur
Rapporteur

Catherine COLLET
Erwin DREYER
Daniel EPRON
Patrick HEURET
Meriem FOURNIER

Chargé de recherche, INRA, Nancy
Directeur de recherche, INRA, Nancy
Professeur, Université Henri Poincaré, Nancy
Chargé de recherche, INRA, Montpellier
ICGREF, AgroParisTech, Nancy

Examinateur
Examinateur
Examinateur
Examinateur
Invité

A Paul et Malouma.

Table des matières

<i>Table des matières</i>	1
<i>Liste des abréviations</i>	4
<i>Projets de Publication</i>	6
<i>Annexes</i>	6
I. Introduction	7
1.1 <i>Contexte général de l'étude</i>	7
1.2 <i>Éléments bibliographiques</i>	9
1.2.1 <i>Les traits fonctionnels foliaires</i>	9
Définitions	9
Diversité interspécifique des traits fonctionnels foliaires	10
Plasticité phénotypique	11
Variabilité intraspécifique liée à l'ontogénèse	14
1.2.2 <i>Acquisition du carbone</i>	16
Les relations photosynthèse-azote dans les plantes	16
Capacité photosynthétique et allocation d'azote	17
Analyses coût-bénéfices pour les feuilles	18
1.2.3 <i>Dynamique successionale et classification d'espèces</i>	20
La tolérance à l'ombre	20
Les syndromes de tolérance/intolérance à l'ombre	22
1.3 <i>Principaux objectifs de l'étude</i>	24
II. Matériel et méthodes	26
11.1 <i>Choix des dispositifs expérimentaux</i>	26
11.2 <i>Les espèces</i>	26
11.3 <i>Description du dispositif expérimental de la serre</i>	27
11.3.1 <i>Disposition des plants</i>	27
11.3.2 <i>Les conditions environnementales</i>	27
L'environnement lumineux	27
Le climat de la serre	28
Les traitements phytosanitaires et la fertilisation	29
11.3.3 <i>Croissance des plants</i>	29
11.4 <i>Les mesures de capacités photosynthétiques foliaires</i>	30

II.4.1	Un modèle semi-mécaniste : le modèle de Farquhar <i>et al.</i> (1980).....	30
	Description du modèle.....	30
	Ajustement des paramètres du modèle	32
	Paramétrisation du modèle	33
II.4.2	Les mesures d'échanges gazeux foliaires	35
II.4.3	Définition du coût de construction	36
II.4.4	Estimation des coûts de construction par la teneur en Carbone	37
	Description du calcul.....	37
	Estimation de la composition biochimique.	38
	Les limites de cette estimation.	40
II.4.5	Échantillonnage et mesures des concentrations totales en N, C et cendres	40
II.5	<i>L'approche coût-bénéfice</i>	41
II.5.1	La durée de vie des feuilles	41
II.5.2	Le temps de retour sur investissement ("payback time").....	42
II.5.3	Théorie de l'optimisation de la durée de vie des feuilles.....	43
	Le modèle de Kikuzawa (1991, 1995), cadre théorique	43
	Estimation de la durée de vie optimale	44
II.5.4	Prise en compte des CC des structures de support.....	45
II.6	<i>Les traits structuraux</i>	45
II.7	<i>La plasticité phénotypique</i>	46
II.8	<i>Les expérimentations sur le terrain</i>	47
II.8.1	Site de l'étude	47
II.8.2	Choix des espèces et sélection des individus	47
II.8.3	Caractérisation de l'éclairement relatif.....	48
III.	Résultats-Discussion	49
III.1	<i>Diversité interspécifique des traits fonctionnels foliaires</i>	49
III.1.1	Le coût de construction du métamère	49
	Coûts de construction spécifiques	49
	Caractéristiques morphologiques des métamères	51
	Structure et composition chimique des limbes	52
	Coût du déploiement de la surface assimilatrice.....	53
	Comportement des espèces pionnières	54
III.1.2	Acquisition du carbone à l'échelle de la feuille	54
	Vitesse maximale apparente de carboxylation et flux maximal apparent de transport d'électrons.	54
	Relations entre capacités photosynthétiques, traits structuraux, et concentration en azote foliaire ...	55

Efficience photosynthétique d'utilisation de l'azote	55
Comportement des espèces pionnières	56
III.1.3 Bilan de C à l'échelle de la feuille	57
Estimation du temps de retour sur investissement (« payback time »)	57
Le temps de retour sur investissement	58
La durée de vie optimale des feuilles (Kikuzawa 1991, Kikuzawa 1995)	59
La durée de vie réelle des feuilles.....	60
Comparaison entre les durées de vie optimales et mesurées des feuilles	62
Comportement des espèces pionnières	63
III.2 <i>Plasticité phénotypique en réponse à la disponibilité en lumière</i>	63
III.2.1 Les coûts de construction des métamères	63
Coûts de construction spécifiques	64
Caractéristiques morphologiques des métamères	65
Structure et composition chimique des feuilles	65
Coûts du déploiement de la surface assimilatrice	66
III.2.2 Capacités photosynthétiques et allocation de l'N foliaire	66
III.2.3 Bilan de C à l'échelle de la feuille	67
Les temps de retour sur investissement et la durée de vie optimale	67
La durée de vie des feuilles.....	68
III.3 <i>Diversité interspécifique de la plasticité phénotypique</i>	68
III.3.1 Comment quantifier la plasticité phénotypique : le choix des indices	68
III.3.2 Diversité interspécifique de la réponse plastique à l'éclairement relatif	69
III.3.3 Plasticité phénotypique et tolérance à l'ombrage	70
III.4 <i>Interaction entre l'ontogénèse et l'éclairement relatif</i>	71
III.4.1 Taille des arbres et stades architecturaux de développement	71
III.4.2 Variabilité des traits foliaires entre les stades ontogénétiques	71
III.4.3 Variabilité de la plasticité des traits entre les stades architecturaux de développement	73
IV. Conclusion et perspectives	76
V. Références bibliographiques	80

Liste des abréviations

	Définition	Unité
FTH	Forêt tropicale humide	
CC	Coût de construction	
MS	Matière sèche	
PAR	Rayonnement photosynthétiquement actif	
IC	Intervalle de confiance de la moyenne au seuil de 5%	
RDPI	Indice de plasticité basé sur les distances relatives	
DPF	Flux de photons journalier	mol m ⁻² jour ⁻¹
DPF _{rel}	Flux de photons journalier relatif	% du rayonnement solaire
Croissance des plants		
H	Longueur de l'axe principal	cm
D	Diamètre à la base	cm
RGR	Croissance relative en hauteur	cm cm ⁻¹ an ⁻¹
Traits structuraux		
<u>Structure des feuilles</u>		
LMA	Masse surfacique	g m ⁻²
épaisseur	Épaisseur du limbe	µm
densité	Densité du limbe (LMA/épaisseur)	g cm ⁻³
LDMC	Masse sèche/masse fraîche de limbe	mg g ⁻¹
<u>Composition chimique des limbes</u>		
C _m	Concentration en carbone foliaire totale	mg g ⁻¹
N _m - N _a	Concentration en azote foliaire totale*	mg g ⁻¹ - mg m ⁻²
Chl _m - Chl _a	Concentration en chlorophylle foliaire totale*	µmol g ⁻¹ - µmol m ⁻²
<u>Coûts de construction</u>		
CC _{Lm} - CC _{La}	Coûts de construction du limbe*	g glucose g ⁻¹ MS - g glucose m ⁻²
CC _{Pm}	Coûts de construction du pétiole et de la nervure principale	g glucose g ⁻¹ MS
CC _{Sm}	Coûts de construction de la tige	g glucose g ⁻¹ MS
CC _{metm} - CC _{meta}	Coûts de construction du métamère*	g glucose g ⁻¹ MS - g glucose m ⁻²
N	Concentration totale en azote	%
C	Concentration totale en carbone	%
Cendres	Concentration totale en cendres	%
<u>Structure des métamères</u>		
PMA	Masse sèche du pétiole/surface de limbe déployée	g m ⁻²
SMA	Masse sèche de la tige (entrenœud)/surface de limbe déployée	g m ⁻²
MMA	Masse sèche du métamère/surface de limbe déployée	g m ⁻²

	Définition	Unité
Traits physiologiques		
<u>Capacités photosynthétiques</u>		
$V_{\text{cmaxm}} - V_{\text{cmaxa}}$	Vitesse maximale de carboxylation apparente*	$\text{nmol CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ s}^{-1} - \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
$J_{\text{maxm}} - J_{\text{maxa}}$	Vitesse maximale de transport d'électrons apparente*	$\text{nmol e}^- \text{ g}^{-1} \text{ s}^{-1} - \mu\text{mol e}^- \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
$R_{\text{dm}} - R_{\text{da}}$	Respiration (production de CO_2 autre que par la photorespiration)*	$\text{nmol g}^{-1} \text{ s}^{-1} - \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
$A_{\text{satm}} - A_{\text{sata}}$	Assimilation nette de CO_2 en lumière saturante*	$\text{nmol CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ s}^{-1} - \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
A_{estm}	Assimilation photosynthétique journalière (24H)	$\mu\text{mol CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ jours}^{-1}$
<u>Allocations d'azote</u>		
V_{cmax}/N	Investissement de l'azote dans la carboxylation (Rubisco)	$\mu\text{mol mmol}^{-1} \text{ s}^{-1}$
J_{max}/N	Investissement de l'azote dans le transport d'électrons	$\mu\text{mol mmol}^{-1} \text{ s}^{-1}$
A_{sat}/N (PNUE)	Efficience photosynthétique d'utilisation de l'azote	$\mu\text{mol mmol}^{-1} \text{ s}^{-1}$
Chl/N	Investissement de l'azote dans la chlorophylle	$\mu\text{mol mmol}^{-1}$
<u>Efficience d'utilisation de l'eau</u>		
$\delta^{13}\text{C}$	Composition isotopique foliaire de C	‰
g_s	Conductance stomatique pour la vapeur d'eau	$\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
WUE_i	Efficience intrinsèque d'utilisation de l'eau (A_{sat}/g_s)	$\mu\text{mol mol}^{-1}$
<u>Bilan de C à l'échelle de la feuille</u>		
LLS	Durée de vie des feuilles	jours
PBT	Temps de remboursement (« payback-time ») pour le limbe	jours
PBT_{met}	Temps de remboursement (« payback-time ») pour le métamère	jours
b	Temps au bout duquel l'assimilation est nulle. (LLS potentielle)	jours
L_{opt}	Durée de vie des feuilles optimale (1991)	jours
$L_{\text{opt}_{\text{met}}}$	Durée de vie des feuilles optimale (avec CC_{met})	jours

*"m" et "a" indiquent respectivement que les variables sont exprimées par unité de masse ou de surface.

Projets de Publication

Projet de Publication 1.

Irradiance-elicited plasticity of leaf traits is similar in 12 tropical rainforest tree species irrespective of their successional status. Soumis à *Tree Physiology*.

Sabrina Coste, Jean-Christophe Roggy, Gregory Sonnier et Erwin Dreyer.

Projet de Publication 2.

A cost-benefit analysis of functional leaf traits for tropical rain-forest tree species under different irradiance levels

Sabrina Coste, Jean-Christophe Roggy, Heidy Schimann, Gregory Sonnier, Daniel Epron et Erwin Dreyer.

Projet de Publication 3.

Does ontogeny modulate the irradiance-elicited plasticity of leaf traits in saplings of rain-forest tree species? A test with *Dicorynia guianensis* Amshoff and *Tachigali melinonii* (Harms) Barneby (Caesalpinaceae).

Sabrina Coste, Jean-Christophe Roggy, Laurianne Garraud, Patrick Heuret, Eric Nicolini, and Erwin Dreyer.
Soumis à *Annals of Forest Science*.

Annexes

Annexe 1. Informations supplémentaires sur l'écologie des espèces de l'étude.

Annexe 2. Estimations des teneurs en chlorophylles foliaires de 14 espèces d'arbre de forêt tropicale humide guyanaise à l'aide d'un analyseur de chlorophylles, le SPAD-502.

Annexe 3. Coste, S., J.-C. Roggy, et al. (2005). "Leaf photosynthetic traits of 14 tropical rain forest species in relation to leaf nitrogen concentration and shade tolerance." *Tree Physiology* 25: 1127-1137.

SYNTHÈSE

I. Introduction

I.1 Contexte général de l'étude

L'étude des différents caractères, ou traits, morphologiques et physiologiques permettant aux plantes de survivre dans certains environnements et pas dans d'autres, constitue une étape importante dans la compréhension des modèles de distribution et d'abondance des espèces, un objectif central en écologie (Givnish 1988). Les principales différences écologiques entre espèces de plantes vasculaires terrestres résultent de la diversité et de la variabilité des modes d'acquisition et d'utilisation de ressources communes ; la lumière, l'eau, le CO₂ et les éléments minéraux (Westoby et al. 2002). Ainsi, les traits relatifs à l'acquisition de ces ressources, que ce soit à l'échelle de la plante entière ou des feuilles, des tiges, des racines ou bien encore des graines, varient très fortement entre les espèces. L'étude des covariations entre ces traits permet ainsi de caractériser les différentes stratégies de régénération et de croissance des espèces.

Les écosystèmes forestiers tropicaux, et les forêts tropicales humides (FTH) en particulier se caractérisent par une très forte richesse spécifique et une remarquable diversité. En forêt guyanaise, plus de 1300 espèces d'arbres ont déjà été répertoriées (Ter Steege et al. 2000) et la diversité locale peut fréquemment dépasser 200 espèces à l'hectare. Cette diversité spécifique est accompagnée d'une grande variabilité des caractéristiques foliaires (Popma et al. 1992, Ellsworth and Reich 1993, Kitajima 1996, Poorter et al. 2000, Coste et al. 2005) qui serait liée à l'existence de fortes hétérogénéités spatiales et temporelles de la disponibilité des ressources nutritionnelles et énergétiques (gradient de PAR-rayonnement photosynthétiquement actif- de la canopée jusqu'au sol, humidité relative, concentration en CO₂, éléments nutritifs, Bazzaz and Pickett 1980, Favrichon 1995, Strauss-Debenedetti and Bazzaz 1996). La diversité des réponses plastiques (physiologiques et structurales) à l'hétérogénéité environnementale temporelle et spatiale est peut être un des principaux déterminants de la composition spécifique et de la structure des communautés végétales.

En FTH, la lumière constitue certainement le facteur de l'environnement qui varie le plus, tant à l'échelle spatiale que temporelle (Pearcy 1999, Rijkers et al. 2000) et qui influence le plus la morphologie, l'anatomie et la physiologie des plantes. En conséquence, c'est également le facteur limitant pour toutes les espèces de sous-bois (Bazzaz and Pickett 1980, Fetcher et al. 1983,

Rijkers et al. 2000). L'adaptation qu'exige les très faibles éclairagements dans les strates inférieures passe par le développement de stratégies diverses : modèles architecturaux convergeant vers une forme permettant une interception maximale de la lumière disponible, ajustements de la morphologie et de l'anatomie foliaire (Givnish 1988, Witkowski and Lamont 1991, Rôças et al. 1997), de la composition chimique foliaire, en azote principalement (Field and Mooney 1986, Reich et al. 1994, Anten et al. 1996, Niinemets 1997b, Niinemets 1997c, Le Roux et al. 1999) ou de l'efficacité photosynthétique d'utilisation de l'azote (Field and Mooney 1986, Rijkers et al. 2000). Dans tous les cas, la capture et la conversion de l'énergie lumineuse photosynthétique fournit aux plantes la plus grande partie de leur énergie chimique et par conséquent joue un rôle majeur dans leur capacité de compétition et de reproduction (Givnish 1988). La prise en compte de traits relatifs aux capacités photosynthétiques et à l'utilisation de N (efficacité photosynthétique d'utilisation de N) semble donc centrale pour étudier le rôle de la diversité des espèces dans le fonctionnement de l'écosystème. En d'autres termes *comprendre les déterminants structuraux et biochimiques de la diversité des caractéristiques photosynthétiques foliaires* constitue une étape importante pour caractériser les différentes stratégies de régénération et de croissance des espèces.

Dans ce contexte, nous avons cherché à décrire la diversité interspécifique d'un ensemble de traits fonctionnels pour tester d'éventuelles convergences entre combinaisons de traits et tempérament des espèces vis-à-vis de la lumière (Coste et al. 2005, Annexe 3). Une très forte diversité interspécifique avait ainsi été observée au niveau des capacités photosynthétiques comme au niveau des traits structuraux foliaires, de la teneur en azote (N) et des fractions d'azote allouées aux processus de la photosynthèse. Ces travaux ont notamment montré que les différences interspécifiques de capacités photosynthétiques observées semblaient plus liées à l'allocation de l'azote aux différentes fonctions de la photosynthèse qu'à la concentration foliaire totale en azote. Il était alors paru nécessaire de poursuivre l'étude en travaillant sous différents régimes lumineux afin (i) de compléter la gamme des phénotypes foliaires potentiels des espèces et (ii) d'obtenir des informations sur la plasticité phénotypique des traits ainsi que sur la diversité de cette plasticité phénotypique. De plus, malgré la forte diversité observée entre espèces, les traits étudiés ne permettaient pas à eux seuls, d'identifier des groupes fonctionnels dans la gamme d'espèces échantillonnées (Coste et al. 2005). Il semble donc important d'identifier les traits fonctionnels foliaires qui permettent et favorisent la croissance et la survie des espèces à l'ombre.

De nombreux auteurs ont fréquemment évoqué l'existence de compromis entre la survie et la croissance des semis pour l'acquisition et l'allocation du carbone à l'échelle de la feuille et de la

plante entière (Messier et al. 1999, Walters and Reich 1999). Ainsi, dans des milieux peu éclairés, une croissance rapide peut impliquer une faible capacité de survie à long terme (Walters et al. 1993, Kitajima 1994). A l'échelle de la feuille on sait par exemple qu'il existe un compromis entre l'investissement de l'azote foliaire dans la photosynthèse ou dans des composés permettant d'allonger la durée de vie des feuilles (Reich et al. 1991a, Reich et al. 1997). Une analyse de type coûts/bénéfices des différentes composantes du bilan de carbone à l'échelle de la vie de la feuille permettrait sans doute de mieux comprendre les déterminants écophysiologicals de la tolérance à l'ombre. Pour cela, nous nous sommes plus particulièrement intéressés aux covariations et compromis entre les coûts de construction nécessaires au déploiement de la surface assimilatrice, l'assimilation nette journalière, le temps de retour sur investissement et la durée de vie des feuilles.

Ce document est construit sous la forme d'une synthèse de nos résultats, et de 3 projets de publications scientifiques présentés à la fin du document. L'ensemble de l'étude est centré sur les feuilles, en tant qu'organes d'acquisition du carbone. La première étape de notre démarche a donc été de caractériser la variabilité interspécifique de traits foliaires relatifs à la photosynthèse (Projets de publications 1 et 2). Dans un deuxième temps la variabilité des traits en réponse à l'éclairement relatif (plasticité phénotypique) ainsi que la diversité de cette plasticité phénotypique ont été décrites (Projets de publications 1, 2 et 3 ; la question de la diversité de la plasticité est cependant plus développée dans le projet de publication 1). Enfin, des mesures ont également été réalisées sur le terrain afin d'observer *in situ* l'interaction des effets liés à l'ontogénèse et à l'éclairement relatif sur les traits foliaires étudiés (Projet de publication 3).

I.2 Éléments bibliographiques

I.2.1 Les traits fonctionnels foliaires

Définitions

Il existe une littérature abondante et détaillée sur les traits importants et pertinents d'un point de vue fonctionnel (Diaz and Cabido 2001, Lavorel and Garnier 2002, Westoby et al. 2002, Wright et al. 2005a, Petchey and Gaston 2006). Afin d'éviter toute ambiguïté, il semble nécessaire de définir la notion de « trait fonctionnel » telle qu'elle est utilisée dans cette étude (Violle et al. 2007). Le terme de trait est ainsi employé pour décrire n'importe quel caractère morphologique, physiologique ou phénologique mesurable au niveau de l'individu, sans tenir compte de l'environnement ou un autre niveau d'organisation (Violle et al. 2007). L'expression trait

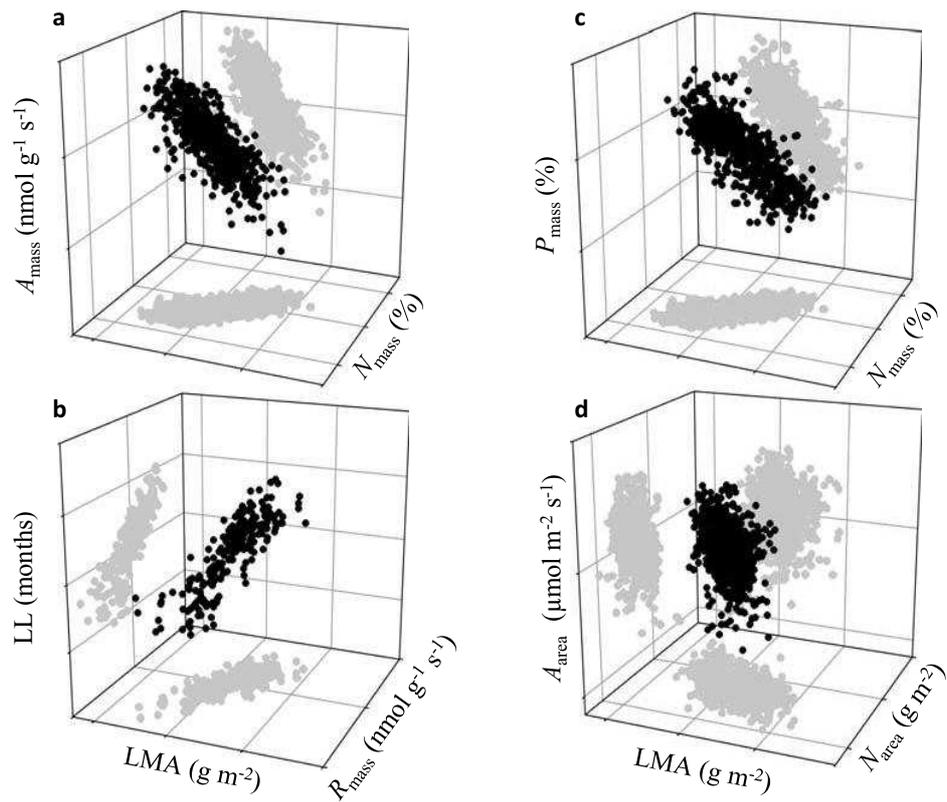


Figure 1. Relations entre cinq traits foliaires en fonction de LMA , présentées dans un plan en 3 dimensions. Les ombres projetées sur les plans du fond et du bas permettent de visualiser la direction des nuages de points. Les tailles des échantillons pour les relations sont: **a**, A_{mass} , LMA and N_{mass} ; 706 espèces. **b**, LL, R_{mass} and LMA ; 217 espèces. **c**, N_{mass} , P_{mass} and LMA ; 733 espèces. **d**, A_{area} , LMA and N_{area} ; 706 espèces. D'après Wright, Reich et al. (2004).

fonctionnel, dans sa définition la plus large, se réfère à des traits directement ou indirectement reliés à une fonction. Cependant la difficulté de convenir de la signification réelle de la notion de « fonction » complique considérablement cette définition. Dans le cadre d'études écophysiologiques, comme c'est le cas ici, la définition de fonction peut être restreinte à tout flux de matière ou d'énergie (acquisition du carbone ou des nutriments) (Vile 2005, Violle et al. 2007). Violle et al. (2007) définissent ainsi comme trait fonctionnel tout trait qui, via ses effets sur la croissance, la reproduction ou la survie influe indirectement sur la performance de l'individu ou de la population. L'ensemble des valeurs (présence et abondance relatives de certaines valeurs de traits) et la gamme (différence entre les valeurs extrêmes) des traits fonctionnels des organismes présents dans un écosystème donné est appelé diversité fonctionnelle (Diaz and Cabido 2001).

Diversité interspécifique des traits fonctionnels foliaires

Depuis les 20 dernières années, de très nombreux auteurs se sont intéressés à la diversité des traits fonctionnels foliaires (Field and Mooney 1986, Evans 1989b, Williams et al. 1989, Eschenbach et al. 1998, Reich et al. 1998, Niinemets 1999a, Cavender-Bares and Bazzaz 2000, Adams III et al. 2001, Wright and Westoby 2001, Poorter and Bongers 2006, Warren and Adams 2006, Bonal et al. 2007). Les observations récurrentes de co-variations entre traits (Reich et al. 1991b, Reich and Walters 1994, Reich et al. 1994, Reich et al. 1995, Reich et al. 1997, Reich et al. 1999, Wright and Westoby 2002, Reich et al. 2003, Wright and Westoby 2003, Wright et al. 2005b) ont ainsi permis, plus récemment, la définition d'un schéma universel de gestion des ressources (Wright et al. 2004). Ce schéma, élaboré à partir de données sur 2548 espèces réparties entre différents biomes (de l'Arctique aux tropiques), repose sur l'existence de compromis associés à des contraintes structurales et fonctionnelles (Shipley et al. 2006). Plus concrètement, la coordination de 6 traits foliaires (la masse surfacique, LMA ; la durée de vie, LLS ; la teneur en N, N_m ; l'assimilation nette en lumière saturante, $A_{sat,m}$; la respiration, R_d ; et la concentration en phosphore, P_m ; **Figure 1**) a permis de mettre en évidence l'existence d'un compromis entre une acquisition rapide des ressources (fort N_m , P_m , $A_{sat,m}$, R_d,m , et faible LMA et LLS) et une utilisation parcimonieuse des nutriments (longue LLS , fort LMA et faible N_m , P_m , $A_{sat,m}$, R_d,m).

La forte corrélation entre LMA et LLS , très largement discutée par Westoby et al. (2002) suggère notamment qu'une longue durée de vie nécessite une résistance accrue des structures (Coley 1988, Wright and Cannon 2001). En théorie, une longue durée de vie augmente la probabilité de dommages liés à l'usure ou à des attaques herbivores et nécessite par conséquent un investissement supplémentaire dans les structures et les composés de défense. Il a été observé

qu'une longue *LLS* pouvait être corrélée avec une forte concentration en tanins, phénols ou d'autres composés de défense (Coley 1988). On s'attend ainsi, à ce que ces feuilles soient plus denses, avec de forts *LMA*, plus riches en composés carbonés et donc plus coûteuses à construire. Cependant il est important de rappeler que les feuilles les plus denses ne sont pas systématiquement les feuilles avec de plus fort *LMA* (Witkowski and Lamont 1991). L'existence d'un compromis a également été évoqué entre investissement de l'azote dans des composés de défense et dans la machinerie photosynthétique (Cunningham et al. 1999). On a effectivement observé que généralement les espèces avec de longues *LLS* (et donc des structures de défense probablement plus importantes) présentent également de plus faibles efficacités photosynthétiques d'utilisation de l'azote (*PNUE*) (Reich et al. 1992, Wright et al. 2005a). On considère également qu'une durée de vie plus longue permet de maximiser le gain de carbone dans la durée lorsque les capacités photosynthétiques foliaires sont faibles. Quoiqu'il en soit, il existe une variabilité significative de l'efficacité photosynthétique d'utilisation de l'azote (Pons and Pearcy 1994, Poorter and Evans 1998, Coste et al. 2005), et ce en dépit de la forte corrélation entre azote foliaire et capacité photosynthétique (Reich and Walters 1994, Reich et al. 1994, Reich et al. 1999).

Plasticité phénotypique

On appelle plasticité phénotypique la capacité pour un génotype donné d'exprimer différentes valeurs phénotypiques pour un trait donné (morphologique ou physiologique) en réponse à différentes conditions environnementales (Bradshaw 1965, Schlichting 1986, Sultan 1987, Sultan 2000). Les plantes peuvent présenter des réponses plastiques à une très large gamme de conditions environnementales incluant les variations abiotiques de l'environnement, les perturbations, l'herbivorie, le parasitisme, les relations mutualistes et la présence (ou l'absence) ainsi que l'identité des espèces voisines (Callaway et al. 2003). De nombreuses études ont montré que les plantes pouvaient présenter de la plasticité pour un grand nombre de traits importants d'un point de vue écologique, que ce soit des traits morphologiques, physiologiques, anatomiques ou bien des traits relatifs au développement et la reproduction des individus (Sultan 2000). On considère que la plasticité phénotypique constitue un avantage si l'environnement est variable, si les signaux environnementaux sont fiables et permettent à un individu d'exprimer le phénotype approprié dans chaque environnement et si les phénotypes spécialisés sont coûteux lorsque inappropriés (Callaway et al. 2003). Puisque dans les environnements hétérogènes la plasticité est considérée comme un avantage pour la croissance et la survie des individus (Bradshaw 1965, Rice and Bazzaz 1989), on attribue généralement aux individus d'espèces pionnières (début de

succession) une forte plasticité phénotypique, en réponse à la disponibilité en lumière principalement (Popma et al. 1992, Valladares et al. 2000). Dans le cadre de cette étude nous nous sommes focalisés sur la plasticité phénotypique en réponse à l'éclairement relatif, en considérant que ce facteur était très certainement le plus limitant pour les espèces en régénération sous les canopées forestières (Bazzaz and Pickett 1980, Fetcher et al. 1983).

- Feuilles d'ombre et feuilles de lumière

Les effets de la disponibilité en lumière sur les traits foliaires ont fait l'objet de très nombreuses études depuis plus de 30 ans (Boardman 1977, Bazzaz and Carlson 1982, Sims and Pearcy 1994, Niinemets et al. 1998, Valladares et al. 2000, Rozendaal et al. 2006). De manière générale, les feuilles d'ombre sont plus fines, moins denses et possèdent donc une masse surfacique (LMA , $g\ m^{-2}$) plus faible que les feuilles de lumière (Givnish 1988, Kitajima 1994, Poorter et al. 2000, Valladares et al. 2000, Rozendaal et al. 2006). Ces ajustements structuraux sont en partie dus au développement plus important du parenchyme palissadique, entraînant alors une augmentation du nombre de chloroplastes, et par là même, de la quantité d'enzymes photosynthétiques. Ainsi, sous fort éclairement, l'assimilation nette de CO_2 en lumière saturante (A_{sat} , $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$), ainsi que la respiration (R_d , $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$) sont plus importantes qu'à l'ombre (Givnish 1988, Rijkers et al. 2000). Parallèlement, l'allocation relative de l'azote foliaire entre les différents processus de la photosynthèse peut être modifiée par l'éclairement relatif (Boardman 1977, Evans and Seemann 1989, Evans and Poorter 2001) de façon à maximiser l'assimilation photosynthétique (Evans 1989a, Hikosaka and Terashima 1996, Hikosaka et al. 1998, Niinemets et al. 1998). Comparativement aux traits structuraux, on sait peu de choses sur la variabilité de la composition chimique des feuilles. Ainsi, si par exemple il est généralement admis que la concentration en chlorophylle foliaire (Chl_m , $g\ g^{-1}$) augmente à l'ombre (Poorter et al. 1995, Rijkers et al. 2000), la plasticité des coûts de construction foliaires (CC_m , $g\ glucose\ g^{-1}$) reste peu connue. La plupart des études décrivent une augmentation de CC_m des limbes avec la lumière (Williams et al. 1989, Baruch et al. 2000, Poorter et al. 2006a mais voir Sims and Pearcy 1994). En réalité, il semble qu'aucune règle n'ait été clairement établie et que la disponibilité en lumière n'affecte pas toutes les espèces de la même manière (e.g. Niinemets 1999b, Barthod and Epron 2005). Par conséquent, bien qu'il soit connu que la durée de vie des feuilles (LLS , jours) augmente à l'ombre (Miyajy et al. 1997, Reich et al. 2004, Vincent 2006) l'influence de l'éclairement relatif sur le bilan de carbone à l'échelle de la feuille reste relativement mal connue.

- Diversité interspécifique de la plasticité phénotypique

L'éclairement n'affecte pas forcément toutes les espèces de la même manière et il existe de fortes interactions espèce x éclairement. En d'autres termes, le sens ainsi que l'amplitude de l'effet du facteur peuvent varier d'une espèce à l'autre. Le classement des espèces pour un trait donné peut ainsi être modifié d'un environnement à l'autre. A ce jour, il existe relativement peu d'études permettant d'appréhender la diversité spécifique de la plasticité phénotypique sur un nombre suffisant de traits et d'espèces (Valladares et al. 2000, Bloor and Grubb 2004, Rozendaal et al. 2006). Valladares et al. (2000) ont montré que la plasticité différait fortement entre traits et entre espèces de FTH. Ces mêmes auteurs ont observé que les traits physiologiques étaient plus plastiques que les traits morphologiques. Cette hypothèse n'a pas été confirmée dans une récente étude portant sur 16 traits et 38 espèces d'arbres tropicaux (Rozendaal et al. 2006). De nombreux travaux ont cherché à relier tempéraments vis-à-vis de la lumière, ou stades de succession, et plasticité phénotypique. Il n'existe à ce jour aucun consensus sur le sujet, et on a ainsi observé que les espèces pionnières pouvaient présenter une plasticité plus importante (Strauss-Debenedetti and Bazzaz 1991, Strauss-Debenedetti and Bazzaz 1996), comparable (Sims and Pearcy 1989, Kitajima 1994) et plus faible (Popma et al. 1992) que les espèces tolérantes à l'ombre.

- Estimation de la plasticité phénotypique

La comparaison interspécifique de la plasticité phénotypique nécessite une étape importante de quantification des changements phénotypiques induits par l'environnement (Valladares et al. 2006). Le choix d'un indice approprié peut faciliter la présentation et l'interprétation de résultats complexes et l'utilisation du même indice par des investigateurs différents facilite les comparaisons entre études (Weigelt and Jolliffe 2003). Intuitivement, l'approche la plus logique serait la comparaison des fonctions de réponse. La fréquente non linéarité des réponses (Valladares et al. 2006) rend cependant l'approche très simple de comparaison de pentes peu fiable; cette remarque souligne la difficulté d'interpréter des études de caractérisation de plasticité ne prenant en compte que deux environnements. Paradoxalement, la recherche d'un estimateur simple a engendré l'apparition d'une surabondance d'indices (e.g. Valladares et al. 2000, Navas and Garnier 2002, Rozendaal et al. 2006, Valladares et al. 2006). Récemment, Valladares et al. (2006) ont réalisé une synthèse ne détaillant pas moins de 17 estimateurs quantitatifs utilisés dans la littérature ; illustrant ainsi la difficulté de mettre au point un estimateur approprié. L'un des principaux défauts de ces multiples indices est qu'ils ne permettent pas de comparaison statistique

des espèces. Dans cette même publication, les auteurs proposent eux-mêmes un nouvel indice basé sur les distances phénotypiques entre individus d'une même espèce soumis à des environnements différents (RDPI, Relative Distance Plasticity Index). Du fait des avantages qu'il procure d'un point de vue statistique, c'est cet indice (RDPI) que nous avons choisi d'utiliser dans le cadre de cette étude.

Variabilité intraspécifique liée à l'ontogénèse

Au cours de l'ontogénèse, l'arbre (et les structures qu'il porte) vieillit, mais il augmente également en taille et en complexité. Les traits fonctionnels, que ce soit à l'échelle de la feuille ou de la plante entière varient avec la taille et l'âge des arbres (Hoflacher and Bauer 1982, Niinemets and Kull 1995, Rijkers et al. 2000, Mediavilla and Escudero 2003). On sait notamment que la hauteur totale a un impact sur les traits structuraux et physiologiques foliaires (Niinemets 1997b, Rijkers et al. 2000, Niinemets 2002, Delzon et al. 2004, Delzon et al. 2005). Ainsi par exemple, il a déjà été montré, pour quatre espèces de FTH guyanaise (dont une en commun avec cette étude) que le LMA , la concentration en azote (N_a) et en chlorophylle (Chl_m) et l'assimilation nette en lumière saturante exprimée par unité de surface ($A_{sat,a}$, $\mu\text{mol}_{\text{CO}_2} \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) augmentaient avec la hauteur tandis que N_m , l'assimilation nette exprimée par unité de masse ($A_{sat,m}$, $\text{nmol}_{\text{CO}_2} \text{ g}^{-1} \text{ s}^{-1}$) et l'efficacité d'utilisation de l'azote ($PNUE$) ne variaient pas (Rijkers et al. 2000). Niinemets (2002) a également observé une forte diminution de l'activité apparente de la Rubisco ($V_{cmax,m}$) avec l'âge mais surtout avec la taille de *Picea abies* et de *Pinus sylvestris*, et ce, en dépit de la constance de N_m . Une telle diminution est la conséquence de changements morphologiques (modification des LMA et densités) *via* une augmentation des résistances à la diffusion du CO_2 à l'intérieur du limbe, conséquence des adaptations morphologiques.

Comme nous venons de le voir dans le paragraphe précédent, l'éclaircissement peut fortement modifier les traits foliaires mais on sait peu de choses sur la modulation de la plasticité phénotypique par l'ontogénèse. Beaucoup d'auteurs ont souligné que comme les traits varient au cours de la croissance et du développement des plants, il est nécessaire de comparer les individus à un stade de développement donné (i.e. à une taille ou un âge similaire) pour identifier les variations induites par l'environnement (Evans 1972, Veneklaas and Poorter 1988, Coleman et al. 1994, Poorter 1999, Wright and McConnaughay 2002, Poorter et al. 2006b). Cependant les vitesses de croissance et de développement sont également plastiques et Wright et al. (2002) insistent sur la nécessité de distinguer la « plasticité passive » (variation d'un trait en conséquence de variations de la croissance induite par l'environnement) de la « plasticité ontogénétique »

(variation de la trajectoire ontogénétique des traits induite par l'environnement). Les individus poussant sous des climats lumineux contrastés possèdent en général des croissances relatives différentes et en conséquence atteignent des tailles différentes pour des âges similaires. La plasticité des traits peut ainsi être confondue avec les changements ontogénétiques (Veneklaas and Poorter 1988). De récents travaux ont justement souligné que les variations ontogénétiques des traits foliaires pouvaient jouer un rôle majeur dans la compréhension de la tolérance à l'ombre (McConnaughay and Coleman 1999, Niinemets 2006, Lusk and Warton 2007).

La plupart des études, cherchant à tester d'éventuels effets de l'âge, ou de la dimension sur les caractéristiques foliaires, se sont concentrées sur des comparaisons entre semis (ou très jeunes arbres) et arbres adultes sans faire de distinction entre les stades intermédiaires de croissance (Cavender-Bares and Bazzaz 2000, Thomas and Winner 2002, Cornelissen et al. 2003a, Mediavilla and Escudero 2003, Holscher 2004, Mediavilla and Escudero 2004). Ainsi, dans une méta-analyse réalisée sur des semis et des arbres adultes de 35 espèces (7 conifères, 7 espèces tempérées et 21 arbres tropicaux), Thomas et Winner (2002) ont montré que A_{sat} était plus élevé chez les arbres que chez les semis, et ce, tout particulièrement chez les espèces tempérées à feuilles caduques. L'augmentation ontogénétique de LMA (Thomas and Winner 2002, Mediavilla and Escudero 2003, Roggy et al. 2005) peut conduire à une diminution de A_{sat} (Thomas and Winner 2002), ce qui confirme les observations de Niinemets (2002) décrites précédemment. Les semis auraient également de plus fortes conductances stomatiques, associées à de fortes $PNUE$ et de faibles efficacités d'utilisation de l'eau (WUE_e) que les arbres adultes (Mediavilla and Escudero 2003). Outre les effets taille et âge, les différences ontogénétiques ainsi observées peuvent également avoir pour origine les différences de la structure et de l'architecture des arbres. En d'autres termes, l'augmentation de la complexité de la structure au cours de la croissance de l'arbre, par l'apparition de la ramification, la mise en place de la couronne ou encore l'apparition de la floraison, peut avoir des conséquences physiologiques importantes. La liste des modifications engendrées par cette complexité croissante est longue; une des plus évidentes est sans doute que l'augmentation des dimensions est associée à une augmentation des distances pour le transport de l'eau et des nutriments. On notera également que l'augmentation de la taille d'un arbre résulte également en une augmentation des coûts des structures mécaniques de support. Enfin l'apparition de la ramification, en augmentant le nombre total de feuilles va très fortement augmenter l'auto ombrage et à long terme créer un microenvironnement au sein de la couronne. La succession chronologique de stades architecturaux de développement clés (ASD) a été identifiée à partir du degré de complexité de la structure et/ou de l'expression de processus

comme la ramification, la répétition ou la floraison (Barthelemy and Caraglio 2007). La comparaison de ces stades peut ainsi constituer un premier pas dans l'étude des effets de l'ontogénèse sur les performances des espèces.

I.2.2 Acquisition du carbone

Les relations photosynthèse-azote dans les plantes

La photosynthèse fournit à la plante les matériaux carbonés nécessaires à la formation de nouvelles structures, au maintien des structures existantes et à la production de métabolites secondaires. De manière synthétique, l'assimilation photosynthétique du CO₂ conduit à la formation des premières molécules organiques carbonées dans les chloroplastes, les phosphoglycérates (pour les plantes C₃), rapidement réduits en trioses phosphates. Une partie des trioses est utilisée dans le cycle de Calvin pour régénérer le Ribulose BisPhosphate (RuBP) tandis que l'autre partie est exportée vers le cytoplasme permettant simultanément une entrée des ions phosphates dans le stroma chloroplastique (**Figure 2**). Le carbone transporté vers le cytosol sert à la synthèse de sucres solubles (glucose, fructose, saccharose...). Sous la forme de ces sucres, le C assimilé au cours de la photosynthèse est ensuite exporté depuis les feuilles vers les racines et les parties aériennes n'ayant pas encore atteint leur autotrophie (Frak 2002).

Parce que d'une manière générale plus de 50% de l'azote foliaire total peut être investi dans l'ensemble de la machinerie photosynthétique (carboxylation, transfert d'électrons et interception de la lumière, **Figure 3**) (Evans and Seemann 1989) de nombreuses études se sont intéressées aux relations N–photosynthèse (Field and Mooney 1986, Entry et al. 1991, Reich and Walters 1994, Reich et al. 1994, Hikosaka and Terashima 1996, Coste et al. 2005). Il faut savoir que tous les processus biochimiques, ainsi que la formation des structures, au niveau cellulaire comme à l'échelle de l'individu, font intervenir N sous des formes organiques plus ou moins complexes (protéines, acides aminés...). Les végétaux puisent cet élément essentiellement dans le sol, où il est présent sous des formes minérales assimilables (ions nitrates NO₃⁻ ou ammonium NH₄⁺). La distribution de N entre zones en croissance ou déjà développées s'accompagne d'un recyclage de N sous la forme de protéolyse des protéines (Frak 2002). La quantité d'N allouée vers les feuilles et investie dans la machinerie photosynthétique a un impact sur la quantité de C fixée par la photosynthèse comme en témoigne la forte relation observée entre la photosynthèse et N totale foliaire (Field and Mooney 1986, Wright et al. 2004). Cette corrélation peut s'expliquer par le fait que de nombreuses structures et molécules intervenant dans la photosynthèse, comme les

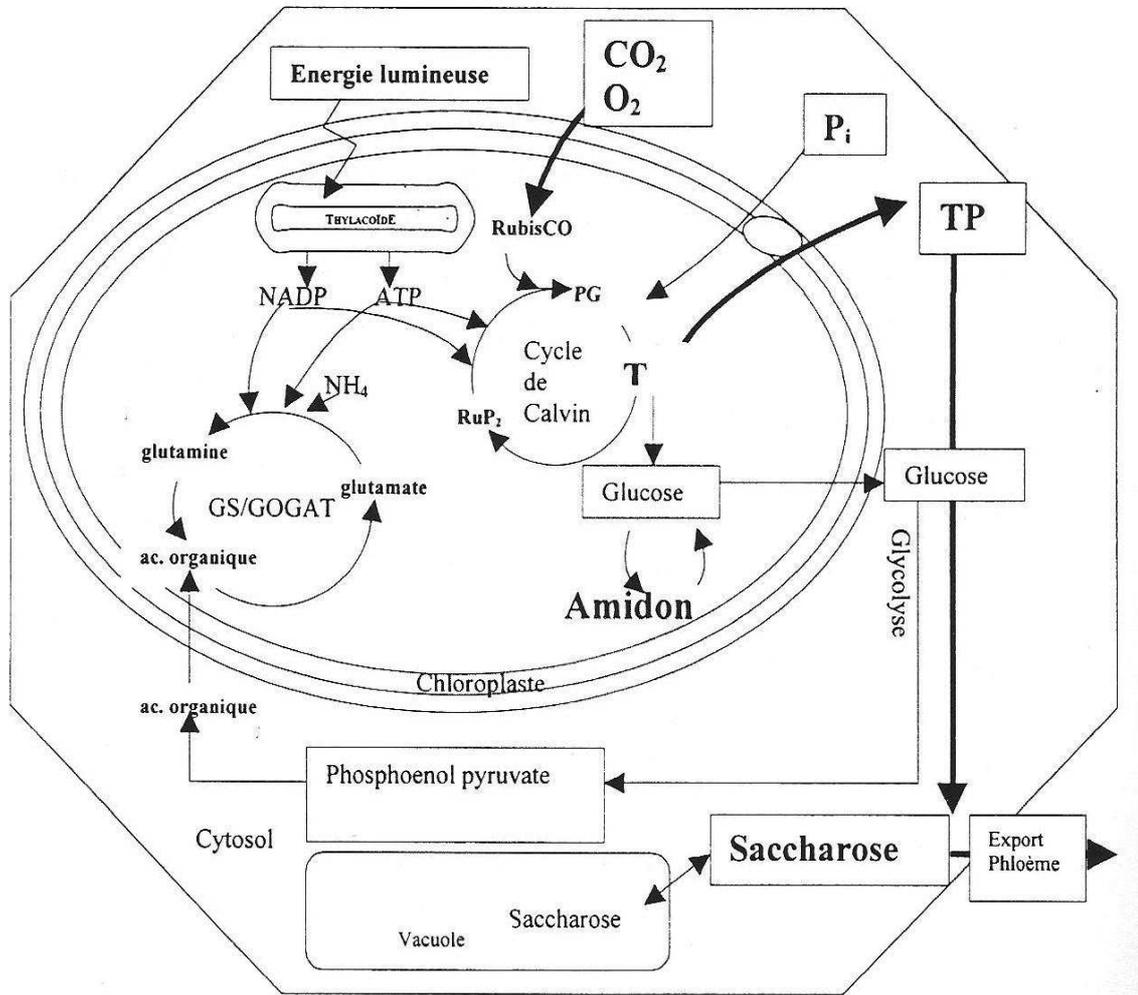


Figure 2. Représentation schématique du métabolisme carboné foliaire à l'échelle cellulaire. Les différents symboles du cycle de Calvin sont : PG, phosphoglycerates ; Pi, phosphate inorganique ; TP, trioses phosphates et RuP2, ribulose bis-phosphate. D'après Frak (2002).

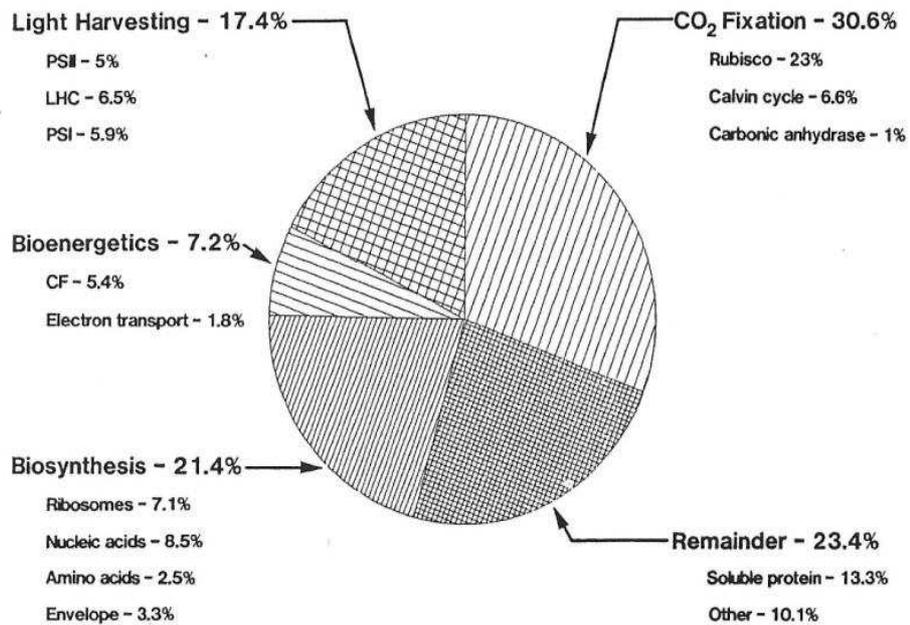


Figure 3. Allocation de l'azote aux protéines d'une feuille de lumière typique des plantes en C3. « Light harvesting » et « bioénergétiques » représentent respectivement les fractions d'azote investies dans les fonctions photosynthétiques d'interception de l'énergie lumineuse et de transfert d'électrons ; « CO₂ fixation » représente la fraction d'azote investie dans les protéines solubles impliquées dans la carboxylation. D'après Evans et Seemann (1989)

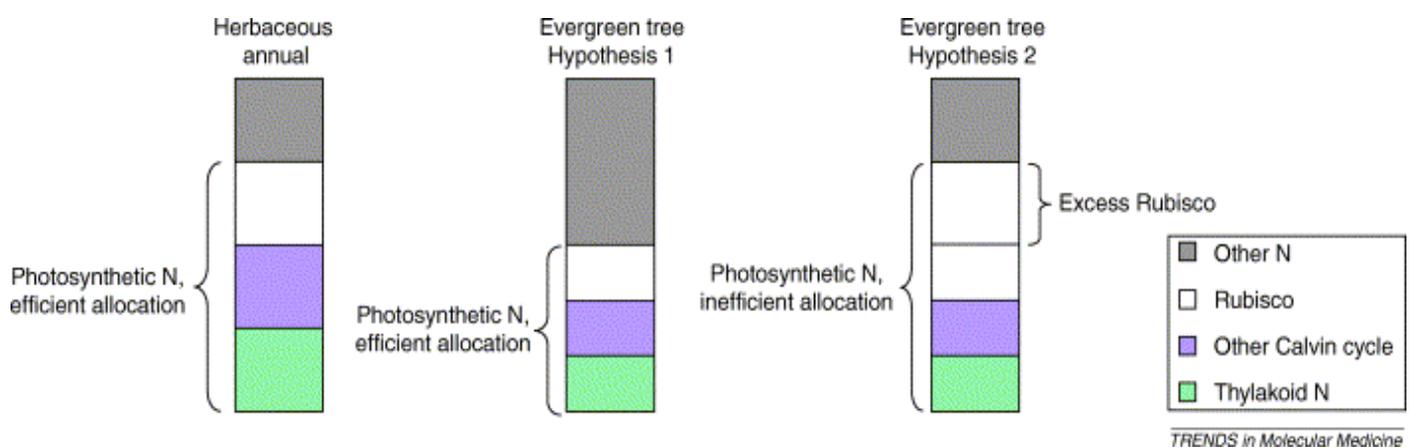


Figure 4. Hypothèses relatives aux allocations de l'azote foliaire entre différents composés chez les herbacées annuelles, et les espèces d'arbres dites "evergreen". Chez les herbacées annuelles, 75% de l'N est alloué à la machinerie photosynthétique. L'N photosynthétique est alloué de manière efficiente, avec un tiers investi dans les protéines des thylakoïdes, un tiers dans la Rubisco et un tiers dans les autres protéines du cycle de Calvin. Il existe deux possibilités pour que la faible efficacité photosynthétique d'utilisation de l'N des "evergreen" résulte de différences dans l'allocation de l'N. Les espèces d'arbres "evergreen" peuvent allouer moins d'azote aux processus de la photosynthèse (hypothèse 1) ou ils peuvent allouer la même quantité d'N aux processus de la photosynthèse mais de façon non-efficiente (hypothèse 2). On notera que dans cette hypothèse, les arbres possèdent un excès de Rubisco qui ne participe pas à la photosynthèse. D'après Warren et Adams (2004).

complexes protéiques membranaires et les enzymes -en particulier la RuBisCO, Ribulose Bisphosphate Carboxylase Oxygénase, qui peut représenter jusqu'à 80% des protéines foliaires solubles (Seemann et al. 1987, Warren et al. 2000)- sont riches en N. Les constituants protéiques foliaires sont constamment soumis à des processus de dégradation et de synthèse. L'assimilation de N et la formation des premiers acides aminés dans le chloroplaste au cours de la photosynthèse permettent la synthèse de nouvelles protéines directement au niveau de leur lieu d'action et renforce ainsi le couplage fonctionnel C et N au niveau foliaire (Frak 2002).

Capacité photosynthétique et allocation d'azote

La capacité photosynthétique est le reflet de l'investissement biochimique de la plante dans la machinerie photosynthétique foliaire, et par conséquent constitue un trait potentiellement plastique. La capacité photosynthétique foliaire a été estimée à l'aide d'un modèle mécaniste en régime permanent (Farquhar et al. 1980). Ce modèle fonctionnel et puissant permet de caractériser plus finement les capacités photosynthétiques que l'assimilation nette maximale de CO₂ en lumière saturante (A_{sat}). Il permet d'estimer *in vivo* les performances apparentes de la Rubisco et de la chaîne de transport d'électrons, avec deux paramètres clés : la vitesse maximale de carboxylation (V_{cmax} , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) et le flux maximal d'électrons photosynthétique (J_{max} , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

En dépit de la forte corrélation entre N et les capacités photosynthétiques, il existe une variabilité significative de l'efficacité photosynthétique d'utilisation de l'azote (*PNUE*) (Pons and Pearcy 1994, Poorter and Evans 1998, Wright et al. 2005a). Niinemets et Tenhunen (1997) ont proposé un modèle pour quantifier l'allocation relative de N foliaire aux processus de carboxylation (essentiellement la Rubisco), de la bioénergétique et de l'interception de la lumière, à partir de mesures de N et de V_{cmax} et J_{max} . Le calcul de ces allocations relatives, repose cependant sur un ensemble d'hypothèses : (i) l'activité spécifique de la Rubisco ne varie pas entre espèces et (ii) toute la Rubisco présente dans la feuille est activée, ce qui, on le sait n'est très certainement pas le cas (Warren et al. 2003, Warren and Adams 2004) (**Figure 4**). Pour ces raisons, bien que nous ayons utilisé cette procédure d'estimation au cours d'une précédente étude (Coste et al. 2005), nous avons estimé que les rapports V_{cmax}/N , J_{max}/N et A_{sat}/N (plus communément noté *PNUE*) constituaient des estimateurs plus fiables de l'investissement d'azote foliaire dans la machinerie photosynthétique. L'investissement de N dans l'interception de la lumière a été estimé à l'aide du rapport Chl/N. L'existence d'un compromis entre investissement de N dans la photosynthèse et dans les structures et composés de défense (notamment au niveau des protéines des parois

cellulaires, Onoda et al. 2004) a fréquemment été évoqué pour expliquer la forte variabilité interspécifique de *PNUE*, particulièrement dans des espèces tropicales (Coste et al. 2005). D'un point de vue mécaniste, la variabilité des relations photosynthèse-*N*, inclut les limitations biochimiques comme la quantité et l'activité de la machinerie photosynthétique et les limitations de la diffusion du CO₂ depuis l'atmosphère jusqu'au site de carboxylation. Ainsi, Warren et Adams (2004) proposent également une explication pour les faibles valeurs de *PNUE* observées chez les espèces d'arbres au feuillage persistant (Reich et al. 1998, Takashima et al. 2004). Une première explication serait que ces espèces allouent tout simplement moins de N à la machinerie photosynthétique (**Figure 4**, hypothèse 1). Une explication alternative, n'excluant en aucun cas la première, serait que l'allocation de N aux processus de la photosynthèse ne serait pas efficiente (**Figure 4**, hypothèse 2). Ces mêmes auteurs ont en effet montré que les feuilles de certaines espèces au feuillage persistant, contenaient plus de Rubisco que ne l'exigent les taux de photosynthèse mesurés (Warren et al. 2000, Warren et al. 2003). Dans le cadre de cette étude, les dosages de Rubisco initialement prévus, n'ont pas pu être réalisés et nous sommes bien conscients que le rapport V_{max}/N ne constitue qu'une estimation de la fraction apparente de N investi dans la Rubisco (i.e. elle ne représente que la fraction d'N investie dans la quantité de Rubisco activable).

Analyses coût-bénéfices pour les feuilles

La durée de vie des feuilles varie très fortement entre les différents types biologiques et les espèces, pouvant aller de quelques semaines à plus de 25 ans chez *Araucaria* (Chabot and Hicks 1982). Cette diversité a généré l'apparition d'une classification des cycles de vie foliaire allant entre autre du cas particulier des espèces éphémères (les feuilles ne sont maintenues qu'une courte période au cours de la saison de végétation) aux espèces dites sempervirentes (les cohortes de feuilles sont maintenues plus d'un an) (Chabot and Hicks 1982). De nombreuses hypothèses ont été proposées pour expliquer ces différents modèles de durée de vie des feuilles. Chabot et Hicks (1982) présentent la synthèse de 11 d'entre elles. Une des approches possibles est de considérer la feuille comme un organe de fixation du C. On parle généralement d'approches ou d'analyses coûts-bénéfices de la durée des feuilles (Chabot and Hicks 1982, Sobrado 1991, Eamus 1999, Ellis et al. 2000, Eamus and Prior 2001).

L'analyse coût-bénéfice de la croissance est une méthode de quantification et de comparaison des dépenses et des bénéfices de structures diverses ou des mécanismes employés (Eamus and Prichard 1998). Pour une plante, la production d'une feuille représente un investissement ; d'un

côté la construction puis la maintenance d'une feuille entraîne des coûts, de l'autre le C fixé par la photosynthèse foliaire constitue un bénéfice. Ce type d'analyse a essentiellement été réalisé pour comparer les espèces à feuilles caduques et persistantes (Kikuzawa 1991, Sobrado 1991, Williams-Linera 2000, Givnish 2002, Villar et al. 2006). On peut aisément supposer *a priori* qu'une feuille doit générer pour la plante un gain supérieur aux coûts de sa construction et de sa maintenance (Eamus and Prior 2001). Pour analyser les coûts et les bénéfices à l'échelle de la feuille, les coûts de construction (la quantité de glucose nécessaire pour synthétiser 1g de biomasse, Penning De Vries et al. 1974) et de maintenance sont comparés avec les bénéfices cumulés pour la plante en termes de C fixé. En théorie, les feuilles avec une durée de vie plus longues devraient contenir plus de composés et de structures de défense et donc avoir des coûts de construction (CC , g glucose g^{-1}) plus élevés pour diminuer le risque d'attaque par des herbivores (Eamus 1999). À l'inverse les feuilles avec de courtes durées de vie, devraient être moins coûteuses à construire et avoir des temps de retour sur investissement (« payback-time », estimé comme le rapport des CC sur l'assimilation, Williams et al. 1989) plus courts (Eamus 1999). En général, plus que les CC , c'est le PBT qui est corrélé à la durée de vie des feuilles (Chabot and Hicks 1982, Williams et al. 1989, Poorter 1994). Williams et al. (1989) ont mentionné l'existence d'un PBT supérieur à 3000 jours, alors que la longévité maximale mesurée était de 800 jours, mais de façon plus générale le PBT est nettement inférieur (de l'ordre de la moitié) à la durée de vie des feuilles (Poorter et al. 2006a). Si l'on définit la tolérance à l'ombrage comme la capacité de survivre à faible éclairage, cela implique la capacité de maintenir un bilan de C positif sous faible éclairage. Ainsi, les espèces tolérantes devraient être capables d'optimiser le rapport coût/bénéfice en dépit du faible éclairage, soit en limitant les coûts nécessaires au déploiement de la surface assimilatrice, soit en maximisant la durée de vie de cette surface.

Kikuzawa (1991, 1995) a proposé un modèle de type "coût/bénéfice" dans lequel une durée de vie optimale (L_{opt} , jours) est estimée à partir de l'assimilation nette des feuilles jeunes matures, du coût de construction (CC , g glucoses g^{-1}) de ces feuilles et de la diminution de la photosynthèse avec l'âge de la feuille. Dans ce modèle, un arbre remplace ses feuilles pour maximiser son gain de C. La théorie de Kikuzawa (1991, 1995) au sujet de la durée de vie des feuilles, peut être comprise par la courbe du retour cumulatif, exprimée par le gain net de matière sèche, sur l'investissement (**Figure 5**). Le bilan cumulé est initialement négatif, dû au coût de construction de la feuille, et augmente ensuite avec sa durée de vie. Le postulat de départ de Kikuzawa est qu'un arbre ne peut retenir qu'un nombre limité de feuilles en même temps. Le remplacement d'une feuille âgée par une nouvelle feuille ne devient justifié que lorsque les

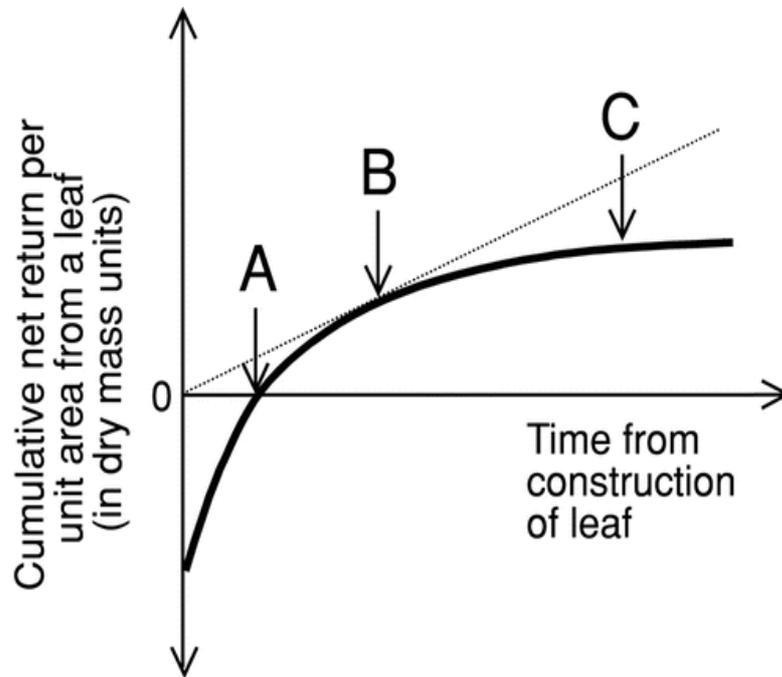


Figure 5. Représentation schématique des fondements de la théorie sur la durée de vie des feuilles (Kikuzawa 1995). La courbe montre le retour cumulé en masse sèche par unité de surface foliaire déployée, net des respirations des feuilles, racines et tiges nécessaires pour soutenir l'activité photosynthétique foliaire. La courbe est négative au commencement par suite des coûts de construction et augmente ensuite avec la durée de fonctionnement de la feuille. Le temps de retour sur investissement correspond à **A**. Le bénéfice net en matière sèche par unité de surface foliaire correspond à la pente partant de l'origine de la courbe. Il est maximisé pour la durée de vie **B**. Cet optimum B, ainsi que le temps de retour sur investissement A, se décalent vers une plus longue durée de vie si la courbe de bénéfice net en masse sèche est moins profonde (environnement à revenu plus lent) ou si l'investissement initial est plus important (LMA plus élevé). En **C**, approximativement, la feuille ne permet plus de bénéfices nets. D'après Westoby (2002)

bénéfices actuels de la feuille âgée deviennent inférieurs aux bénéfices prévisionnels de la future feuille (Kikuzawa 1991, Kikuzawa 1995, Westoby et al. 2002). Une telle hypothèse nécessite d'être corroborée, notamment en FTH où la durée de vie des feuilles peut atteindre plusieurs années (Reich et al. 2004). Quoiqu'il en soit 3 prédictions sont directement déduites du modèle : la durée de vie est brève quand (1) l'assimilation nette de la feuille jeune mature est élevée, (2) les coûts de construction sont faibles et (3) l'assimilation nette diminue rapidement avec l'âge de la feuille. Ces 3 prédictions ne sont pas en désaccord avec les observations. Cependant si ce modèle est très fréquemment cité, ses applications sont rares, probablement en raison de la difficulté de suivre les capacités photosynthétiques foliaires tout au long de la vie de la feuille (Kitajima et al. 1997, Kitajima et al. 2002) et ces prédictions méritent d'être vérifiées en comparant L_{opt} et les durées de vie réelles.

I.2.3 Dynamique successionnelle et classification d'espèces

L'étude des covariations entre traits ou la recherche de syndromes de traits permet l'identification de stratégies des espèces (Reich et al. 2003). La définition que donne Grime (2001) d'une stratégie pour les plantes, est la suivante : « groupement de caractéristiques génétiques similaires ou analogues largement récurrentes au sein d'espèces ou de populations et qui leur confèrent des similarités dans leur écologie ». Il faut cependant rester conscient de la connotation très finaliste de ce terme.

Les classifications d'espèces visent à simplifier la description de leur diversité afin de mieux appréhender le fonctionnement des communautés (Swaine and Whitmore 1988). Les groupes d'espèces qui répondent à l'environnement biotique et abiotique (comme la disponibilité des ressources, les conditions climatiques ou les perturbations) de la même façon et/ou ont des effets semblables sur le fonctionnement d'écosystèmes (ex : la productivité, les cycles des nutriments) (Diaz and Cabido 2001, Lavorel and Garnier 2002) sont appelés des types fonctionnels. La classification des arbres en espèces de trouées/espèces de sous-bois est un exemple de type fonctionnel

La tolérance à l'ombre

En forêt tropicale humide (FTH), la disponibilité en lumière est souvent considérée comme le facteur qui influence le plus la croissance et la survie des plants et par conséquent la distribution des espèces (Bazzaz and Pickett 1980, Fetcher et al. 1983). Plus particulièrement, la lumière peut être très limitante en sous bois et on peut s'interroger sur les caractéristiques (écophysologiques

notamment) qui permettent de survivre à de très faibles quantités de lumière. Les espèces arborées présentent différents niveaux de tolérance à l'ombre (Bazzaz and Pickett 1980). Cette notion de tolérance à l'ombre reste cependant difficile à définir et fait généralement référence aux capacités de survie et de croissance d'une espèce en fonction de l'environnement lumineux. De nombreuses études sur les plantules ont ainsi mis en évidence l'existence d'un compromis entre la croissance relative en biomasse sous fort éclaircissement et la survie sous faible éclaircissement (Kitajima 1994, Kobe et al. 1995, Walters and Reich 2000, Davies 2001, Baraloto et al. 2005). En FTH, les arbres sont généralement soumis à deux types de gradients de disponibilité en lumière : un gradient vertical lié à la structure du couvert végétal et un gradient horizontal lié à la dynamique successionnelle.

- Le gradient vertical conditionne le niveau d'énergie auquel un arbre a accès en fonction de sa hauteur dans le profil de végétation. La lumière arrivant au niveau de la canopée est ainsi absorbée, transmise, diffusée et réfléchiée par les différentes strates de la végétation, et seulement 1 à 5% du rayonnement solaire initial parvient au niveau du sol (Bazzaz and Pickett 1980, Clark et al. 1996, Poorter 1999).
- Le gradient successional a pour origine les perturbations altérant le couvert végétal. Ces perturbations peuvent avoir de nombreuses origines et en Guyane française on estime que la surface perturbée annuellement représente environ 1% de la surface totale (Flores 2005). On distingue 3 principaux types de perturbations (en régime naturel) qui sont, le chablis (chute d'un ou plusieurs arbres) ; le volis (chute d'une branche) et la mort sur pied d'un arbre. Du fait des ouvertures qu'elles créent dans le couvert, ces perturbations, et principalement les chablis constituent le point de départ du processus silvignétiq ue (Riera et al. 1989, Oldeman 1990). Au sein des trouées, les conditions microclimatiques sont modifiées (élévation de température et diminution de l'humidité) (Bazzaz and Pickett 1980, Strauss-Debenedetti and Bazzaz 1991). Cette organisation spatiale des peuplements en relation avec le tempérament vis à vis de la lumière des différentes espèces permet de définir des groupes d'espèces jouant le même rôle dans la dynamique globale du peuplement (Swaine and Whitmore 1988, Favrichon 1995, Wilson et al. 1999).

En FTH la tolérance à l'ombre est le principal critère de classification. Cependant, elle est souvent appréhendée de manière plus ou moins directe : connaissances empiriques, besoin en lumière pour la germination (Swaine and Whitmore 1988). Blanc et al. (2003) présentent plusieurs classifications, réalisées en forêt Guyanaise. La classification la plus utilisée est celle de la

dichotomie pionnière / non pionnière (Swaine and Whitmore 1988) mais la réalité est sans doute plus proche d'un continuum de tolérance à l'ombre (Bazzaz and Pickett 1980).

- La dichotomie espèces pionnières/espèces de fin de succession (dryades). Par définition, les espèces pionnières ont besoin d'une intensité lumineuse élevée pour la germination et l'installation de leur plantule et par opposition les espèces non-pionnières peuvent, elles, indifféremment se développer sous différentes conditions de lumière (Swaine and Whitmore 1988). Les attributs partagés par les espèces pionnières sont généralement : (i) des graines de petites tailles, produites en grande quantité, et à dispersion principalement zoochore ou anémochore, (ii) un bois de densité faible et (iii) une croissance forte. La présence des graines dans la banque du sol leur assure également une dispersion efficace dans le temps (Swaine and Whitmore 1988, Turner 2001). Cette dichotomie semble bien insuffisante pour décrire l'ensemble de toutes les espèces non-pionnières: finalement, seule une minorité d'espèces à vie courte est inféodée à la trouée perturbatrice. Certains auteurs scindent cet axe espèce pionnière/climacique en plusieurs groupes (Oldeman and van Dijk 1991), d'autres le combinent à d'autres critères, intégrant notamment un trait important comme la hauteur à maturité (Turner 2001). Quoiqu'il en soit, l'absence de classification simple mais réaliste se retrouve dans la grande diversité de termes employés dans la littérature : certaines études font ainsi référence à la dépendance/indépendance des espèces vis-à-vis des trouées (Popma et al. 1992), d'autres au caractère pionnier des espèces (Molino and Sabatier 2001), d'autres à une combinaison entre tolérance à l'ombrage et position des espèces dans la canopée (Favrichon 1995) et enfin les termes tolérant, intolérant, hémi-tolérant ou héliophile peuvent également être utilisés sans que les critères d'appartenance des espèces à tel ou tel groupe soient clairement définis.

Les syndromes de tolérance/intolérance à l'ombre

De nombreuses études se sont ainsi intéressées aux liens pouvant exister entre les traits fonctionnels et le tempérament des espèces vis-à-vis de l'éclairement relatif ou la position des espèces dans la succession (Bazzaz and Carlson 1982, Strauss-Debenedetti and Bazzaz 1991, Walters et al. 1993, Kitajima 1994, Walters and Reich 1996, Walters and Reich 1999, Poorter et al. 2000, Bacelar et al. 2004, Coste et al. 2005, Barthod 2006, Bonal et al. 2007). On considère généralement que les espèces pionnières ou intolérantes à l'ombre possèdent de plus fortes capacités photosynthétiques (A_{sat}), associées à un fort investissement de l'azote foliaire dans la machinerie photosynthétique ($PNUE$), que les espèces tolérantes ou de fin de succession (Reich and Walters 1994, Reich et al. 1994, Ellsworth and Reich 1996, Niinemets et al. 1998). Cependant

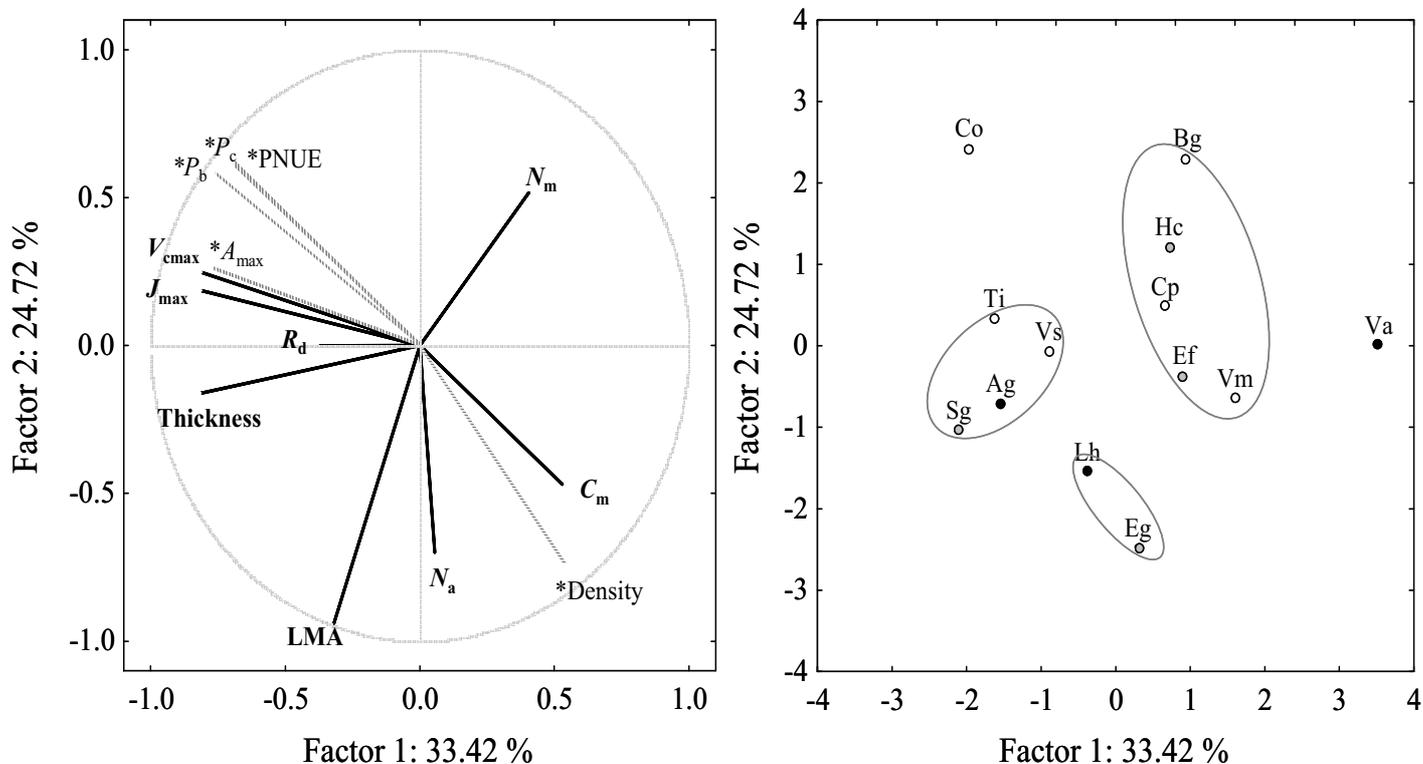


Figure 6. Analyse en composantes principales pour 14 espèces étudiées, ordonnées selon 8 traits foliaires (en gras): V_{cmax} , la vitesse maximale de carboxylation, J_{max} le flux maximal d'électrons photosynthétique, R_d la respiration, « thickness » l'épaisseur, LMA la masse surfacique, C_m et N_m , respectivement les teneurs totales en carbone et en azote et N_a la concentration en azote exprimée par unité de surface. Les variables inactives (*) sont: « density » la densité, A_{max} l'assimilation nette en lumière saturante, P_c et P_b les allocations d'azote à la carboxylation et à la bioénergétique respectivement et $PNUE$ (A_{sat}/N). La projection des variables dans le plan de facteurs 1x2, et celle des espèces dans le même plan, sont montrées. Les enveloppes illustrent l'absence de regroupement possible des espèces tolérantes à l'ombre (en noir), héli-tolérantes (en gris) et héliophiles (en blanc). D'après Coste, Roggy *et al.* (2005)

des observations antagonistes ont également été réalisées (Walters and Reich 1999, Hanba et al. 2002, Coste et al. 2005). Les différences de structure entre les feuilles d'espèces tolérantes et intolérantes, ne sont pas clairement établies, malgré un très grand nombre de travaux. De manière générale, il semblerait que la masse surfacique (LMA , $g\ m^{-2}$) des espèces tolérantes à l'ombre soit plus élevée que celle des espèces intolérantes (Kitajima 1994, Walters and Reich 1999). A l'opposé, Niinemets (1999b) suggère que, en raison de leur plus faible capacité photosynthétique associée à des coûts de construction (CC) plus élevés, la croissance des espèces tolérantes doit être plus facilement limitée par la disponibilité en hydrates de carbone que celle des espèces héliophiles, ce qui explique certainement qu'à un même niveau de lumière, les espèces tolérantes possèderaient des LMA plus faibles que les autres espèces (Niinemets and Kull 1994, Niinemets and Kull 1998, Niinemets 1999b). Quoiqu'il en soit, les espèces intolérantes sont connues pour posséder des feuilles plus épaisses (Chazdon and Kaufmann 1993, King 1994, Niinemets et al. 1998, Wilson et al. 2000) et investissent plus d'azote dans les processus de photosynthèse (et par conséquent moins dans les composés de défense) (Seemann et al. 1987, Evans 1989b, Niinemets 1997c) que les espèces tolérantes. En conséquence leurs feuilles peuvent être plus vulnérables aux herbivores (Grime et al. 1996). La forte concentration en lignine observée dans les feuilles des espèces tolérantes suggère également que ces feuilles contiennent plus de carbone et sont donc plus chères à construire que les feuilles des espèces intolérantes (Niinemets and Kull 1998, Niinemets 1999b). Les espèces caractéristiques des sous-bois ont également des feuilles à durée de vie plus longue associée à des LMA plus faibles (Waldhoff and Furch 2002, Laisk et al. 2005 mais voir Williams et al. 1989). Une précédente étude réalisée sur des espèces de FTH guyanaise (Coste et al. 2005), avait permis de conclure, que les traits fonctionnels foliaires relatifs aux capacités photosynthétiques ne permettaient pas de dégager un classement clair des espèces échantillonnées (**Figure 6**).

Si les traits foliaires des espèces tolérantes et intolérantes à l'ombre ne diffèrent pas toujours dans un environnement donné, ce n'est pas nécessairement le cas dans un autre. En d'autres termes, il pourrait exister une corrélation entre tolérance à l'ombrage et plasticité phénotypique. En réalité la relation entre plasticité phénotypique et position dans la succession ou tolérance à l'ombrage est toujours au centre des débats : si en effet, il a déjà été montré que les espèces pionnières étaient plus « plastiques » que les espèces de sous-bois (et de fin de succession) (Popma et al. 1992, Valladares et al. 2000), l'opposé (Popma et al. 1992) ainsi que l'absence de différence ont également été observés (Rozendaal et al. 2006). D'autres auteurs ont également suggéré que les espèces tolérantes étaient plus plastiques structurellement alors que les espèces intolérantes

présenteraient une forte plasticité physiologique (Strauss-DeBenedetti and Bazzaz 1991, Valladares et al. 2000, Valladares et al. 2002, Bloor and Grubb 2003, Delagrange et al. 2004, Niinemets and Valladares 2004 mais voir Portsmouth and Niinemets 2007).

I.3 Principaux objectifs de l'étude

L'objectif central de ce travail était d'appréhender la variabilité, ainsi que les principales covariations, d'un ensemble de traits foliaires relatifs à l'acquisition de carbone, d'espèces d'arbres d'un écosystème caractérisé par une très grande diversité de réponses aux hétérogénéités du milieu chez des espèces co-existantes. Concrètement, 3 grands objectifs intermédiaires ont été fixés :

1/ Identifier les principaux compromis et covariations d'un ensemble de traits.

Ce premier point repose sur l'hypothèse que les traits foliaires s'organisent selon un schéma universel de gestion des ressources (Wright et al. 2004), et que dans le cas particulier des espèces tropicales, l'efficacité photosynthétique d'utilisation de l'azote ferait partie intégrante de ce schéma.

- Quelle est l'importance relative des facteurs N et allocation de N sur la variabilité des capacités photosynthétiques ?
- Existe-il une forte corrélation entre les coûts de construction des feuilles (et de leur support), le temps de remboursement de ces coûts et la durée de vie des feuilles ?
- La durée de vie moyenne des feuilles correspond-elle à la durée de vie optimale calculée d'après le modèle de Kikuzawa (1991, 1995)?

2/ Caractériser la variabilité de ces traits en réponse à l'éclairement relatif (plasticité phénotypique) et la diversité interspécifique de cette plasticité.

- Comment la lumière modifie-t-elle les relations coût-bénéfices à l'échelle de la feuille ? Les durées de vie des feuilles à l'ombre sont elles plus élevées pour permettre un temps de remboursement plus long en raison d'une capacité d'assimilation photosynthétique plus faible? Les allocations de N aux processus de la photosynthèse sont elles moins importantes en contrepartie d'un investissement plus fort dans des composés et des structures favorisant une durée de vie plus longue ?
- La diversité interspécifique se maintient-elle aux différents niveaux d'éclairement relatif ?

- La plasticité phénotypique permet-elle, plus que la diversité interspécifique, de discriminer les espèces en fonction de leur tolérance à l'ombrage? En d'autres termes, les espèces pionnières sont-elles plus plastiques pour un/des traits que les espèces de fin de succession ?

3/ Etudier la variabilité intraspécifique des traits au cours de l'ontogénèse.

L'essentiel de cette étude repose sur une approche comparative des traits des espèces. La plus grande partie des mesures a été réalisée en serre, en conditions contrôlées, afin de garantir l'absence de contrainte et une grande homogénéité d'environnement. Les plants âgés de 2 à 3 ans ont été élevés dans 3 traitements de lumière distincts, intermédiaires entre la gamme observée dans un gradient naturel et celle permettant une croissance optimale des plants. Les espèces ont été sélectionnées de façon à couvrir une large gamme de tempéraments vis-à-vis de la lumière et de disposer *a priori* d'une grande diversité de caractéristiques structurales foliaires (feuilles simples et composées, de tailles très variables, plus ou moins coriaces, de couleurs et de textures très différentes, à nervation plus ou moins marquées).

Les capacités photosynthétiques foliaires ont été estimées à l'aide d'un modèle mécaniste de photosynthèse foliaire en régime permanent (Farquhar et al. 1980). Ce modèle fonctionnel et puissant permet de caractériser plus finement les capacités photosynthétiques que l'assimilation nette maximale de CO₂ en lumière saturante (A_{sat}). Il permet d'estimer *in vivo* les performances apparentes de la Rubisco et de la chaîne de transport d'électrons, avec deux paramètres clés : la vitesse maximale de carboxylation (V_{cmax} , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) et le flux maximal d'électrons photosynthétique (J_{max} , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). L'approche économique du bilan de carbone foliaire a été centrée sur l'estimation des durées de vie moyennes des feuilles et le calcul des coûts de construction, des temps de retour sur investissement et de la durée de vie optimale (Kikuzawa 1991, Kikuzawa 1995) des métamères (la feuille et sa structure de support).

Enfin, afin de disposer d'arbres de dimensions différentes, dans des conditions d'éclairement différentes, la dernière partie de cette étude a été réalisée *in situ* sur deux espèces appartenant à une même famille botanique (*Caesalpinaceae*), très représentées en Guyane française, et à tendance plutôt héliophiles (ou héli-tolérante à l'ombre). L'objectif de cette étude étant de comparer des stades d'individus encore jeunes, les stades de développement choisis étaient (1) les semis non ramifiés, (2) les semis en début de ramification et (3) les jeunes arbres en début de formation de leur couronne.

Tableau I. Liste des espèces étudiées, familles botaniques, abréviations et tempéraments vis-à-vis de la lumière. Le type composé ou simple des feuilles est également précisé.

Espèces	Familles	Codes	Tempérament vis-à-vis de la lumière ¹	Type de feuille
<i>Amanoa guianensis</i> J.B. Aublet	Euphorbiaceae	Ag	Tolérante à l'ombre	Simple
<i>Bagassa guianensis</i> J.B. Aublet	Moraceae	Bg	Pionnière	Simple
<i>Carapa procera</i> A.P. De Candolle	Meliaceae	Cp	Héliophile / non pionnière	Composée
<i>Cecropia obtusa</i> Trécul.	Cecropiaceae	Co	Pionnière	Simple
<i>Eperua falcata</i> J.B. Aublet	Caesalpiniaceae	Ef	Tolérante à l'ombre	Composée
<i>Hymenaea courbaril</i> Linnaeus	Caesalpiniaceae	Hc	Tolérante à l'ombre	Composée
<i>Pouteria</i> sp. J.B. Aublet	Sapotaceae	Ps	Tolérante à l'ombre	Simple
<i>Pradosia cochlearia</i> (Lecomte) Pennington	Sapotaceae	Pc	Tolérante à l'ombre	Simple
<i>Protium opacum</i> Swart	Burseraceae	Po	Tolérante à l'ombre	Composée
<i>Sextonia rubra</i> (Mez) van der Weff	Lauraceae	Sr	Tolérante à l'ombre	Simple
<i>Symphonia globulifera</i> Linnaeus f.	Clusiaceae	Sg	Tolérante à l'ombre	Simple
<i>Tachigali melinonii</i> (Harms) Barneby	Caesalpiniaceae	Tm	Héliophile / non pionnière	Composée
<i>Vouacapoua americana</i> J.B. Aublet	Caesalpiniaceae	Va	Tolérante à l'ombre	Composée

¹. Voir Molino et Sabatier (2001)

II. Matériel et méthodes

II.1 Choix des dispositifs expérimentaux

La majeure partie des expérimentations présentées dans ce document ont été effectuées en conditions contrôlées dans une serre expérimentale à Kourou en Guyane française (5°10'N, 52°40'W, Amérique du sud) sur de jeunes plants suivis de leur première à leur troisième année. Il est certain que les expérimentations sur le terrain sont nettement plus réalistes mais il y est impossible d'évaluer et de dissocier la plupart des facteurs (biotiques comme abiotiques) pouvant influencer sur les plants. Ceci est d'autant plus vrai en FTH que l'environnement y est très hétérogène avec l'existence de microenvironnements distincts en température, en déficit de pression de vapeur et tout particulièrement en éclairage relatif (avec notamment le phénomène des « sun-flecks ») (Strauss-Debenedetti and Bazzaz 1996). De plus, il y est également impossible d'évaluer l'âge (chronologique) des plants sur lesquels on souhaite travailler. Enfin, il est impossible de trouver sur le terrain l'ensemble des espèces étudiées ici dans des conditions comparables et dans une gamme large d'environnements lumineux. Une étude réalisée *in situ* sur *Eperua falcata* (mais qui n'est pas présentée ici) n'a permis de trouver des individus qu'entre 1 et 10% d'irradiance relative au rayonnement incident solaire.

Dans le cadre d'une comparaison interspécifique, il était nécessaire de travailler en conditions contrôlées, dans un environnement le plus homogène possible (températures du sol et de l'air, humidité relative, propriétés et composition chimique du sol, apport quotidien en eau). Bien évidemment, élever des plants en pots engendre des contraintes sur la croissance en général et la croissance racinaire plus particulièrement. Il est donc important de bien considérer que cette étude est une étude comparative et que les valeurs absolues des traits mesurés en serre correspondent à des « potentiels » dans un environnement sans contrainte forte et ne sont pas directement transposables sur le terrain.

II.2 Les espèces

Treize espèces d'arbres de la forêt tropicale humide guyanaise, appartenant à 9 familles botaniques différentes, ont été sélectionnées pour cette étude (**Tableau I**, **Figure 7** et **Annexe 1**). Une quatorzième espèce, *Dicorynia guianensis* Amshoff a également été étudiée *in situ* (*Projet de*





Figure 8. Photographies du dispositif expérimental. **a.** Mesure de l'éclairage relatif à l'aide de capteurs instantanés de PAR (Rayonnement Photosynthétiquement Actif) placés au-dessus des plants et reliés à (c) une centrale d'acquisition des données (novembre 2003). **b.** vue extérieure de la serre. **d.** vue intérieure de la serre (septembre 2004).

t_5					t_{10}					t_{20}							
Tm	Sr	Po	Co	X	Sg	Hc	Tm	X	Co	Ef	Cp	Va	Pc	Bg	Pm	Co	Ag
Hc	Pc	Ef	Pm	Ag	X	Va	X	Ag	Po	Bg	Sg	Tm	Cp	X	Ag	Va	Sr
Sr	Ag	X	Sg	Bg	Va	Co	Ef	Pc	Pm	Cp	Va	Co	Hc	Tm	X	X	Ef
Po	Co	X	Hc	Tm	Hc	Ag	Sg	Po	X	Sr	X	Po	Pm	Sg	Ef	Ag	Sg
Va	Sg	Pm	Bg	Co	X	Po	Cp	Pm	Pc	Co	Tm	X	Co	Cp	Po	Sr	X
Ag	X	Sr	X	Pc	Ef	X	Ag	Bg	Hc	Sg	Ef	Sg	Tm	Pm	Va	Sg	X
X	Cp	Co	Va	Sr	Bg	Sg	Hc	Cp	X	Po	Ag	Sr	Bg	X	Pc	Cp	Pm
Pc	Bg	Ag	Tm	X	Po	Pm	Co	Tm	Va	X	Bg	Pm	Ef	Po	X	Hc	Tm
X	Po	Hc	Po	Pm	Ag	X	Va	Ef	Sg	Pm	Sr	X	Sg	Co	Hc	Bg	Va
Bg	Tm	Cp	X	Ef	Pc	Sr	Bg	Sr	Ag	Tm	Hc	Hc	Sr	Sr	Cp	Po	Co
Cp	X	Sg	Sr	Va	Tm	Pc	X	Hc	Cp	Pc	Co	Ef	Ag	Pc	Tm	X	Bg
Ef	Va	Pc	Ag	Cp	Sr	Bg	Pm	Sg	Tm	Va	Po	Bg	Va	Hc	Co	Pc	Cp
Pm	Hc	Tm	Ef	Po	Co	Ef	Sr	X	Bg	Hc	Pm	Pc	Po	Ef	Sr	Tm	Hc
Co	Ef	Bg	Pc	Sg	Pm	Po	Cp	Va	Sr	Ag	Pc	Ag	X	Va	Sg	Ef	Po
Sg	Pm	Va	Cp	Hc	Cp	Tm	Pc	Co	Ef	X	X	Cp	X	Ag	Bg	Pm	Pc
Va	Po	X	Hc	X	Co	Hc	Sr	Hc	Cp	Co	Sg	Ef	Co	X	Cp	X	Co
Tm	Bg	Pc	Bg	Sr	Ef	Hc	Tm	Bg	Po	Pm	Ag	X	Sr	Bg	Ef	Po	X
Ag	Pm	Tm	Ag	X	Va	Ag	Pc	Va	X	Ef	Bg	X	Po	Pm	Tm	Bg	Tm
Co	Pc	Sg	Ef	Pm	X	Cp	Ef	Tm	Ef	X	Hc	Va	Cp	Ag	Va	Hc	Pm
Bg	Ag	Po	X	Cp	Pc	Va	Co	Sr	Pm	Cp	Sr	Sg	Pc	Sr	Hc	Sr	Ef
Pc	Ef	Bg	Pm	Po	Sg	X	Po	Sg	X	Pc	X	Co	Bg	Sg	Co	Sg	Cp
Hc	Cp	Va	Cp	Va	X	Po	Bg	Pc	Ag	Tm	Ef	Pc	Ag	Va	Sr	Tm	Pc
Sg	Sr	Hc	Sg	Co	Sr	Pc	Sg	Cp	Va	Po	Co	Cp	Hc	X	X	Pm	Hc
Pm	Ef	Co	Po	Ag	Tm	Sr	Pm	Hc	Sg	Ag	Va	Ag	Pm	Po	Ag	Ef	Bg
X	X	Sr	Tm	Hc	Cp	Tm	X	Co	Bg	X	Pm	Po	Tm	Pc	Sg	Va	X

Figure 9. Disposition des plants dans la serre expérimentale. Les pots de plantules ont été répartis dans trois blocs correspondant à trois traitements de lumière : t_5 , t_{10} et t_{20} , selon la configuration expérimentale 2x3 lignes de 25 plants par bloc, chaque ligne contenant au moins un individu de chacune des espèces positionné au hasard. Les abréviations correspondent aux 13 espèces étudiées (voir Tableau I), les X à des emplacements inoccupés (initialement 2 autres espèces appartenaient à l'expérimentation). Les individus encadrés indiquent la position des capteurs de lumière lors de la campagne de mesure de septembre 2004.

Tableau II. Moyennes, écarts-types et valeurs maximales et minimales des éclairagements relatifs mesurés dans les trois traitements de la serre (t_5 , t_{10} et t_{20}). Les mesures ont été réalisées pendant 3 jours successifs en novembre 2003 et septembre 2004 à l'aide de capteurs instantanés de PAR. Les éclairagements relatifs sont exprimés en % du rayonnement solaire extérieur.

Traitement	novembre 2003			septembre 2004		
	moyenne \pm ec.type	Min	Max	moyenne \pm ec.type	Min	Max
t_5	4.64 \pm 0.9	3.31	6.33	4.66 \pm 0.6	3.68	6.11
t_{10}	8.77 \pm 1.8	6.22	13.2	9.26 \pm 0.8	8.04	11.61
t_{20}	18.72 \pm 1.2	17.15	21.3	20.3 \pm 1.1	18.4	22.6

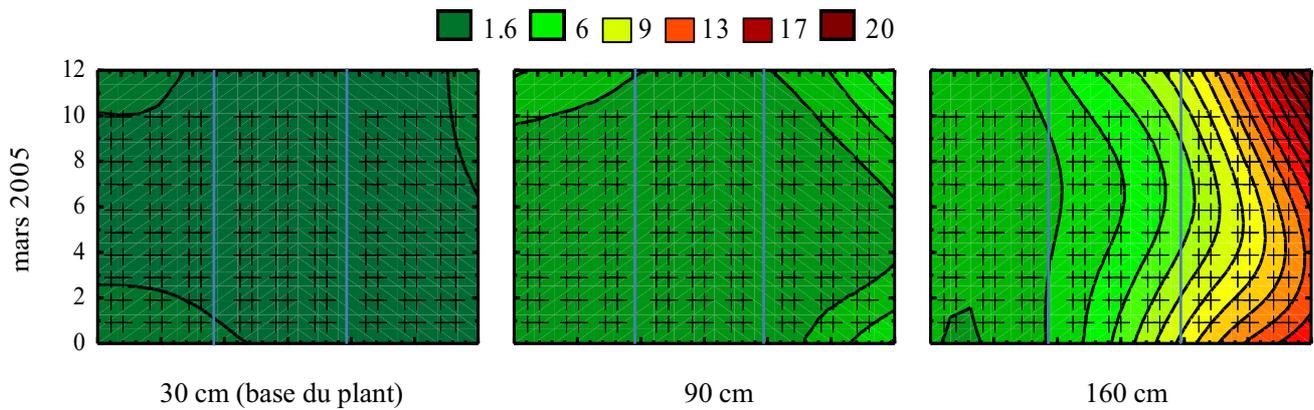


Figure 10. Courbes d'isoreponse de l'éclairage relatif dans la serre expérimentale. Les mesures ont été réalisées à l'aide d'un ceptomètre (AccuPAR, Model PAR-80, Decagon Devices, Inc., USA) à trois hauteurs : 30 cm, 90 cm et 160 cm du sol en mars 2005. Les croix représentent la position des points de mesures dans chacun des 3 traitements. L'éclairage relatif est exprimé en % du rayonnement solaire extérieur.

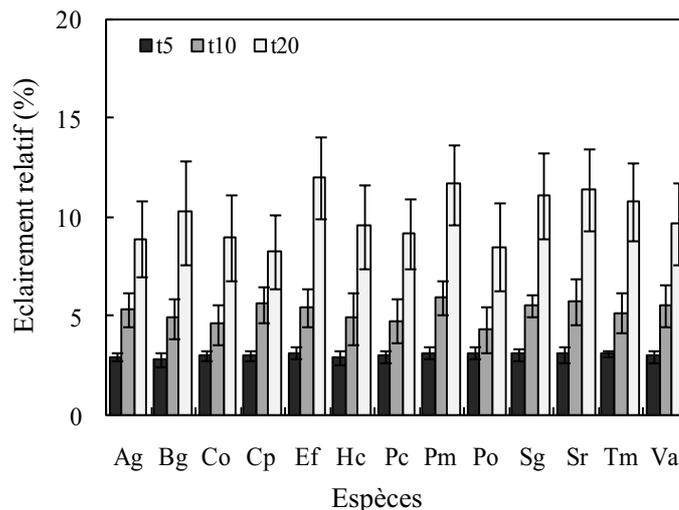


Figure 11. Comparaison des mesures d'éclairage relatif (moyennes et intervalles de confiance) effectuées à 160 cm du sol (H3) reçu par chacune des espèces, dans chacun des traitements de lumière (t_5 , t_{10} et t_{20}). Une Anova factorielle, pour les effets espèce (13 espèces) et traitement (3 traitements, t_5 , t_{10} et t_{20}) confirme les différences d'éclairage relatif entre les 3 traitements ($F= 513$, $P<0,05$) et que toutes les espèces reçoivent un éclairage comparable au sein d'un traitement donné (i.e. l'effet espèce est non significatif et aucune interaction n'est observée).

publication 3) mais ne faisait pas partie du dispositif en serre. Différents critères sont à l'origine du choix des espèces et la liste a été établie de façon à couvrir une large gamme de tempéraments vis-à-vis de la lumière (de tolérantes à l'ombre à pionnières) et *a priori*, de structures foliaires. La disponibilité des graines et des semis sur le terrain ainsi que le taux de survie des individus après repiquage ont ensuite conditionné le choix définitif des espèces. Ainsi, *Inga thibaudiana* De Candolle et *Virola michelii* Heckel, deux espèces héliophiles, initialement incluses dans l'expérimentation, ont été exclues au cours de la première année en raison d'une trop forte mortalité.

L'ensemble des plants étaient issus de graines ou de semis (selon la disponibilité sur le terrain) de l'année 2003 (mars-juillet 2003). Les semis ont été transplantés dans des pots de 30L contenant un mélange de terre (horizon A) et de sable (avec un rapport de 2 volumes de terre pour 1 volume de sable). Tous ont été placés sous les niveaux de lumière définitifs en décembre 2003. Les premières mesures ont débuté en mars 2004, les plus vieux individus étaient alors âgés d'un an environ.

II.3 Description du dispositif expérimental de la serre

II.3.1 Disposition des plants

Trois parties contiguës (blocs), mesurant chacune 5 x 12,5m, correspondant à trois traitements d'éclairage relatif : t_5 , t_{10} et t_{20} ont été créées à l'aide d'ombrières placées à 260 cm du sol environ. Les pots de plantules ont été répartis dans ces trois blocs selon la configuration expérimentale suivante : 2x3 lignes de 25 plants par bloc, chaque ligne contenant au moins un individu de chacune des espèces positionné au hasard (**Figure 9**). La distance entre deux individus était de 40 cm sur chaque ligne et entre deux lignes adjacentes. Au sein d'un même bloc, des allées de 1 m de large séparaient les 3 paires de lignes successives.

II.3.2 Les conditions environnementales

L'environnement lumineux

Des capteurs quantiques dans le PAR (Solems PAR/CBE 80, S.A., Palaiseau, Fr.) ont été utilisés pour caractériser l'environnement lumineux de la serre. Au total, 36 capteurs ont été disposés au dessus des plants et mis à niveau (**Figures 8 et 9**). La somme des flux quantiques enregistrés sur 3 journées (de 6H30 à 18H30) a été exprimée en % de la somme des flux mesurés sur un capteur

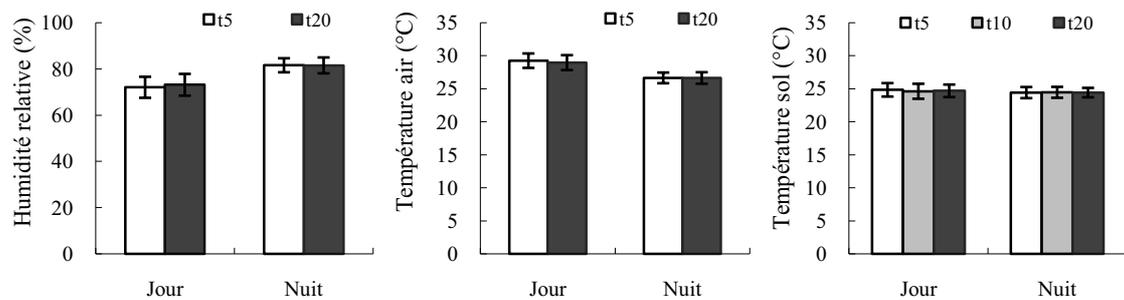


Figure 12. Moyennes (et écarts-types) de l'humidité relative de l'air (%), de la température de l'air et du sol (°C). Les mesures ont été réalisées sur 3 périodes : du 20 juillet au 8 septembre 2004, du 09 novembre 2004 au 21 janvier 2005 et du 26 mai 2005 au 13 novembre 2005. Les moyennes calculées séparément pour la journée et pour la nuit sont indiquées pour chacun des traitements (t_5 , t_{10} et t_{20}).

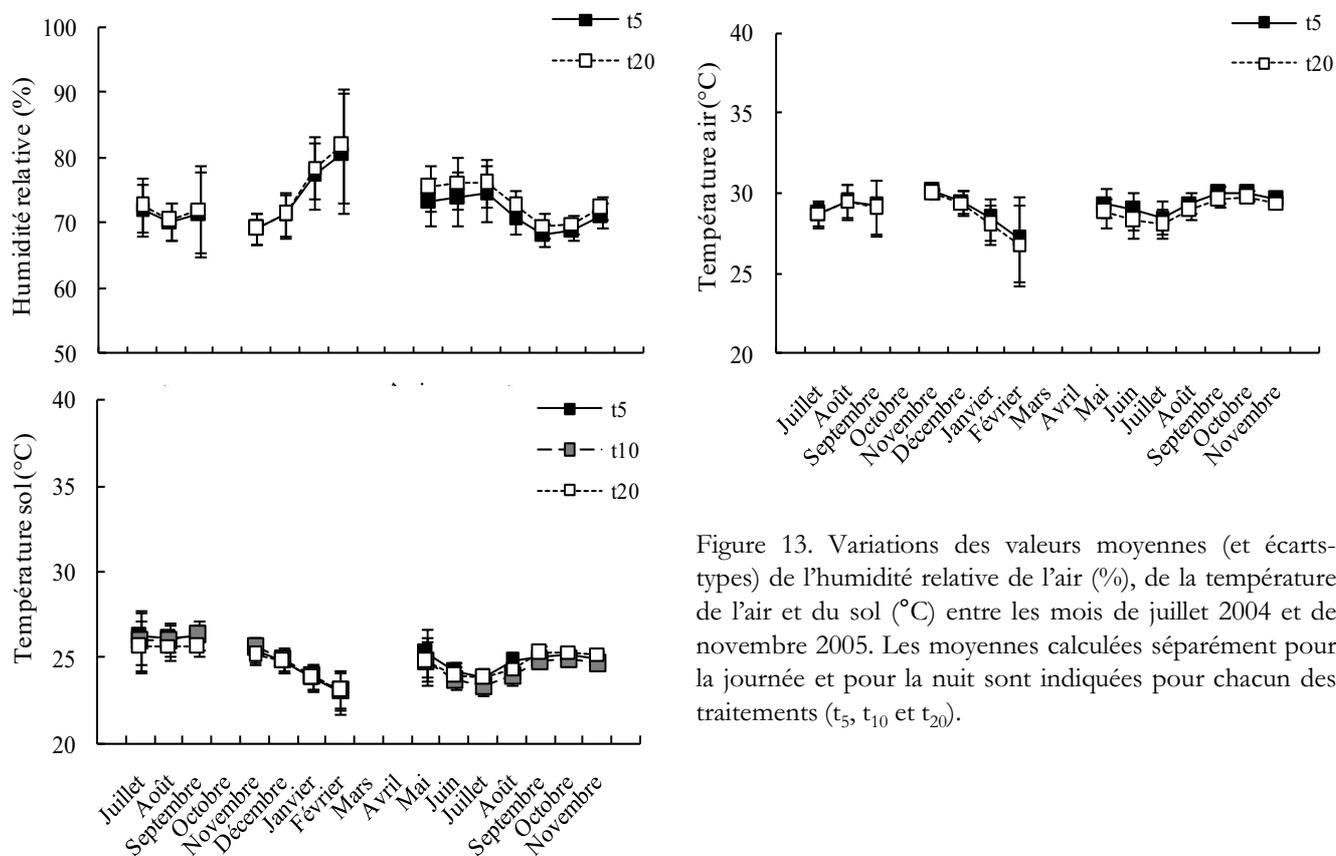


Figure 13. Variations des valeurs moyennes (et écarts-types) de l'humidité relative de l'air (%), de la température de l'air et du sol (°C) entre les mois de juillet 2004 et de novembre 2005. Les moyennes calculées séparément pour la journée et pour la nuit sont indiquées pour chacun des traitements (t_5 , t_{10} et t_{20}).

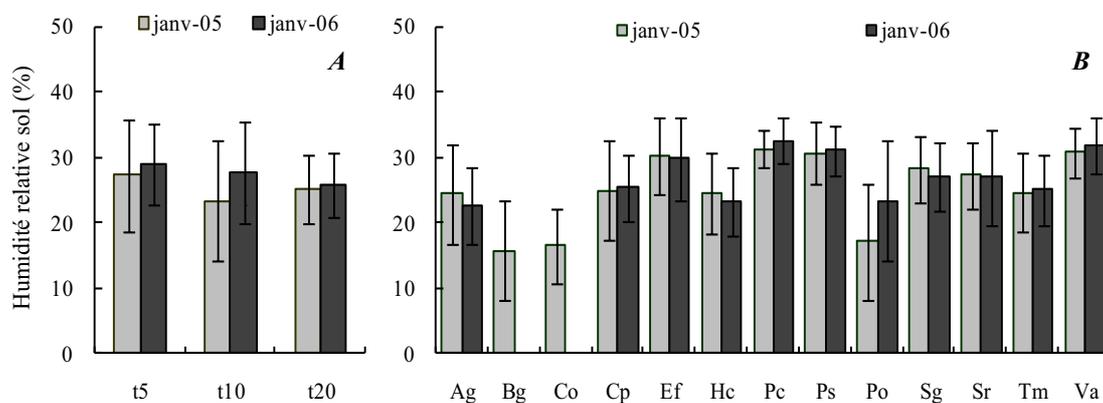


Figure 14. Comparaison des humidités relatives du sol (moyennes et écarts-types) entre le mois de janvier 2005 et le mois de janvier 2006. Les moyennes sont présentées pour chacun des traitements de lumière (A), et pour chacune des espèces indépendamment du traitement lumineux (B).

de référence placé à l'extérieur. Deux campagnes de mesure de lumière ont été effectuées, la première en novembre 2003, la seconde en septembre 2004. Un léger effet « bordure » de bloc a été observé, comme en attestent les valeurs extrêmes mesurées (**Tableau II**). Les valeurs moyennes mesurées par traitement, soit environ 4, 9 et 20% du rayonnement extérieur (dans le PAR), ont permis de définir les traitements t_5 , t_{10} et t_{20} respectivement.

Dans le but d'évaluer l'importance de l'ombrage causé par la croissance des plants, des mesures ont également été réalisées à 3 hauteurs : 30 cm (ce qui correspond à la hauteur des pots et à la base des plants), 90 cm et 160 cm, appelées respectivement H1, H2 et H3. Ces mesures ont été réalisées à l'aide d'un ceptomètre (AccuPAR, Model PAR-80, Decagon Devices, Inc., USA). Une première campagne a été réalisée en mars 2005 avant la destruction des espèces pionnières (*Cecropia obtusa* et des *Bagassa guianensis*) et une seconde en juillet 2005. Ces mesures ont permis de confirmer l'existence d'un effet ombrage non négligeable au sein de chacun des traitements (**Figure 10**). Ainsi, un an après le début de l'expérimentation, les intensités lumineuses mesurées au niveau des hauteurs les plus basses (H1 et H2) sont homogènes entre les blocs : il n'existe plus de différences significatives entre les trois traitements. En revanche, sur la hauteur H3, à 160 cm, même si les valeurs moyennes mesurées par traitement sont bien inférieures aux valeurs initiales, les différences entre les trois traitements sont maintenues et aucun effet espèce n'est apparu (i.e., on n'observe aucune espèce qui serait systématiquement plus à l'ombre que ses voisines, en raison d'une plus petite vitesse de croissance par exemple) (**Figure 11**).

Le climat de la serre

Des mesures de température de l'air et du sol ainsi que de l'humidité de l'air ont également été réalisées au cours de trois périodes : du 20 juillet au 8 septembre 2004, du 9 novembre 2004 au 21 janvier 2005 et du 26 mai 2005 au 13 novembre 2005. Pour cela deux capteurs d'humidité et de température de l'air (sonde HMP45, Campbell Scientific, UK) ont été placés au centre des traitements t_5 et t_{20} , à hauteur de plants et trois capteurs de température du sol (sonde 107, Campbell Scientific, UK), soit un par traitement, ont été disposés dans des pots au centre des traitements. L'ensemble de ces capteurs a été raccordé à une CR10X (Campbell Scientific, UK) alimentée à l'aide d'un panneau solaire (panneau solaire 10 W, Campbell Scientific, UK).

La température et l'humidité relative de l'air sous les ombrières étaient très proches des valeurs ambiantes extérieures et aucune différence n'a été observée entre les trois traitements : température moyenne du jour: 29,1°C (min/max: 23,9/33,3 °C), humidité relative moyenne du jour: 72,6 % (min/max 61/92 %). La température moyenne du sol pendant la journée était de

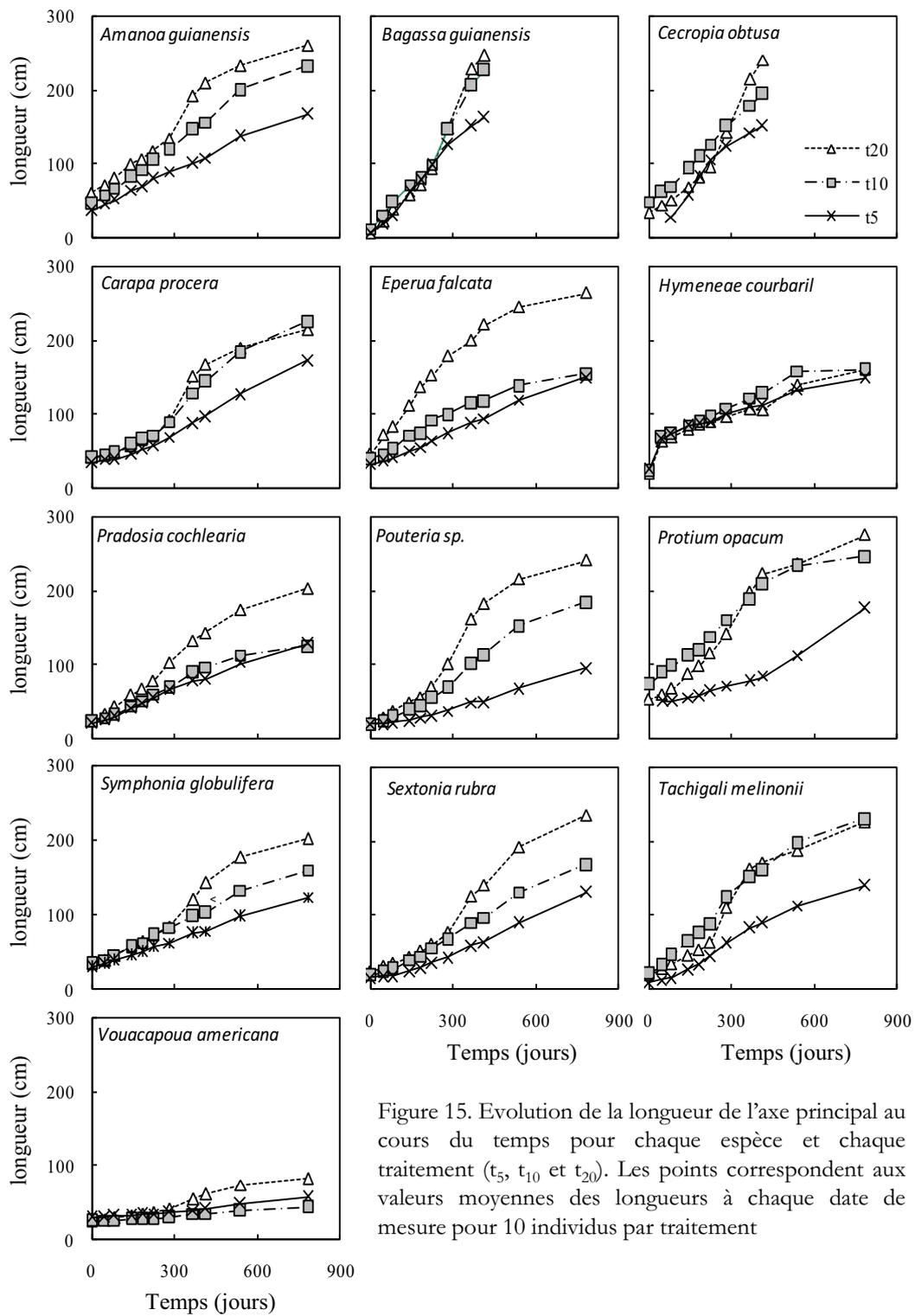


Figure 15. Evolution de la longueur de l'axe principal au cours du temps pour chaque espèce et chaque traitement (t_5 , t_{10} et t_{20}). Les points correspondent aux valeurs moyennes des longueurs à chaque date de mesure pour 10 individus par traitement

24,7°C (min/max 21,4/30,6) et de 24,4°C (min/max 21,7/28,3) pendant la nuit (**Figure 12**). Peu de variations de températures et d'humidité ont été observées au cours de l'année. On note tout de même une légère augmentation de l'humidité de l'air, associée à une légère diminution des températures pour les mois de janvier et février 2005 (**Figure 13**).

L'irrigation de chaque plant, manuelle dans un premier temps, a été automatisée en octobre 2004 par distribution de l'eau par un système « goutte à goutte ». Trois circuits indépendants ont été installés (un par traitement de lumière) et les durées de distribution ont été ajustées pour chacun des traitements. L'humidité volumique du sol a été estimée (15 janvier 2005 et 20 janvier 2006) à l'aide d'une sonde TDR Trime FM2 (Imko, Ettlingen, Allemagne) et maintenue entre 15 et 32% (**Figure 14**).

Les traitements phytosanitaires et la fertilisation

L'ensemble de la serre a été traité régulièrement avec un insecticide systémique (Lannate, Du Pont de Nemours, France) et ponctuellement avec un insecticide de contact (Endosulfan). Un fongicide (Ortiva, Syngenta, Belgique) a également été utilisé en cas d'attaques fongiques.

Les plants ont tous été fertilisés en juillet 2004 avec un fertilisant complet à libération lente (Multicote 4, 17 :17 :17 ; N, P, K) : 1,5 g/l de substrat soit 40 g par pot.

II.3.3 Croissance des plants

Des mesures de hauteur (longueur) et de diamètre ont été régulièrement réalisées sur l'ensemble des individus (**Figure 15**), soit 11 passages au total tout au long de l'expérimentation. Les diamètres (mm) ont été mesurés à la base de l'axe principal et la hauteur correspond à la longueur (cm) de l'axe principal. On notera que pour les deux espèces à croissance sympodiale, *Eperua falcata* et *Hymenaea courbaryl*, la mesure a parfois été difficile (tout particulièrement pour *Hymenaea courbaryl* qui ramifie très tôt) et plusieurs axes ont du être suivis lorsque le principal n'était plus aisément identifiable. Cette difficulté est très certainement à l'origine de l'absence de différence entre les 3 courbes d'évolution des hauteurs au cours du temps correspondant aux 3 traitements (**Figure 15**). La croissance relative ("relative growth rate", RGR, cm.cm⁻¹.an⁻¹) de chaque individu a également été estimée selon :

$$RGR = ((\ln H_{t_2} - \ln H_{t_1}) / (t_2 - t_1)) \times 12 \quad (1)$$

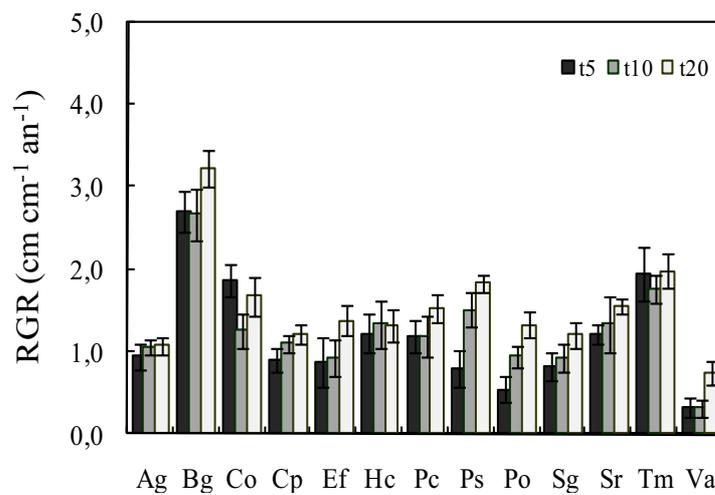


Figure 16. Comparaison des croissances relatives en longueur, RGR (moyennes et intervalles de confiance) de chacune des espèces, dans chacun des traitements de lumière (t_5 , t_{10} et t_{20}). Une Anova factorielle, pour les effets espèce (13 espèces) et éclairage relatif (3 traitements, t_5 , t_{10} et t_{20}) confirme des différences de croissance entre espèces ($F= 101$; $P<0,001$), des différences de croissance entre les traitements ($F=50$; $P<0,01$) ainsi que l'existence d'interactions significatives entre les facteurs ($F=3,7$; $P<0,01$).

avec H_{t1} et H_{t2} les hauteurs (cm) au début ($t1$) et à la fin de l'expérimentation ($t2$).

Les vitesses de croissance des espèces étaient différentes, cependant pour une espèce et un traitement donné les vitesses de croissance étaient assez homogènes (**Figure 16**).

II.4 Les mesures de capacités photosynthétiques foliaires

Les capacités photosynthétiques foliaires ont été estimées soit (1) par l'assimilation nette de CO_2 en lumière saturante et CO_2 ambiant (A_{sat} , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; *Projet de publication 2*), soit (2) à l'aide des deux paramètres clés d'un modèle de photosynthèse foliaire : la vitesse maximale apparente de carboxylation (V_{cmax} , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) et le flux maximal apparent d'électrons photosynthétique (J_{max} , $\mu\text{mol e}^- \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) (*Projets de publications 1 et 3*).

II.4.1 Un modèle semi-mécaniste : le modèle de Farquhar *et al.* (1980)

Description du modèle

La vitesse maximale de carboxylation (V_{cmax} , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) et le flux maximal d'électrons photosynthétique (J_{max} , $\mu\text{mol e}^- \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) ont été estimés à l'aide du modèle biochimique de photosynthèse développé par Farquhar *et al.* (1980). Il s'agit d'un modèle intégrant les échanges gazeux, les cinétiques enzymatiques des réactions biochimiques liées à la fixation du CO_2 , et le flux d'électrons dans les membranes photosynthétiques. Dans ce modèle, la feuille est considérée comme un milieu homogène (pas de gradient de CO_2 et d'éclairement dans le mésophylle) et les chloroplastes fonctionnent de façon identique. Ce modèle s'applique en régime permanent et *in vivo*. La version utilisée dans cette étude est celle de Harley et Tenhunen (1991).

Le modèle repose sur l'hypothèse que l'assimilation nette de CO_2 par la feuille est le résultat de trois processus : (1) le prélèvement de CO_2 par l'activité carboxylase de la Rubisco (enzyme clé du cycle de Calvin) dans le chloroplaste, (2) le dégagement de CO_2 dans la mitochondrie par la photorespiration et (3) la respiration liée au cycle des acides tricarboxyliques (cycle de Krebs). Lors du cycle photorespiratoire, la stœchiométrie des réactions est de 0,5 mole de CO_2 libérée pour 1 mole de O_2 fixée. L'assimilation nette de CO_2 (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) peut ainsi être décrite comme suit :

$$A = V_c - 0.5V_o - R_d = V_c(1 - 0.5V_o/V_c) - R_d \quad (2)$$

avec V_c la vitesse de carboxylation du RuBP par la Rubisco, V_o la vitesse d'oxygénation du RuBP par la Rubisco et R_d la respiration (production de CO_2 autre que par la photorespiration). Le rapport V_o/V_c est déterminé à la fois par les propriétés cinétiques intrinsèques de la Rubisco, ainsi que par la disponibilité relative de ces deux substrats.

Ainsi, la vitesse de carboxylation (conditionnée par les propriétés cinétiques et la quantité de Rubisco présente dans la feuille) peut être limitée par :

- la concentration relative en substrat (CO_2) ;
- la lumière (PFD, Densité de Flux de Photons dans le PAR) *via* la régénération du RuBP.

Plus précisément, l'activité de la Rubisco peut être soit saturée en RuBP (et donc contrôlée par les caractéristiques de la Rubisco et les concentrations en CO_2), soit limitée en RuBP (c'est-à-dire par la vitesse de régénération du RuBP).

- Assimilation à RuBP saturant

La vitesse de carboxylation à RuBP saturant (W_c) est contrôlée par les propriétés enzymatiques de la Rubisco et par les concentrations en CO_2 et O_2 (qui sont, respectivement, les inhibiteurs compétitifs des activités oxygénase et carboxylase de la Rubisco). W_c peut ainsi être exprimée selon un formalisme de type "Michaelis-Menten" (activité d'une enzyme en présence d'un inhibiteur compétitif) :

$$W_c = V_{cmax} C_i / [C_i + K_c(1 + O_i/K_o)] \quad (3)$$

avec : V_{cmax} , la vitesse maximale de carboxylation ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ; C_i , la fraction molaire de CO_2 dans les espaces intercellulaires ($\mu\text{mol mol}^{-1}$) ; O_i , la fraction molaire de l'oxygène ($\mu\text{mol mol}^{-1}$) et K_c et K_o , respectivement les constantes de Michaelis-Menten de la carboxylation et de l'oxygénation. En remplaçant V_c par W_c dans l'équation (2), on obtient une estimation de l'assimilation à RuBP saturant, A_c .

- Assimilation à RuBP limitant

La vitesse de carboxylation à RuBP limitant (W_c) dépend de la vitesse de sa régénération, laquelle dépend de la fourniture d'ATP et de NADPH par les réactions photochimiques (transfert d'électrons). L'expression de la limitation de la vitesse de la carboxylation par ce facteur est :

$$W_j = JC_i/[4(C_i + O_i/\tau)] \quad (4)$$

avec :

$$J = \alpha Q/[1 + \alpha^2 Q^2/J_{max}^2]^{0,5} \quad (5)$$

avec : τ , le facteur de spécificité de la Rubisco ; J , le flux d'électrons photosynthétique ; α , le rendement quantique apparent du flux d'électrons ; Q , la densité de flux de photons dans le PAR ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) et J_{max} le flux maximal d'électrons photosynthétique ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). En remplaçant V_c par W_j dans l'équation (2), on obtient une estimation de l'assimilation à RuBP limitant, A_j .

- Limitation par la vitesse d'exportation des trioses-phosphates

Lorsque l'éclairement est saturant et que C_i devient très élevé, la vitesse de carboxylation (W_p) peut également être limitée par la vitesse d'exportation des trioses-phosphates (trioses-P) depuis le chloroplaste (voir Von Caemmerer 2000). Lorsque l'exportation des trioses-P produits par le cycle de Calvin excède la capacité d'utilisation des trioses-P pour la synthèse d'amidon et de glucose, la concentration en phosphate libre (Pi) décroît dans le chloroplaste car il se trouve fixé sous forme organique. Les phosphates deviennent alors limitants pour la synthèse d'ATP, provoquant une diminution du rapport ATP/ADP et entraînant alors une limitation de l'activité photosynthétique.

L'expression générale de l'assimilation nette de CO_2 est donc (après réarrangement de l'équation (2)) :

$$A = [1 - (0.5O_i)/(\tau C_i)] - \min\{W_c, W_j, W_p\} - R_d \quad (6)$$

La situation de limitation par les trioses-P étant rarement rencontrée *in vivo* sur les feuilles (elle ne se produit qu'en situation de rétro-inhibition par l'exportation des glucides ou de très fortes carences en P), il n'en a pas été tenu compte dans cette étude.

Ajustement des paramètres du modèle

Le paramètre V_{cmax} est considéré comme dépendant de la quantité de Rubisco active, et J_{max} de la quantité de protéines de la chaîne de transfert d'électrons photosynthétiques comme le Cytochrome bf. Les paramètres V_{cmax} et J_{max} sont estimés à partir de courbes de réponse au CO_2

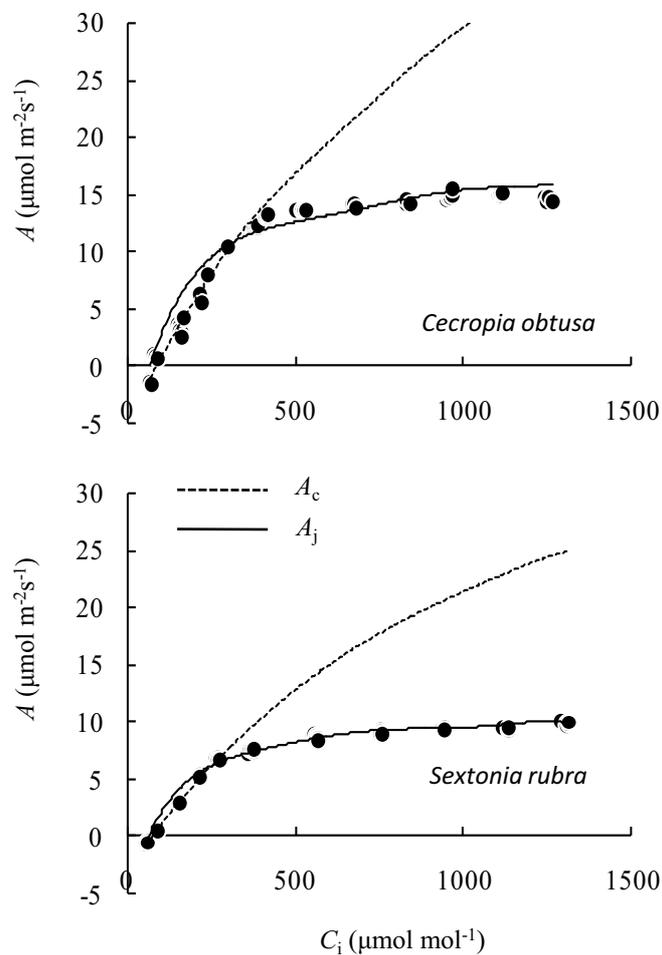


Figure 17. Courbes de réponse de l'assimilation nette de CO_2 (A , $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) à la fraction molaire en CO_2 dans les espaces sous stomatiques (C_i , $\mu\text{mol mol}^{-1}$). Données expérimentales sur des feuilles de *Cecropia obtusa* et de *Sextonia rubra*, à 30°C sous $700 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de PFD. Les deux courbes, A_c (limitation par la Rubisco) et A_j (limitation par la régénération du RuBP) permettent d'ajuster le modèle et d'estimer la vitesse de carboxylation maximale (V_{cmax} , $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) et le flux électron maximal (J_{max} , $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Il est important de noter que les paramètres V_{cmax} et J_{max} ainsi déterminés sont des paramètres apparents, les paramètres réels ne pouvant être déterminés que si la conductance interne est connue.

sous fort éclaircissement ($A-C_i$). Les courbes $A-C_i$ se caractérisent par l'existence de deux phases : une phase de limitation par la concentration en CO_2 et une phase de saturation par la lumière. Il est donc important d'imposer des concentrations en CO_2 suffisamment élevées pour obtenir les deux phases et en particulier pour avoir suffisamment de points sur le segment correspondant à la limitation par RuBP. L'estimation de V_{cmax} est réalisée en ajustant la relation entre A_c et C_i dans la région de la courbe où RuBP est supposé saturant. Cette estimation est dépendante de la valeur choisie pour les constantes cinétiques K_c et K_o et la spécificité de la Rubisco. J_{max} est estimé en ajustant la relation entre A_i et C_i à éclaircissement saturant, dans la région de la courbe où le RuBP est supposé limitant, et où l'assimilation devient peu dépendante de la fraction molaire de CO_2 (**Figure 17**). L'ajustement des courbes théoriques du modèle de Farquhar (1980) aux données expérimentales (courbes $A-C_i$) a été réalisé selon une régression non linéaire par la méthode des moindres carrés, sous le logiciel SAS (Newton method, ProcNLIN, SAS v.8.1, SAS Institute Inc., Cary, NC).

Paramétrisation du modèle

- Les constantes cinétiques de la Rubisco. K_c et K_o sont les constantes cinétiques de Michaelis–Menten de la Rubisco respectivement pour les activités carboxylase et oxygénase. Dans son ouvrage consacré aux modèles biochimiques de photosynthèse foliaire, Von Caemmerer (2000) fournit un tableau récapitulatif de ces paramètres estimés chez les plantes ayant un métabolisme de type C3 et montre que K_c et K_o varient respectivement de 59 et 72 % selon les espèces. Dans la majorité des travaux de modélisation, les paramètres K_c et K_o sont considérés constants chez les plantes C₃, et un couple de valeurs est choisi parmi celles publiées. La spécificité de la Rubisco correspond au rapport entre les vitesses de carboxylation et d'oxygénation lorsque CO_2 et O_2 sont à la même concentration aux sites actifs de l'enzyme. De la même manière que pour les constantes cinétiques de la Rubisco, la spécificité est considérée comme constante chez les espèces en C3 dans la plupart des travaux de modélisation. La variabilité de ce paramètre et les méthodes permettant de l'estimer *in vivo* ont été discutées par Piel (2002). Les valeurs de paramètres utilisées dans cette étude sont présentées dans le **Tableau III**.

- Sensibilité à la température. La plupart des paramètres du modèle répondent à la température foliaire. Pour K_c , K_o , τ et R_d , cette sensibilité peut être formalisée de la façon suivante (Sharpe and DeMichele 1977, Leuning 1997) :

Table III. Liste des paramètres utilisés pour ajuster le modèle de photosynthèse foliaire de Farquhar *et al.* (1980) aux courbes $A-C_i$.

Paramètres	Symboles	Valeurs (Bernacchi <i>et al.</i> 2001) ¹	Valeurs Jordan et Ögren (1984) et von Caemmerer <i>et al.</i> (1994) ²	Unités
Rendement quantique	α	0.24	0.24	Mol e ⁻ mol ⁻¹ photons
Affinité de la Rubisco pour le CO ₂ à 25°C	K_c	40.49	40.00	Pa
Energie d'activation de K_c	$\Delta H_a(K_c)$	79 430	70 000	J mole ⁻¹
Affinité de la Rubisco pour l'O ₂ à 25°C	K_o	27 840	25 000	Pa
Energie d'activation de K_o	$\Delta H_a(K_o)$	36 380	15 000	J mole ⁻¹
Point de compensation pour la photorespiration à 25°C	Γ^*	4.275	3.875	Pa
Energie d'activation de Γ^*	$\Delta H_a(\Gamma^*)$	37 830	27 000	J mole ⁻¹
Equivalent de la concentration en O ₂ dans le chloroplaste	O	21000	21000	Pa

¹ paramètres utilisés dans le *projet de publication 1*. ² paramètres utilisés dans le *projet de publication 3*.

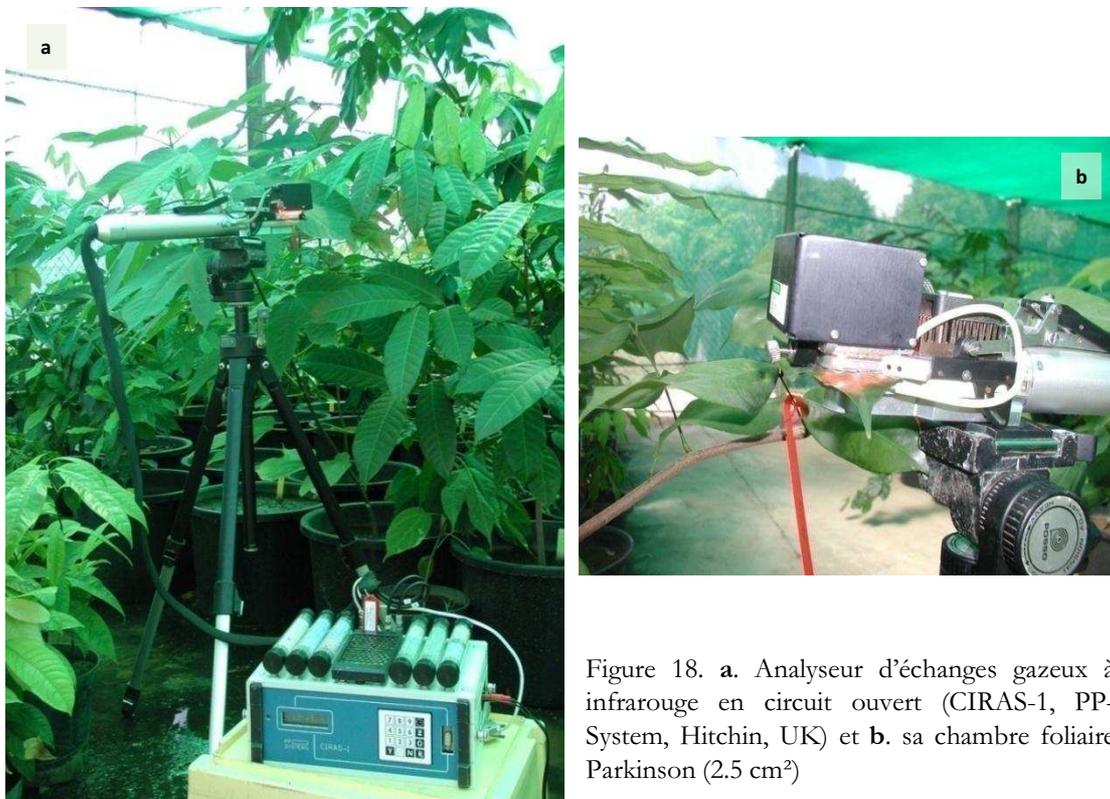


Figure 18. **a.** Analyseur d'échanges gazeux à infrarouge en circuit ouvert (CIRAS-1, PP-System, Hitchin, UK) et **b.** sa chambre foliaire Parkinson (2.5 cm²)

$$P(T) = P(T_{\text{ref}}) \exp[\Delta H_a / RT_{\text{ref}} (1 - T_{\text{ref}} / T)] \quad (7)$$

avec $P(T_{\text{ref}})$ la valeur du paramètre à la température de référence T_{ref} (en général 25°C, 298,16 K), ΔH_a (J mol⁻¹) l'énergie d'activation du paramètre, R (8.3143 J K⁻¹ mol⁻¹) la constante des gaz parfaits et T (K) la température de la feuille.

De la même manière, la sensibilité de V_{cmax} et J_{max} à la température se décrit en ajoutant un terme décrivant les processus de désactivation :

$$P(T) = (P(T_{\text{ref}}) e^{[\Delta H_a / RT_{\text{ref}} (1 - T_{\text{ref}} / T)]} / (1 + e^{[\Delta S T_{\text{ref}} - \Delta H_d / RT_{\text{ref}}]})) \times (1 + e^{[\Delta S T_{\text{ref}} - \Delta H_d / RT_{\text{ref}}]}) \quad (8)$$

avec ΔS (J K⁻¹ mol⁻¹) un terme d'entropie et ΔH_d (J mol⁻¹) l'énergie d'activation des paramètres et $P(T_{\text{ref}})$ la valeur potentielle du paramètre si on ne se trouve pas dans une situation d'inhibition liée aux températures élevées (Leuning 1997, Wohlfahrt et al. 1999).

Afin d'éviter des problèmes de condensation au niveau de la chambre d'échanges gazeux, les mesures ont été réalisées à 30°C.

Dans le *projet de publication 3*, dans le cadre des mesures sur le terrain, les paramètres V_{cmax} et J_{max} , ont été ramenés à une température de référence de 25°C (298.16 K) mais étant donné le manque de données disponibles sur les espèces tropicales, nous avons utilisé les paramètres de réponse à la température calculés par Dreyer *et al.* (2001) pour des semis d'espèces tempérées ($\Delta H_a(V_{\text{cmax}})$ 73 000 J mol⁻¹ ; $\Delta H_a(J_{\text{max}})$ 57 900 J mol⁻¹ ; $\Delta H_a(R_d)$ 32 000 J mol⁻¹). Cette correction n'a pas été effectuée pour les données du *projet de publication 1*.

- La conductance interne foliaire. La fraction molaire de CO₂ utilisée dans le modèle correspond à celle du chloroplaste, au niveau des sites de carboxylation de la Rubisco. On considère que le gradient de fraction molaire entre la cavité sous-stomatique (C_i) et les sites enzymatiques de carboxylation (C_c) est négligeable par rapport au gradient entre l'air ambiant (C_a) et la cavité sous-stomatique (C_i). Par conséquent, il a été considéré que C_i constitue une bonne approximation de C_c . En réalité cette approximation est fautive et le gradient de fraction molaire C_i - C_c ne peut pas être négligé. Il existe à ce jour, six méthodes permettant d'estimer la conductance interne, g_i (Warren 2006) que nous ne détaillerons pas ici. L'une d'elles consiste à utiliser une formulation plus complète du modèle de photosynthèse, intégrant explicitement une résistance/conductance interne pour réaliser les ajustements aux courbes A - C_i (Ethier and

Livingston 2004). Nous avons tenté d'utiliser cette formulation du modèle pour évaluer la résistance interne mais les essais effectués sur nos données n'ont pas été concluants et ont donc été abandonnés. Les valeurs de V_{cmax} et de J_{max} présentées dans cette étude doivent donc être considérées comme des V_{cmax} et J_{max} apparents. Ainsi, V_{cmax} apparent est un paramètre intégrant à la fois une composante métabolique et une composante diffusive. En revanche, l'estimation de J_{max} est très peu dépendante de l'existence d'un gradient entre C_i et C_o , puisque ce paramètre est estimé à une fraction molaire de CO_2 saturante ($C_i > 500 \mu\text{mol mol}^{-1}$).

II.4.2 Les mesures d'échanges gazeux foliaires

Les mesures d'échanges gazeux sont détaillées dans chacun des projets de publications présentés en fin de document et seule la procédure générale est abordée dans ce paragraphe.

Les échanges gazeux ont été mesurés avec un analyseur à infrarouge en circuit ouvert (CIRAS-1, PP-System, Hitchin, UK) équipé d'une chambre foliaire Parkinson (2.5 cm^2) (**Figure 18**). Les courbes $A-C_i$ ont toutes été réalisées sur des feuilles jeunes matures (en général sur l'avant dernière unité de croissance). Pour l'ensemble des expérimentations, la température des feuilles et le déficit de pression de vapeur ont été maintenus respectivement autour de 30°C et de $1,6 \text{ KPa}$. Une densité de flux de photons de $700 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ a été utilisée après avoir vérifié que l'on se trouvait à saturation. L'assimilation nette de CO_2 , A , et la fraction molaire de CO_2 au niveau des chambres sous-stomatiques, C_i , ont été estimées pour une gamme de valeurs de CO_2 atmosphérique (C_a) imposées et croissantes. Pour chaque courbe de réponse un minimum de douze mesures a été effectué. Chaque courbe $A-C_i$ a nécessité de une heure à trois heures de mesures. Les valeurs de respiration foliaire (R_d) ont été mesurées à l'obscurité et utilisées à la place de la respiration estimée par le modèle. L'assimilation nette de CO_2 en lumière saturante, A_{sat} ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), a été mesurée sous des concentrations de CO_2 de $380 \pm 3,7 \mu\text{mole mole}^{-1}$ et un PFD saturant de $700 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ sans que la température de la chambre de mesures et le VPD ne soient imposés (à l'exception des A_{sat} présentés dans les *projets de publications 1 et 3*, qui correspondent aux valeurs d'assimilation mesurées au point de $C_a=380 \mu\text{mole mole}^{-1}$, des courbes $A-C_i$).

Les rapports V_{cmax}/N ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol N}^{-1} \text{ s}^{-1}$), J_{max}/N ($\mu\text{mol e}^- \text{ mmol N}^{-1} \text{ s}^{-1}$) et A_{sat}/N (plus communément noté PNUE, ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol N}^{-1} \text{ s}^{-1}$)) ont été calculés afin d'estimer l'investissement de l'azote foliaire dans la machinerie photosynthétique. L'investissement d'azote dans l'interception de la lumière était estimé par le rapport Chl/N . Ces estimations de PNUE

nous ont semblé plus fiables que le calcul des allocations relatives d'azote foliaire au processus de carboxylation (essentiellement la Rubisco), de la bioénergétique et de l'interception de la lumière, à partir des équations de Niinemets et Tenhunen (1997).

II.4.3 Définition du coût de construction

Le coût de construction d'un organe (tige, feuille, pétiole, racine...) est défini comme la quantité de glucose nécessaire à la fabrication d'un gramme de biomasse de cet organe (Penning De Vries et al. 1974).

Plus précisément, le coût de construction correspond au carbone investi pour permettre la croissance, c'est-à-dire (i) la production de squelettes carbonés et (ii) la respiration de croissance associée à la réduction de ces squelettes.

A partir de la photosynthèse, la plante élabore des substrats (du glucose) :

- Une partie du glucose est utilisée pour la respiration et donc fournit l'énergie nécessaire, sous forme d'ATP et de pouvoir réducteur (NAD(P)H) à (i) la maintenance de la biomasse existante et à l'absorption des minéraux ou à (ii) la croissance, c'est-à-dire aux processus de biosynthèse associés à la production de biomasse.
- L'autre partie du glucose est utilisée pour l'élaboration de squelettes carbonés à l'origine de molécules diverses (acides organiques, sucres structuraux et non structuraux, lignines, protéines, phénols, lipides).

Les tissus végétaux contiennent une très large gamme de composés chimiques que l'on peut catégoriser dans un nombre limité de classes de constituants qui de manière générale représentent 90-95% de la biomasse d'une plante (Chapin III 1989, Poorter and Villar 1997). Dans leur synthèse Poorter et Villar (1997) distinguent 8 catégories : (1) les lipides, (2) les lignines, (3) les phénols solubles (tanins, flavonoïdes), (4) les composés organiques azotés (« protéines », ADN, ARN, chlorophylles et acides aminés), (5) les hydrates de carbone structuraux (cellulose, hémicellulose et pectine), (6) les hydrates de carbone non structuraux (amidon, fructane¹, sucrose, glucose, fructose), (7) les acides organiques et (8) les minéraux. Pour chacune de ces grandes classes de composés une quantité de glucose est exigée pour produire le squelette carboné et pour fournir l'énergie nécessaire aux réactions (ATP et NAD(P)H) selon la voie biosynthétique la plus probable (**Tableau IV**).

¹ Polymère de fructose

Table IV. Quantité de glucose nécessaire pour produire 1 g de composés (données de Penning de Vries *et al.* (1983)). D'après Poorter et Villar (1997).

Classes de composés	Coûts de construction (g glucose g ⁻¹)
Lipides	3.03
Phénols solubles	2.60
Protéines (avec NO ₃ ⁻)	2.48
Lignine	2.12
TSC	1.22
TNC	1.09
Acides organiques	0.91
Minéraux	0.00

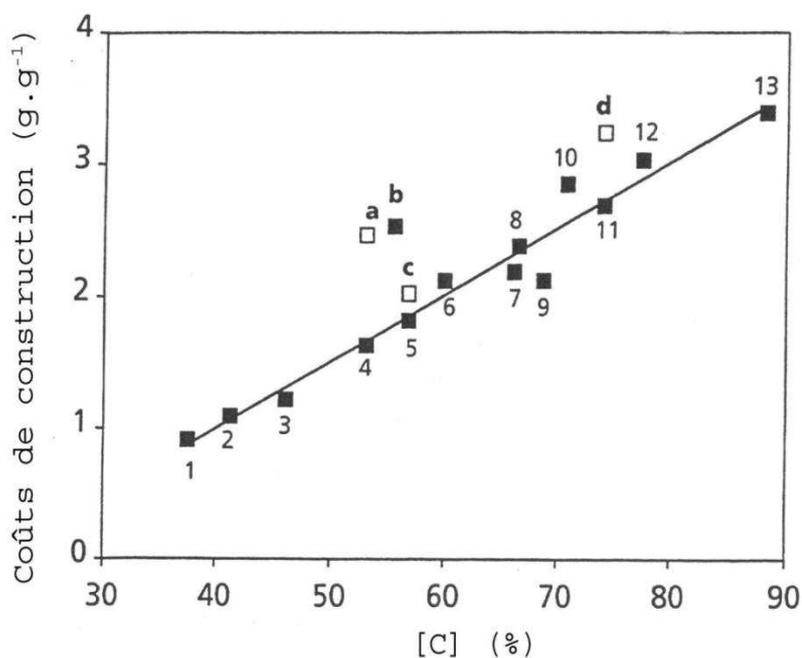


Figure 19 : Rapport entre les coûts de construction et la teneur en carbone des composés modèles de divers groupes de constituants de la biomasse de la plante. 1. Acides organiques ; 2. Glucose/sucrose/amidon ; 3. (Hémi) cellulose ; 4. Protéines (avec NH₄⁺) ; 5. Prunasine (un glucoside cyanogénique) ; 6. Acide caféique (un phénol) ; 7. Chalcone de Narrengenin (un flavonoïde) ; 8. Umbelliferon (une coumarine) ; 9. Lignine ; 10. Diplacol (un flavonoïde) 11. nicotine (avec NH₄⁺, un alcaloïde) ; 12. Lipides ; 13. Limonène (un monoterpène) ; a. Protéines (avec NO₃⁻) ; b. Acide ellagique (un tanin) ; c. Prunasine (avec NO₃⁻) ; d. Nicotine (avec NO₃⁻). La ligne de régression est ajustée sur les points 1 à 13. Les coûts de construction sont tirés de Penning Vries et al. (1974 ; 1983), Merino et al. (1984) ; Lambers et Rychter (1989). Les coûts pour l'acide ellagique correspondent à un essai expérimental (Lambers and Rychter 1989). D'après Poorter (1994).

On utilise à ce jour quatre méthodes d'estimation des coûts de construction :

- Analyse de la composition biochimique totale : on mesure la composition biochimique totale et on pondère chaque concentration de composé par son coût, calculé selon la voie biosynthétique la plus probable. L'ensemble sommé fournit le coût de construction de l'organe ou de la plante considéré(e).

- Estimation du coût par la chaleur de combustion : la méthode calorimétrique repose sur la détermination de la concentration en azote organique, de la teneur en cendres et de la chaleur de combustion du matériel végétal en brûlant un gramme de biomasse dans un microcalorimètre et en mesurant la chaleur qui s'en dégage. Plus il y a de chaleur dégagée, plus le coût de construction est élevé. Ainsi, brûler un gramme de lipides, libère plus d'énergie que brûler un gramme de sucres non structuraux (glucose, fructose, sucrose).

- Analyse de la composition élémentaire. Comme le coût de construction semble étroitement lié à l'état d'oxydation/réduction de la biomasse (McDermitt and Loomis 1981), les composés réduits sont plus coûteux que les composés oxydés. Ainsi, à partir de la composition élémentaire, du degré d'oxydation des constituants de la biomasse et de la forme de l'azote absorbée, on peut calculer le degré de réduction (r) de la matière végétale qui est ensuite utilisé pour estimer le nombre de moles de glucose nécessaires pour fournir le squelette carboné (« équivalent glucose », GE).

- Estimation du coût par la teneur en carbone. Cette estimation qui est de loin la plus simple, est celle que nous avons utilisée. Elle est détaillée dans le paragraphe suivant.

II.4.4 Estimation des coûts de construction par la teneur en Carbone

Description du calcul.

Cette estimation, la plus simple à mettre en œuvre, a été proposée à l'origine par Vertregt and Penning De Vries (1987). Puisque l'état de réduction des différents composés est corrélé à leur teneur en carbone, l'estimation de la teneur en cendres et en carbone de la matière végétale permet d'évaluer le coût de construction de manière satisfaisante. Ainsi, c'est la corrélation entre la teneur en carbone et le coût de construction d'un certain nombre de composés, établie par Poorter (1994), qui est à l'origine de l'équation de calcul des coûts de construction utilisée dans la présente étude (**Figure 19**). Cependant, cette régression n'est valable que si NH_4^+ est la source

exclusive d'azote. En effet, si l'azote provient de l'assimilation de nitrates, la régression n'est plus valide, car le coût des protéines (points a et d) se situe bien au-dessus de la régression. Dans de telles situations, l'azote organique (N_{org}) doit être déterminé séparément et la formule inclut un coût additionnel pour la réduction des nitrates.

Les coûts de construction des différents organes ont ainsi été estimés à partir des teneurs en carbone de ces derniers selon l'approche de Vertregt and Penning De Vries (1987) modifiée par Poorter (1994) :

$$CC = [-1.04 + 5.077C_m/(1 - Min)] \times (1 - Min) + 5.325 \times N_{org} \quad (9)$$

avec CC le coût de construction (g glucose g^{-1} Matière Sèche), C_m la teneur totale en carbone (g g^{-1} MS), Min le contenu en minéraux (g g^{-1} MS) et N_{org} la teneur en N organique (g g^{-1} MS).

La première partie du premier terme correspond à l'équation de la relation linéaire entre les CC et la concentration en C de 13 composés (**Figure 19**). La seconde partie du premier terme corrige la concentration en minéraux contenus dans la biomasse, en supposant la séparation des coûts pour le prélèvement des nutriments et pour la croissance. Le second terme correspond au coût additionnel pour la réduction des nitrates, en faisant l'hypothèse que tout l'azote est assimilé sous forme de nitrates.

Estimation de la composition biochimique.

Les concentrations en C et en N totales (respectivement C_m et N_m , mg g^{-1} MS) sont estimées par analyse élémentaire. En mesurant séparément la concentration en nitrates (N minéral dans les tissus), il est possible d'évaluer la concentration en N organique (N_{org}) à partir de la concentration en N totale. Les minéraux peuvent être assimilés aux cendres (mesurées par calcination).

- Les minéraux. La teneur en minéraux (Min , g g^{-1} MS) est calculée à partir des teneurs en cendres, en nitrates et en carbonates car la masse des cendres ne reflète pas directement la minéralomasse. Lors de la calcination, d'une part les nitrates se volatilisent entraînant une sous-estimation des minéraux de l'échantillon et d'autre part des carbonates issus de la réaction des oxydes avec le dioxyde de carbone atmosphérique apparaissent entraînant alors une surestimation des minéraux de l'échantillon (Barthod 2006).

$$Min = Cendres + NO_3^- - (AA) \times 30 \quad (10)$$

avec *Min* la teneur en minéraux (mg g^{-1} MS), *Cendres* la teneur en cendres (mg g^{-1} MS), NO_3^- la concentration en nitrates (mg g^{-1} MS) et *AA* l'alcalinité des cendres (mEq. g^{-1} MS) multipliée par la masse de carbonates par équivalent de charge (30 mg mEq^{-1})

En considérant que les deux corrections se compensent partiellement, les minéraux, qui ne représentent que 5% de la biomasse végétale, ont été estimés par les teneurs en cendres uniquement. Selon Barthod (2006), cette approximation n'entraînerait qu'une surestimation de 1,5 % en moyenne du *CC*.

- L'azote et le carbone. Les teneurs en N et en C totales (%) sont mesurées à l'aide d'un analyseur élémentaire. Si la concentration en nitrates (soit l'azote inorganique, NO_3^-) est connue, il est possible d'estimer la concentration en azote organique (N_{org}) à partir de la teneur en N. Les nitrates ne représentent en général que quelques pourcents de l'azote total, ainsi assimiler l'azote total à l'azote organique entraîne une surestimation du *CC* de 0,3% en moyenne (Barthod 2006).

Dans le cadre de cette étude il a été difficile d'identifier la source d'azote (nitrate NO_3^- ou ammonium NH_4^+) des espèces étudiées. Si l'azote provient de nitrates et s'il est réduit dans les tiges ou les racines, ce coût de réduction doit alors être inclus. La réduction des NO_3^- dans les feuilles, durant la journée se fait aux dépens des équivalents réducteurs générés dans les chloroplastes alors que dans les organes non photosynthétiques (et dans les feuilles à l'obscurité), la réduction des NO_3^- utilise le pouvoir réducteur généré par l'oxydation du glucose. Nous avons fait le choix de réaliser une estimation en considérant systématiquement une nutrition sous forme de NO_3^- (au risque au contraire de surestimer les valeurs pour certaines espèces).

En tenant compte des différentes approximations décrites ci-dessus, l'équation ayant permis l'estimation des coûts de construction présentée dans cette étude est la suivante :

$$CC = [-1.04 + 5.077C_m / (1 - Cendres)] \times (1 - Cendres) + 5.325 \times N_m \quad (11)$$

avec *CC* le coût de construction (g glucose g^{-1} Matière Sèche), C_m la teneur totale en carbone (g g^{-1} MS), *Cendres* la teneur totale en cendres (g g^{-1} MS) et N_m la teneur totale en azote (g g^{-1} MS).

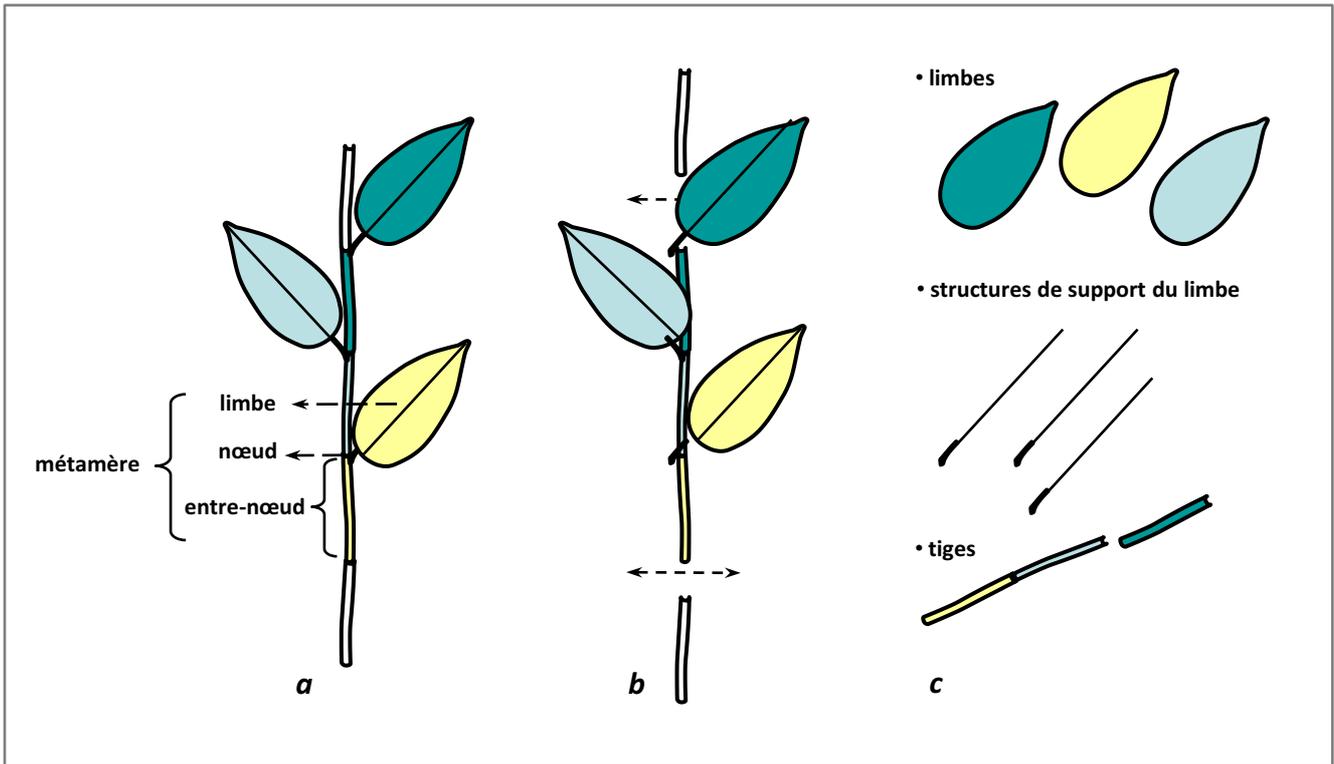


Figure 20: Représentations schématiques de (a) l'organisation d'un métamère (phyllotaxie alterne), (b) du prélèvement de 3 métamères et de (c) la séparation des organes en trois compartiments. Dans le cas d'une phyllotaxie opposée on prélève 2 feuilles et deux pétioles par métamère. Dans le cas de feuilles composées, le rachis remplace la nervure principale.

Les limites de cette estimation.

Notre estimation des coûts de construction a certaines limites et certaines incertitudes (Poorter 1994). On notera principalement le caractère « statique » de cette estimation. En effet, les *CC* sont estimés à partir de la composition chimique de l'organe au moment du prélèvement et la dépense d'énergie pour le maintien des composés soumis à un turnover n'est pas prise en compte (Penning De Vries et al. 1974). De la même manière, la redistribution de composés plus tard au cours de la vie de la feuille peut engendrer des différences entre les coûts réels et les coûts calculés (Chapin III 1989).

II.4.5 Échantillonnage et mesures des concentrations totales en *N*, *C* et cendres

Sur chacun des individus étudiés (10 individus x 3 traitements de lumière x 13 espèces), une portion de l'axe principal (tige, pétioles ou rachis et feuilles matures) a été prélevée. Le nombre de métamères récoltés (1 nœud et 1 entrenœud) différait selon les espèces et les individus de façon à récolter suffisamment de matériel végétal pour les analyses. Ainsi, par exemple, seulement un métamère a été prélevé sur chaque *Bagassa gnianensis*, une espèce à larges feuilles opposées décussées, alors que 11 métamères en moyenne ont dû être prélevés sur *Hymenaea courbaril* en raison de la petite taille des pétioles de cette espèce. Les différents organes prélevés ont ensuite été séparés en 3 compartiments : (i) le limbe, (ii) les structures de support, à savoir la nervure principale et le pétiole (ou uniquement le rachis dans le cas des feuilles composées) et (iii) la tige (**Figure 20**).

La surface des limbes (cm²) a été immédiatement mesurée à l'aide d'un planimètre LiCor 3000A (LiCor Inc, Lincoln, Nebraska). Les trois compartiments ont ensuite été placés dans une étuve à 60°C (48h pour les limbes et des durées variables selon leur taille pour les deux autres compartiments). Le rapport entre masse sèche des différents compartiments et la surface de la feuille déployée a ensuite été calculé (*LMA*, *PMA*, *SMA* et *MMA* respectivement pour les limbes, les pétioles, les tiges et l'ensemble du métamère, g MS m⁻²). Les concentrations totales (%) en *N* et en *C* de chacun des compartiments ont été mesurées à l'aide d'un analyseur élémentaire (ThermoQuest NA 1500 NCS, Carlo Erba, Italie) à partir d'échantillons de poudre homogène (obtenue après passage des échantillons secs au broyeur à billes). La teneur en cendres a été mesurée par combustion d'un aliquote de poudre dans un four à céramique à 550°C pendant 3H.

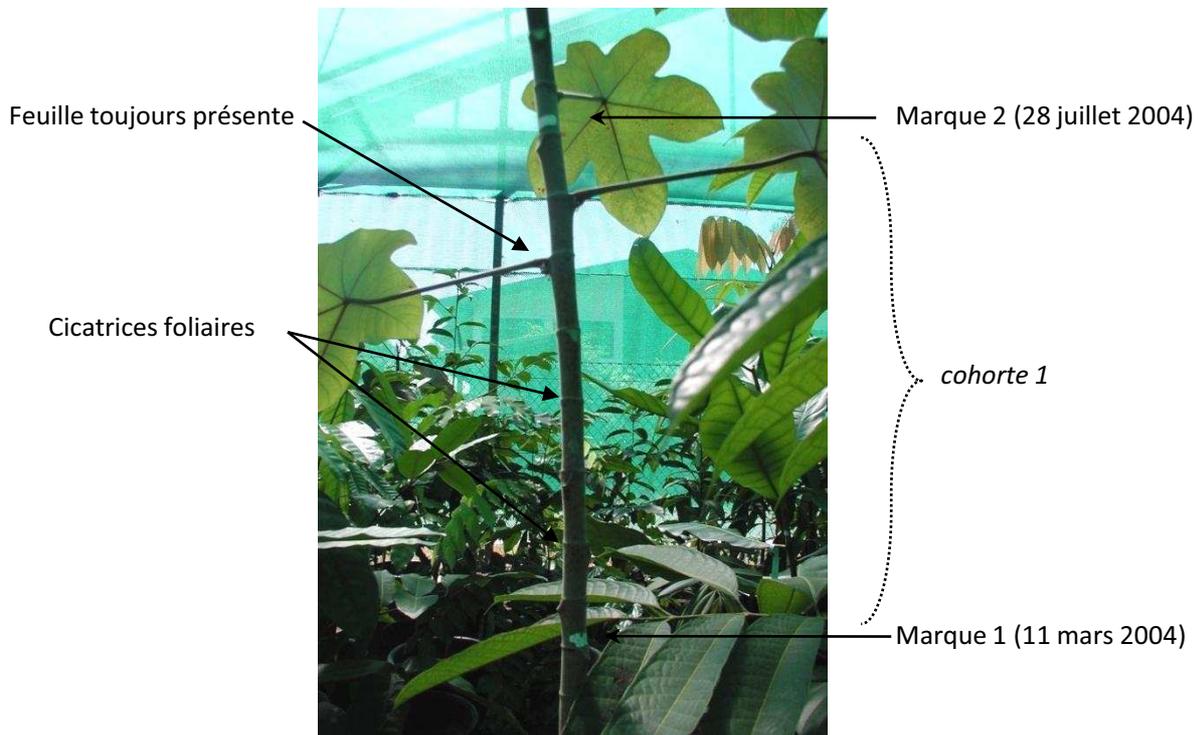


Figure 21: Illustration de la délimitation d'une cohorte de feuilles chez *Cecropia obtusa*. Une cohorte de 8 feuilles est délimitée par deux marques à la peinture blanche sur l'axe principal. Parmi les 8 feuilles suivies, on distingue que 6 d'entre elles sont déjà tombées.

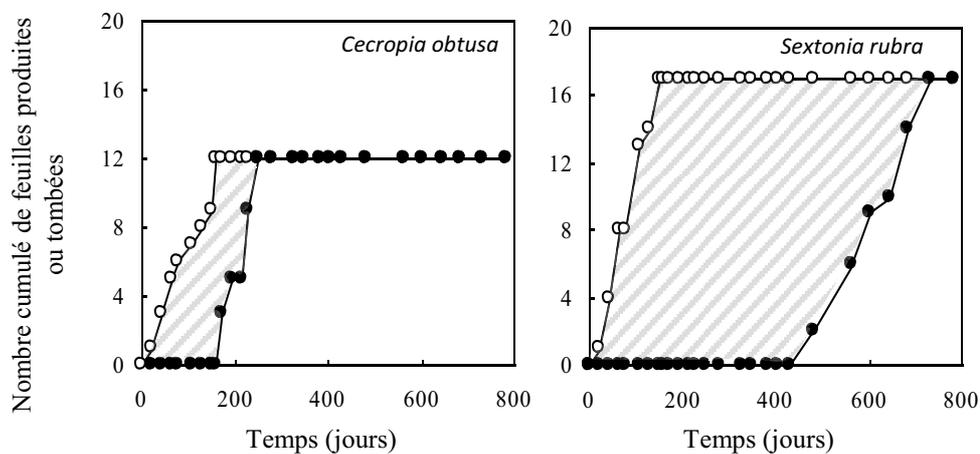


Figure 22 : Nombre cumulé de feuilles produites (en blanc) et tombées (en noir) au cours du temps, pour deux individus appartenant à deux espèces différentes. La durée de vie est estimée comme le rapport de la surface hachurée sur le nombre total de feuilles suivies. Pour *Cecropia obtusa*, la durée de vie, estimée sur une cohorte de 12 feuilles est égale à 115 jours. Pour *Sextonia rubra*, la durée de vie, estimée sur une cohorte de 17 feuilles, est égale à 518 jours.

II.5 L'approche coût-bénéfice.

II.5.1 La durée de vie des feuilles

Afin d'estimer la durée de vie des feuilles (*LLS*, jours), une feuille (très jeune) de l'axe principal a été marquée au début de l'expérimentation (11 mars 2004). De nouvelles marques ont ensuite été effectuées sur l'axe suivi à 4 mois d'intervalle environ. Au total quatre marques ont ainsi été mises en place, délimitant alors trois cohortes de feuilles différentes (**Figure 21**). Toutes les feuilles apparues et disparues dans chacune des trois cohortes ont été comptées régulièrement pendant 25 mois (tous les 15 jours-3 semaines pendant la première année et entre 30 et 60 jours pendant la deuxième). Seuls les résultats des comptages effectués sur la première cohorte (11 mars – 28 juillet 2004) ont été présentés, le taux de disparition de feuilles étant bien trop faible dans les deux autres pour permettre ce calcul.

La durée de vie moyenne d'une feuille peut ensuite être estimée comme étant l'intervalle de temps moyen entre le nombre cumulé de feuilles produites et celui de feuilles tombées. Cette méthode semble efficace pour des espèces à feuilles à longue durée de vie (Cornelissen et al. 2003a). Concrètement, pour un nombre n de feuilles fixé par cohorte, *LLS* a été estimée comme la surface moyenne délimitée par les courbes de production et de chute des n feuilles dans le temps, divisée par n , (**Figure 22**). Plus de détails sont disponibles sur cette méthode graphique dans l'article de Navas et al. (2003). Malheureusement, puisqu'un certain nombre d'individus possédaient encore des feuilles sur la cohorte suivie à la fin de l'expérimentation (i.e. les n feuilles n'étaient pas tombées), un ajustement du modèle a été nécessaire pour ces cas :

- Quand moins de la moitié des feuilles de la cohorte étaient tombées, la durée de vie moyenne des feuilles de l'individu concerné a été estimée comme étant supérieure à 780 jours.

- Quand plus de la moitié des feuilles de la cohorte étaient tombées, *LLS* n'a pas été estimé à partir de n (le nombre total de feuilles de la cohorte) mais à partir du nombre de feuilles tombées (i.e. la cohorte a été réduite *a posteriori*), en faisant la supposition que les premières feuilles apparues étaient également les premières à tomber.

La durée de vie des feuilles des espèces dans chacun des traitements a ensuite été estimée par la médiane des *LLS* de chaque individu.

II.5.2 Le temps de retour sur investissement (“payback time”)

A l'échelle de la feuille, le temps nécessaire pour "rembourser" la quantité de glucose utilisée pour sa construction, appelé temps de retour sur investissement ou « payback time » (*PBT*, jours), a été calculé d'après l'équation proposée par Poorter, Pepin et al. (2006a) :

$$PBT = [CC_{L,m} \times (72 / 180)] / (A_{est} \times 12) \quad (12)$$

avec $CC_{L,m} \times (72/180)$ le produit du coût de construction spécifique (g glucose g⁻¹ MS) par le rapport des masses molaires des 6 C du glucose sur la masse molaire totale du glucose (g C g⁻¹ MS), $A_{est(0)}$, l'assimilation nette journalière à t_0 (mol CO₂ g⁻¹ MS j⁻¹) et 12 la masse molaire du C.

L'assimilation nette journalière (A_{est} , μmol g⁻¹ MS j⁻¹) a été estimée selon :

$$A_{est} = \int A - \int R_d \quad (13)$$

avec $\int A$ l'assimilation nette de CO₂ intégrée sur une journée (12H) et $\int R_d$ la respiration intégrée sur une nuit (12H). L'assimilation nette de CO₂ dépend de l'éclairement relatif, selon :

$$A = \left(\left[\phi I + (A_{sat} + R_d) - \sqrt{\{(\phi I + (A_{sat} + R_d))^2 - 4\theta\phi(A_{sat} + R_d)I\}} / 2\theta \right] - R_d \right) \quad (14)$$

avec ϕ le rendement quantique apparent, I l'éclairement relatif, A_{sat} la vitesse d'assimilation nette de CO₂ en lumière saturante, θ la courbure de l'hyperbole non rectangulaire et R_d la respiration.

Les mesures d'assimilation nette de CO₂ en lumière saturante (A_{sat} , μmol CO₂ m⁻² s⁻¹) ont été réalisées sur de jeunes feuilles matures (les feuilles marquées le 11 mars 2004 (§ II.6.1) et donc âgées de deux mois environ) en mai 2004 (Voir § II.4.2 pour plus de détails sur les mesures d'échanges gazeux). Pour calculer $\int A$, les données de la seconde campagne de mesures d'éclairement relatif (septembre 2004) ont été utilisées pour calculer une valeur moyenne de I (l'éclairement relatif) à intervalles de 15 min sur une journée et ce, pour chacun des traitements, t_5 , t_{10} et t_{20} . Une journée de 12H (6H30 à 18H30), est ainsi constituée de 49 valeurs de I différentes (**Figure 23**). Puisque nous ne disposions pas d'un jeu de données de courbes A -PAR complet (assez de répétitions par espèce et par traitement) nous avons utilisé un rendement quantique apparent, ϕ , égal à 0,05 mol C mol⁻¹ photons et un indice de courbure, θ , égal 0,80

pour l'ensemble des espèces. Ces valeurs correspondent aux valeurs moyennes mesurées sur 106 courbes A -PAR réalisées sur des feuilles d'âges et d'espèces différents et sous différents éclairagements relatifs. Cependant, les valeurs obtenues sont extrêmement proches de celles utilisées par Poorter et al. (2006a). De la même manière, puisque nous ne disposions pas d'une chambre de mesures adaptée (Pons and Welschen 2002), nous avons choisi de ne pas utiliser nos propres estimations de respiration (pas assez précises et très variables) et d'utiliser la respiration comme une fraction fixe de la photosynthèse saturante (A_{sat}). La valeur de 7 % que nous avons utilisée, également employée par Poorter, Pepin et al. (2006a) correspond à la valeur médiane de nos mesures. Cependant nous sommes conscients qu'en raison de la variabilité interspécifique de R_d , il existe un biais dans notre estimation de la respiration réelle.

II.5.3 Théorie de l'optimisation de la durée de vie des feuilles

Le modèle de Kikuzawa (1991, 1995), cadre théorique

Dans le modèle proposé par Kikuzawa (1991, 1995) le gain cumulé de C réalisé par un individu (arbre) doit être maximisé. Ce modèle repose sur l'hypothèse qu'un arbre possède un nombre défini de feuilles, et qu'une nouvelle feuille ne peut être mise en place qu'après la chute d'une ancienne. Dans ces conditions, pour maximiser son gain cumulé, l'arbre doit remplacer ses feuilles quand leur gain marginal est maximal (**Figure 24**). Le gain marginal d'une feuille (g) est la dérivée de la fonction $G = f(t)$ où G est le gain cumulé. g peut ainsi être décrit par :

$$g = G/t = \left(\int_0^t p(t) dt - C \right) / t \quad (15)$$

avec $p(t)$ l'assimilation photosynthétique nette journalière à la date t , et C le coût de construction de la feuille.

On fait l'hypothèse que l'assimilation photosynthétique ($p(t)$) décroît avec le temps après l'expansion de la feuille, et que cette décroissance est linéaire :

$$p(t) = a(1 - t/b) \quad (16)$$

avec a l'assimilation photosynthétique de la feuille jeune et b le temps au bout duquel l'assimilation photosynthétique devient nulle.

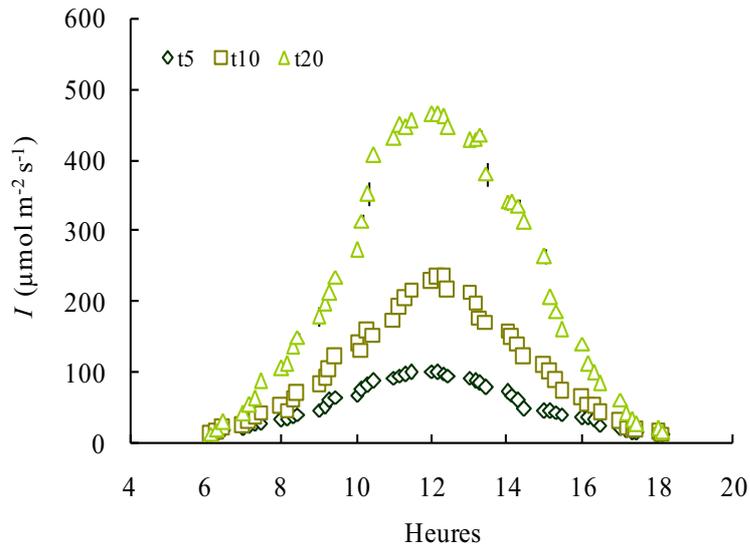


Figure 23: Evolution de l'éclairement relatif (rayonnement photosynthétiquement actif, I , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) au cours d'un journée type au sein des trois traitements de lumière: t_5 , t_{10} et t_{20} . Les points correspondent à des valeurs moyennes d'éclairements relatifs calculées toutes les 15 minutes (moyenne des mesures enregistrées toutes les minutes) et tout au long d'une journée type (moyenne de 3 jours de mesures). Une journée type de 12H, de 6H30 à 18H30, est ainsi constituée de 49 valeurs de I différentes. Les mesures de I sont issues de la campagne de septembre 2004, réalisée à l'aide de capteurs instantanés du PAR.

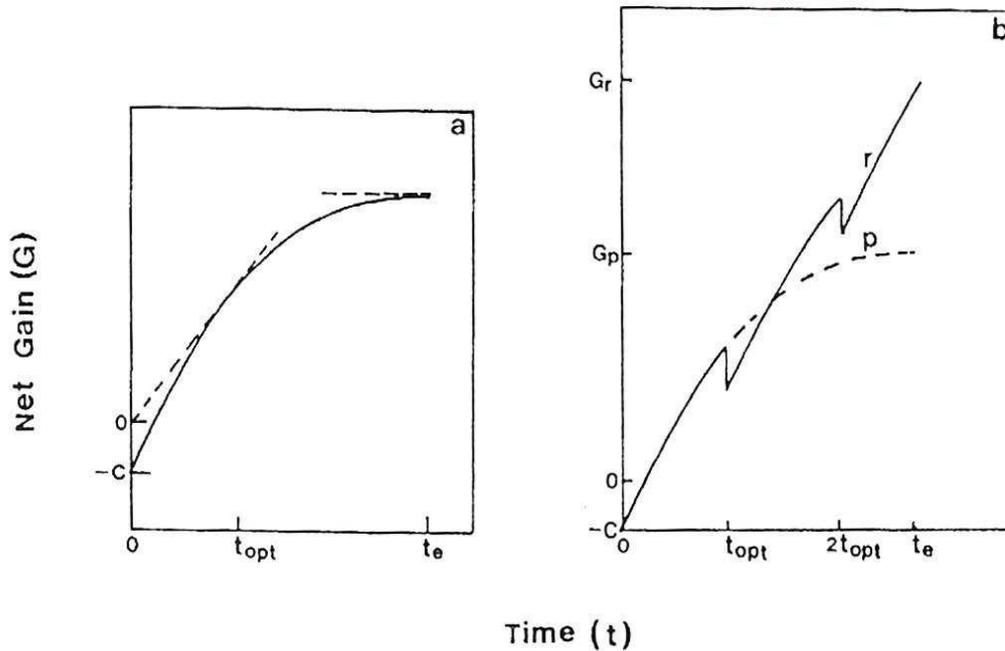


Figure 24: Représentation schématique de la courbe du gain net par feuille (G) en fonction du temps (t). **a.** Au temps zéro, le gain net est négatif en raison du coût de construction, puis il augmente rapidement au début puis plus graduellement en raison de la diminution des capacités photosynthétiques avec l'âge de la feuille. Pour maximiser le gain net par arbre, la feuille doit être remplacée lorsque la tangente partant de l'origine touche la courbe (en t_{opt}). Remplacer la feuille quand le gain net quotidien devient égal à zéro (t_e) ne permet pas de maximiser les gains de l'arbre. **b.** Comparaison des gains nets d'arbres qui remplacent (r) ou qui maintiennent (p) leurs feuilles. Le gain net d'un arbre qui remplace ses feuilles (G_r) à $t = t_{\text{opt}}$ est plus important que celui d'un arbre qui maintient ses feuilles (G_p) jusqu'à $t = t_e$. D'après Kikuzawa (1991)

Le temps t permettant de maximiser g dans l'équation (14) est considéré comme étant la durée de vie optimale de la feuille t_{opt} permettant de maximiser le gain de C de l'arbre. Le paramètre b , également appelé « durée de vie potentielle » (Kikuzawa and Ackerly 1999), est une extrapolation statistique. En substituant $p(t)$ (15) dans l'équation (14) et en différenciant selon t , on obtient une expression de la durée de vie optimale t_{opt} :

$$t_{opt} = [2bC/a]^{0,5} \quad (17)$$

A partir de l'équation (17), on peut immédiatement prédire que : (i) t_{opt} est faible quand le gain photosynthétique initial est élevé, ii) t_{opt} augmente avec le coût de construction C de la feuille et iii) t_{opt} est faible pour des feuilles dont la capacité de photosynthèse diminue rapidement (a/b élevé).

Estimation de la durée de vie optimale

Nous avons estimé t_{opt} comme « la durée de vie optimale » (rebaptisée L_{opt} dans cette étude, Kikuzawa 1991, Kikuzawa 1995, Kikuzawa and Ackerly 1999), qui permet de maximiser le gain de C pour un arbre en remplaçant ses feuilles lorsque les capacités photosynthétiques diminuent, selon l'équation :

$$L_{opt} = [(2b \times (CC_L m \times 72 / 180)) / (A_{est} \times 12)]^{0,5} \quad (18)$$

avec b le temps au bout duquel les capacités photosynthétiques sont égales à zéro (en jours), $CC_L m \times (72/180)$ le produit du coût de construction spécifique (g glucose g^{-1} MS) par le rapport des masses molaires des 6 C du glucose et de la masse molaire totale du glucose (g C g^{-1} MS), A_{est} l'assimilation nette journalière des feuilles jeunes mais matures (base pondérale, mol CO_2 g^{-1} MS j^{-1}) et 12 la masse molaire du C.

Le paramètre b a été estimé à partir de l'évolution de l'assimilation nette sous éclairage saturant (A_{sat}) dans le temps (**Figure 25**), en faisant l'hypothèse d'un strict parallélisme entre les évolutions temporelles de A_{sat} et de A_{est} . Pour cela des mesures de A_{sat} ont été répétées entre 3 et 4 fois (selon les espèces concernées) dans le temps : (1) mai 2004 (c'est la campagne de mesures décrite dans le § II.6.2, et donc celle utilisée pour calculer A_{est}) ; (2) septembre-novembre 2004 ; (3) janvier-mars 2005 (pour *C. obtusa* et *B. guianensis* uniquement) ; (4) avril-juin 2005 et (5) mai 2006 (pour 6 espèces et essentiellement à t_5 et t_{10} , lorsque les diminutions de A_{sat} dans le temps étaient

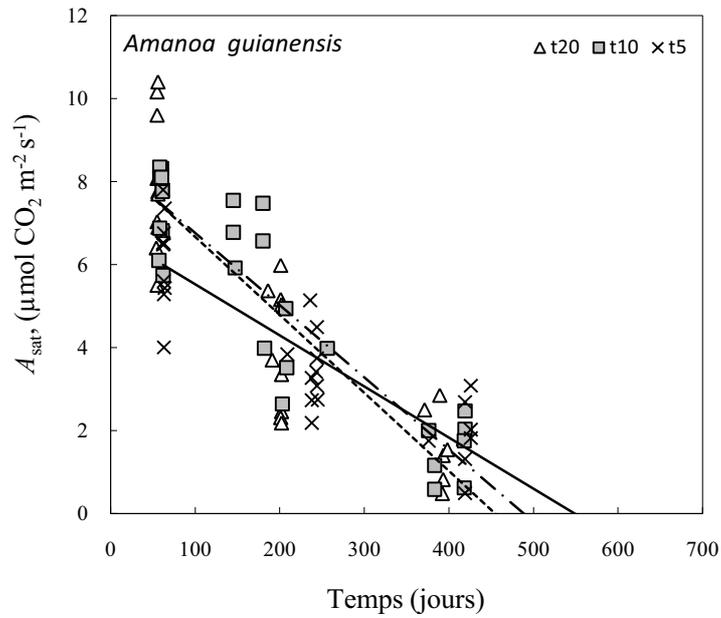


Figure 25: Evolution de l'assimilation nette en lumière saturante (A_{sat} , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) avec l'âge des feuilles (en jours) pour l'espèce *Amanoa guianensis* dans les trois traitements d'éclairage relatif, t_5 , t_{10} et t_{20} . Les valeurs correspondent à des mesures répétées de A_{sat} (5 à 10 individus par date) dans le temps. Des régressions linéaires ont été utilisées pour déterminer le temps au bout duquel A_{sat} devient nul, b (jours). Pour *Amanoa guianensis* les valeurs de b sont 549, 489 et 455 jours, respectivement pour les traitements t_5 , t_{10} et t_{20} .

très lentes : *Eperua falcata*, *Pradosia cochlearia*, *Protium opacum*, *Symphonia globulifera*, *Sextonia rubra* and *Vouacapoua americana*). A chaque date, entre 5 et 10 individus par espèce et par traitement ont été mesurés.

II.5.4 Prise en compte des CC des structures de support

Le coût de la mise en place de la surface assimilatrice ne se limite pas au coût de construction du limbe mais inclut également les coûts des structures de support de ce limbe que sont le pétiole (ou rachis) et la tige. Ainsi nous avons également estimé le coût de construction du métamère comme la somme des coûts des limbes, des pétioles et des entrenœuds correspondants (**Figure 20**) exprimée par unité de surface assimilatrice ($CC_{met,a}$, g glucose m^{-2}) ou par unité de masse ($CC_{met,m}$, g glucose g^{-1}).

$$CC_{met,a} = (SMA \times CC_s m) + (PMA \times CC_p m) + (LMA \times CC_L m) \quad (19)$$

$$CC_{met,m} = (b_s \times CC_s m) + (b_p \times CC_p m) + (b_L \text{ limbe} \times CC_L m) / (b_s + b_p + b_L) \quad (20)$$

avec $CC_s m$, $CC_p m$ et $CC_L m$, respectivement les coûts de construction spécifiques des tiges, pétioles et limbes (g glucose g^{-1}); SMA , PMA et LMA , respectivement les rapports des biomasses des tiges, pétioles et limbes sur la surface de limbe déployée (g MS m^{-2}) et b_s , b_p et b_L , les biomasses respectives des tiges, pétioles et limbes (g MS)

Le temps de retour sur investissement (PBT_{met}) et la durée de vie optimale (Lop_{met}) ont également été calculés en incluant les coûts des structures de support, en remplaçant les $CC_L m$ par les $CC_{met,m}$ dans les équations (19) et (20).

II.6 Les traits structuraux

Après chaque mesure de capacités photosynthétiques (V_{cmax} et J_{max}) et sur chaque feuille prélevée pour l'estimation de coûts de construction, des mesures de caractéristiques foliaires ont été réalisées.

Avant la récolte, l'épaisseur (μm) de chaque feuille a été estimée comme la valeur moyenne des quatre mesures effectuées à l'aide d'un micromètre digital (Digimatic micrometer, Mitutoyo, Japon) en prenant soin d'éviter les nervures principales. Immédiatement après récolte, la masse fraîche (g) de chacune des feuilles (ou morceaux de feuille) a été pesée et la surface a ensuite été

mesurée avec un planimètre (LiCor 3000A, LiCor Inc. Lincoln, Nebraska). Les mêmes feuilles ont ensuite été placées 48H dans une étuve à 60°C, avant de peser leur masse sèche (g). A partir de ces données, la masse surfacique foliaire (LMA , $g\ m^{-2}$), la densité foliaire (LMA /thickness, $g\ cm^{-3}$) et le rapport de la masse sèche sur la masse fraîche (« leaf dry matter content », $LDMC$, $mg\ g^{-1}$) ont été calculés.

La concentration en chlorophylle foliaire a été estimée à l'aide d'un « chlorophylle-mètre », le SPAD-502 (MINOLTA, Osaka, Japon). Le SPAD-502 mesure la transmittance lumineuse de la feuille à deux longueurs d'ondes : 650 nm et 940 nm. Quatre mesures ont été réalisées sur chacune des feuilles juste avant prélèvement et les concentrations en chlorophylle foliaire (a+b) ont été estimées à l'aide de courbes d'étalonnage préalablement établies sur chacune des espèces étudiées (*Annexe 2*).

Les concentrations totales en N (N_m , $mg\ N\ g^{-1}$) et en C (C_m , $mg\ C\ g^{-1}$) ont été mesurées avec un analyseur élémentaire (ThermoQuest NA 1500 NCS, Carlo Erba, Italie), à partir de poudre de feuilles préalablement séchées à l'étuve. La composition isotopique en C foliaire ($\delta^{13}C$), exprimée comme la différence par rapport au standard PDBlemnite ($\delta^{13}C$, ‰) a été estimée sur les mêmes échantillons avec un spectromètre de masse (ΔS , Finnigan Mat, Brême, Allemagne) à l'Inra de Nancy.

II.7 La plasticité phénotypique

La plasticité des traits étudiés a été quantifiée pour chacune des espèces à l'aide d'un indice de plasticité proposé par Valladares et al. (2006) : l'indice de plasticité basé sur les distances relatives (Relative Distance Plasticity Index, RDPI, sans dimension). Cet indice varie entre 0 (pas de plasticité) et 1 (plasticité maximale) et a été calculé pour chaque trait et chaque espèce comme la distance relative moyenne entre les différents phénotypes :

$$RDPI = \sum (|x_{ij} - x_{i'j'}| / (x_{ij} + x_{i'j'})) / n \quad (21)$$

avec x_{ij} la valeur de trait de l'individu i dans l'environnement j (2 ou 3 environnements dans cette étude); $|x_{ij} - x_{i'j'}|$ la valeur absolue de la différence entre deux valeurs de traits calculée pour toutes les paires d'individus vivant dans des environnements différents ($i \neq i'$), et n le nombre total de paires. Les propriétés de cet indice sont plus amplement détaillées dans Valladares et al. (2006).

II.8 Les expérimentations sur le terrain

II.8.1 Site de l'étude

Cette étude a été réalisée sur le site expérimental de Paracou (5°18' N, 52°55' W) (Gourlet-Fleury et al. 2004), dans la partie nord de la Guyane française, ainsi que sur des sites voisins. Le climat y est caractérisé par une longue saison des pluies de décembre à août, interrompue en février par une courte saison sèche, suivie par une longue saison sèche de septembre à novembre. La moyenne des précipitations annuelles est de 2875 mm (moyenne de 1986 à 2005, écart type = 540 mm), dont près des deux tiers sont reçus entre mi-mars et mi-juin (Bonal et al. 2000, Baraloto et al. 2007). Les températures sont stables tout au long de l'année, avec une moyenne de 26°C et des variations d'un mois à l'autre inférieures à 2°C. L'humidité atmosphérique est très élevée (80 à 90%). Comme partout sur les Terres Hautes de Guyane, les conditions climatiques anciennes à actuelles ont favorisé une altération poussée de tous les minéraux primaires et déterminé la formation de sols ferralitiques sur la grande majorité du dispositif (Gourlet-Fleury et al. 2004). La plupart des horizons supérieurs ont ainsi les caractéristiques générales des vieilles couvertures ferralitiques : de bonnes propriétés physiques (macro et microporosité importantes) dues à une structure microagrégée des constituants élémentaires (kaolinite, gibbsite, hématite, goéthite, quartz) et une fertilité chimique très faible [faible capacité d'échange cationique, acidité marquée (pH compris entre 4 et 4,5), abondance de l'aluminium échangeable et forte rétention du phosphore sur les oxydes de fer (Morneau 2006)].

II.8.2 Choix des espèces et sélection des individus

Les espèces *Dicorynia guianensis* Amshoff et *Tachigali melinonii* (Harms) Barneby, appartenant toutes deux à la famille des Caesalpiniaceae, ont été choisies en raison de leur abondance relative et de leur capacité à s'établir à la fois en sous bois et dans les zones dégagées. Elles ont toutes deux une tendance héliophile (particulièrement *T. melinonii*) mais ne sont pas des pionnières (Molino and Sabatier 2001). *D. guianensis* est fréquemment considérée comme une espèce hémi-tolérante à l'ombre (Falster and Westoby 2003, Roggy et al. 2005).

Afin d'appréhender la variabilité des traits foliaires liée à l'ontogénèse, des individus appartenant à trois stades de développement (*ASD*) différents ont été sélectionnés dans chacune des deux espèces (**Figure 26**). Les trois stades étudiés étaient: (1) *ASD1*, semis avec un axe principal non ramifié ; (2) *ASD2*, semis avec un axe principal ramifié (mais avec des axes d'ordre 2 non

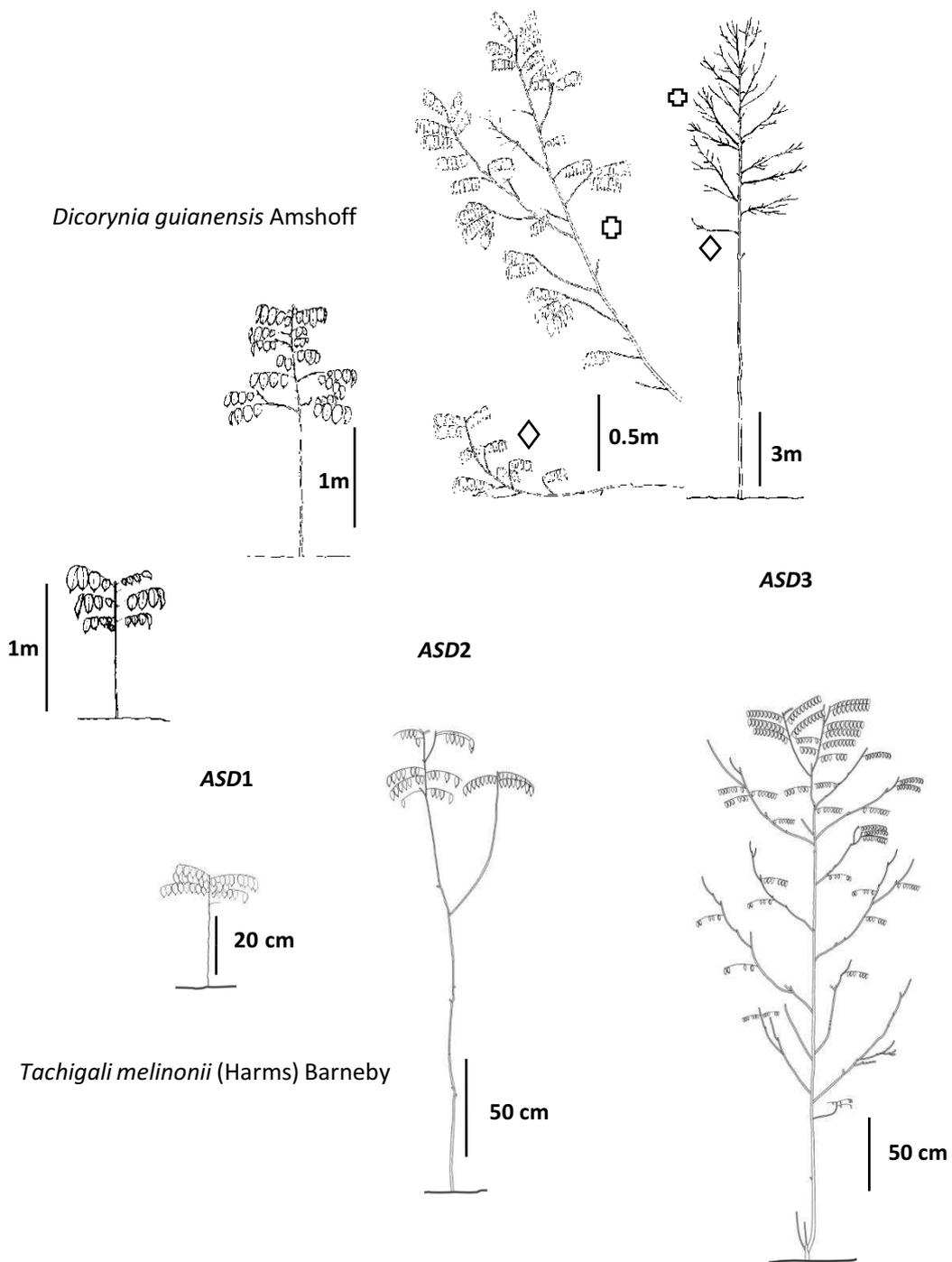


Figure 26. Stades de développement architecturaux (*ASD*) de *Dicorynia guianensis* et *Tachigali melinonii*: *ASD1*: semis non ramifiés; *ASD2*: semis avec des ramifications sur l'axe principal (les axes d'ordre 2 ne sont pas ramifiés); *ASD3*: jeunes arbres (losange: axes séquentiels ; croix: axes réitérés).

ramifiés) et (3) *ASD3*, semis, ou jeunes arbres avec une ramification abondante et régulière sur l'axe principal. Ce stade correspond à la « métamorphose architecturale » (Barthélémy et al. 1989) au cours de laquelle un arbre passe d'un système organisé autour d'un seul axe principal à un système organisé autour de plusieurs branches maîtresses. De juillet à août 2000, 23 individus ont été échantillonnés pour *D. guianensis* et pendant les mois de mars, avril 2003 et janvier 2004, 47 individus pour *T. michelii*.

II.8.3 Caractérisation de l'éclairement relatif

La densité de flux de photons (DPF , $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) a été mesurée à l'aide de capteurs instantanés de rayonnement dans le PAR (Solems PAR/CBE 80, S.A., Palaiseau, Fr.) positionnés au-dessus de chaque plant (ou de plusieurs plants quand ceux-ci étaient voisins), et comparée aux mesures d'un capteur de référence positionné dans une clairière voisine. Les mesures ont été réalisées pendant 30 jours consécutifs du 30 juillet au 18 août 2000 pour *D. guianensis* et pendant 3 jours consécutifs entre mars et avril 2004 pour *T. melinonii*. A partir des DPF quotidiens moyens ($\text{mol m}^{-2} \text{j}^{-1}$), l'éclairement relatif (DPF_{rel} , % du plein éclairement) a été estimé pour chacun des individus étudiés.

III. Résultats-Discussion

III.1 Diversité interspécifique des traits fonctionnels foliaires

La diversité interspécifique des traits foliaires a été abordée dans les *projets de publication 1 et 2*, mais dans les deux cas elle a été traitée simultanément avec l'effet de l'éclairement relatif (*via* l'effet des trois traitements t_5 , t_{10} et t_{20}). Par souci de clarté, dans cette partie, la diversité des traits entre espèces ne sera détaillée qu'à un éclairement donné, correspondant à 20% du rayonnement solaire (t_{20}). Ce traitement semble en effet le plus pertinent dans le cadre d'une étude comparative, puisque c'est sans aucun doute le moins limitant des trois, mais également celui qui se rapproche le plus de la gamme d'éclaircements supposée optimale pour la croissance des plantules de FTH (25-45 %, Barigah et al. 1998, Poorter 1999).

III.1.1 Le coût de construction du métamère

Le coût nécessaire au déploiement de la feuille ne dépend pas uniquement du coût de construction du limbe mais également de celui des structures permettant son support ; par conséquent nous avons décidé de calculer le coût de construction nécessaire à la production d'un nouveau métamère ($CC_{met,a}$, $g_{glucose} m^{-2}$). Ce coût dépend (1) des coûts de construction spécifiques ($g_{glucose} g^{-1}$) du limbe et des structures de support (pétioles et tiges) et (2) du rapport entre la biomasse du métamère et la surface déployée.

Coûts de construction spécifiques

Les coûts de construction spécifiques (CC_m $g_{glucose} g^{-1}$) ont été calculés à partir de mesures des teneurs en carbone, cendre et azote (Penning De Vries et al. 1974, Poorter 1994). Cette procédure a déjà été mise en application un grand nombre de fois et sur une large gamme d'espèces (Niinemets 1999b, Navas et al. 2003, Barthod and Epron 2005, Poorter et al. 2006a, Barthod and Epron *in prep.*). Pour le calcul, nous avons considéré que le nitrate (NO_3^-) était la source exclusive d'azote de nos plants et que par conséquent il fallait intégrer le coût supplémentaire lié à sa réduction dans les tissus non photosynthétiques. Les valeurs ainsi obtenues, sont donc probablement supérieures aux valeurs réelles puisque les espèces étudiées semblent capables d'utiliser le nitrate et/ou l'ammonium du sol (Schimann et al. 2008) et que

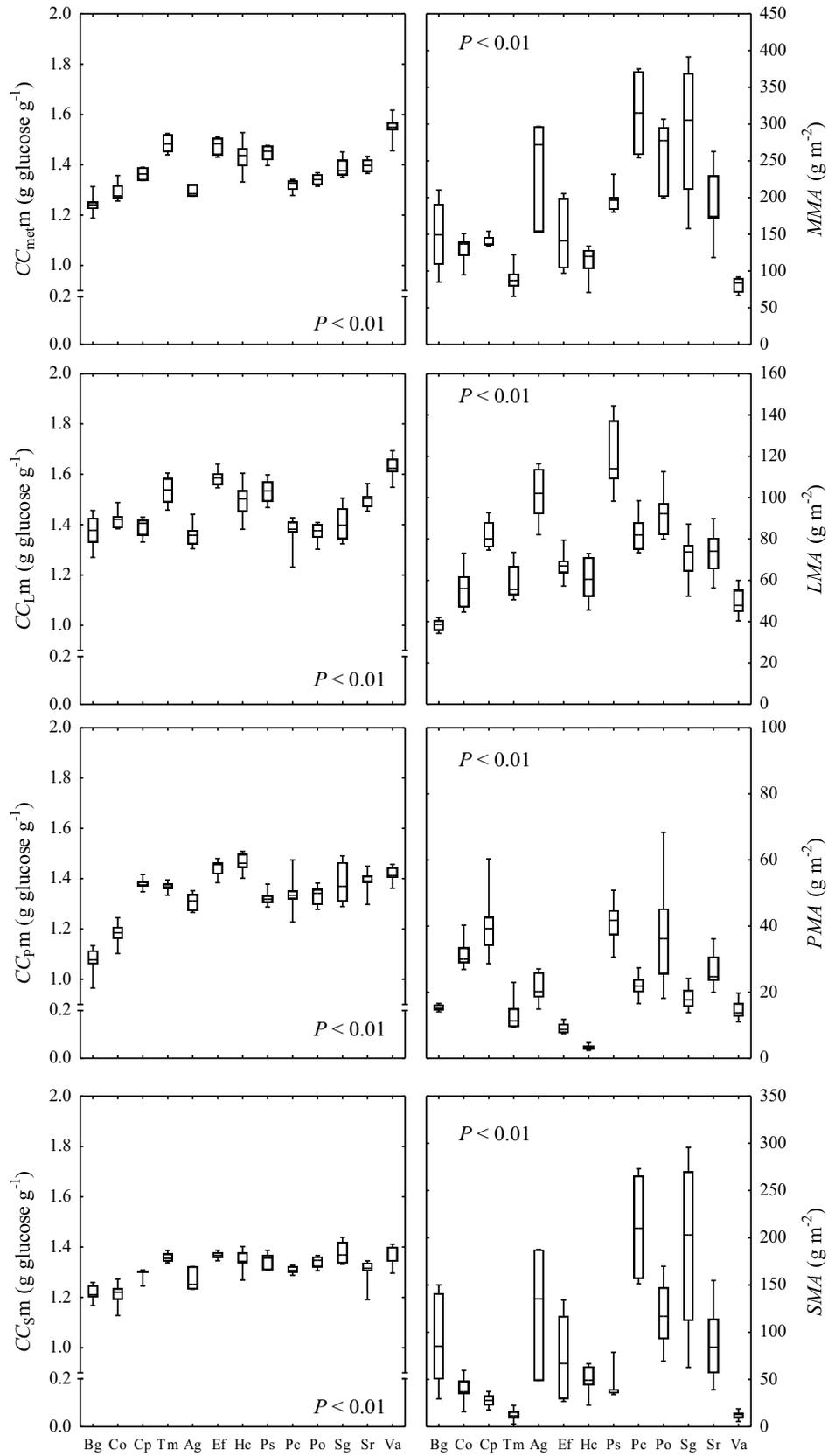


Figure 28: Boîtes à moustaches des coûts de construction spécifiques (g glucose g⁻¹) des métamères ($CC_{met,m}$), des limbes ($CC_{l,m}$), des pétioles ($CC_{p,m}$) et des tiges ($CC_{s,m}$) et des rapports biomasse/surface (g m⁻²) des métamères (MMA), des limbes (LMA), des pétioles (PMA) et des tiges (SMA) pour 13 espèces (voir tableau I pour les abréviations) à t_{20} . Les bords supérieurs et inférieurs de chaque boîte indiquent respectivement les centiles 75% et 25%. La ligne horizontale dans chaque boîte est la médiane et les barres verticales indiquent les centiles 10% et 90%. Une valeur de $P < 0,05$ indique une différence significative entre espèces (Anova à un facteur). *Données issues du projet de publication 2.*

l'engrais que nous leur avons fourni contenait les deux formes azotées. En dehors des limites inhérentes à la méthode utilisée (Poorter et al. 2006a), la variabilité intraspécifique observée pour les CC peut partiellement être expliquée par les procédures de prélèvement des organes et d'estimation de leurs coûts. L'estimation des CC des tiges ($CC_{\text{S}m}$), plus particulièrement, a pu être affectée par la position sur l'axe principal du métamère prélevé. En effet, si l'ensemble des prélèvements a été effectué au niveau de feuilles matures mais jeunes (vers l'apex des plants donc), le diamètre de tous les individus n'était pas forcément identique. Ainsi, nous avons observé que les $CC_{\text{S}m}$ des deux espèces pionnières (*B. guianensis* et *C. obtusa*) augmentaient significativement (mais pas fortement) avec la croissance secondaire (cf. la figure supplémentaire 1 du *projet de publication 2*).

Entre les différents organes prélevés, les CC_m diffèrent significativement (**Figure 27**). Avec une moyenne de $1,48 \text{ g g}^{-1}$, les limbes sont nettement plus chers à produire que les pétioles et les tiges ($1,33$ et $1,29 \text{ g g}^{-1}$ respectivement). De telles différences sont en accord avec la littérature (Poorter 1994, Poorter and Villar 1997) et nos valeurs moyennes sont légèrement inférieures à celles calculées par Poorter et Villar (1997). L'absence de donnée sur la composition chimique des différents organes ne nous autorise pas à interpréter l'origine de ces différences entre organes. Néanmoins, des études antérieures permettent de se faire une idée de la gamme de variations, entre tiges et feuilles, d'un ensemble de composés (Poorter 1994, Poorter and Villar 1997, Villar et al. 2006).

Entre les espèces, les CC des métamères ($CC_{\text{met}m}$) varient de $1,25 \text{ g g}^{-1}$ (*B. guianensis*) à $1,55 \text{ g g}^{-1}$ (*V. americana*). Les CC_m des différents organes diffèrent significativement entre les 13 espèces étudiées (**Figure 28**). Ainsi, les CC des limbes ($CC_{\text{L}m}$) varient de $1,36 \text{ g g}^{-1}$ (*P. cochlearia*) à $1,63 \text{ g g}^{-1}$ (*V. americana*) à t_{20} . Le fort effet espèce observé pour les coûts des pétioles ($CC_{\text{P}m}$) s'explique principalement par les très faibles valeurs mesurées pour les deux espèces pionnières. En effet les pétioles de *C. obtusa* et *B. guianensis* se distinguent nettement par des concentrations en C très inférieures à la moyenne (<40%) associées à de fortes concentrations en minéraux (cendres >10%). Cependant, même lorsque les deux espèces sont retirées de l'ANOVA, les différences interspécifiques sont maintenues. La variabilité des CC des tiges ($CC_{\text{S}m}$) est moins prononcée.

Nos données ne nous permettent pas d'identifier quels sont les composés à l'origine des différences observées. Les quantités de lignine et de minéraux sont fréquemment évoquées comme étant les facteurs influençant le plus les CC foliaires (Niinemets 1997a, Gary et al.

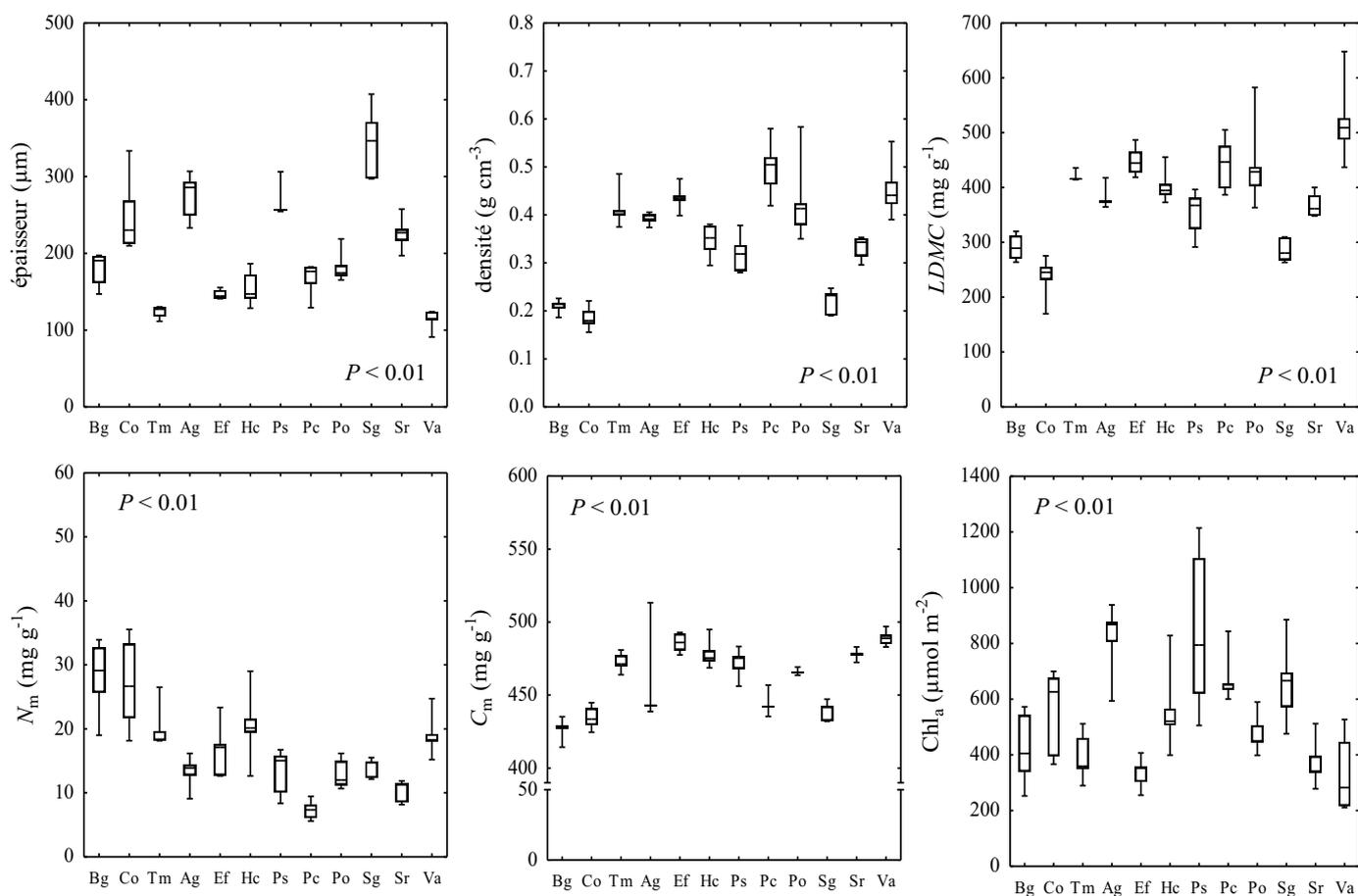


Figure 29: Boîtes à moustaches des épaisseurs (μm), des densités (g cm^{-3}), des teneurs en matière sèche ($LDMC$; mg g^{-1}), des concentrations totales en N (N_m , %), en C (C_m , %) et en chlorophylles (Chl_a , $\mu\text{mol m}^{-2}$) pour 13 espèces (voir tableau I pour les abréviations) à t_{20} . Les bords supérieurs et inférieurs de chaque boîte indiquent respectivement les centiles 75% et 25%. La ligne horizontale dans chaque boîte est la médiane et les barres verticales indiquent les centiles 10% et 90%. Une valeur de $P < 0,05$ indique une différence significative entre espèces (Anova à un facteur). Données issues du projet de publication 1.

1998, Barthod and Epron 2005). De plus il a déjà été montré que l'existence de covariations entre certains composés chimiques pouvait conduire à une convergence de *CC* (Chapin III 1989, Villar and Merino 2001, Villar et al. 2006). Quoiqu'il en soit, il est très probable que la variabilité interspécifique de *CC* observée soit d'avantage la conséquence d'une grande diversité de compositions biochimiques, que de la variabilité d'un composé unique (Poorter and Villar 1997).

Caractéristiques morphologiques des métamères

La biomasse totale (limbe, pétiole et tige) investie pour déployer 1 m² de surface assimilatrice (*MMA*) varie de 81 g (*V. americana*) à 315 g (*P. cochlearia*), soit presque de 4 fois, entre toutes les espèces. Sur l'ensemble des composantes de *MMA*, la plus forte variabilité interspécifique a été observée pour les pétioles (**Figure 28**). En effet, que les feuilles soient simples ou composées, *PMA* varie de 3 g m⁻² (*H. courbaril*) à 41 g m⁻² (*Pouteria* sp.). De la même manière, *SMA*, le rapport de la biomasse de la tige sur la surface foliaire, varie de 12,1 g m⁻² (*T. melinonii*) à 211 g m⁻² (*P. cochlearia*). L'estimation de *SMA* est dépendante de la portion de tige considérée et plus particulièrement de la position et du nombre d'entre-nœuds prélevés. En moyenne, entre 1 et 6 métamères on été échantillonnés par individu, à l'exception de *H. courbaril* où parfois jusqu'à 20 métamères ont pu être prélevés en raison de la très petite taille des pétioles de cette espèce. En conséquence, la différence intraspécifique de *SMA* est plus importante que celle de *LMA* et *PMA*, mais elle ne masque en aucun cas la diversité interspécifique. A l'exception d'une faible corrélation observée entre *LMA* et *PMA*, aucune relation n'a pu clairement être identifiée entre les 3 composantes de *MMA* (**Tableau V**).

La surface moyenne des limbes varie plus de 50 fois entre les espèces, de 27 cm² (*P. cochlearia*) à 1447 cm² (*C. obtusa*). Récemment, de nombreuses études se sont intéressées aux relations entre la taille des feuilles et l'investissement en biomasse nécessaire pour déployer la surface foliaire (Westoby et al. 2002, Pickup et al. 2005, Niinemets et al. 2006, Niinemets et al. 2007). Les résultats de Pickup, et al. (2005) suggèrent que les espèces à grandes feuilles, investissent moins dans le support mécanique des rameaux mais, à l'inverse, nécessiteraient plus de structures de renforcement au niveau des limbes eux-mêmes, ce qui se traduit par un *LMA* plus fort. Inversement, Niinemets et al. (1994, 1998) ont observé des *LMA* plus faibles chez les espèces à grandes feuilles. En réalité, il semblerait que sur un grand nombre d'habitats, il n'existe finalement peu ou pas de relation entre la taille des feuilles et *LMA* (Pickup et al. 2005). Dans le cadre de notre étude, en dépit d'une faible corrélation avec *PMA*, la surface

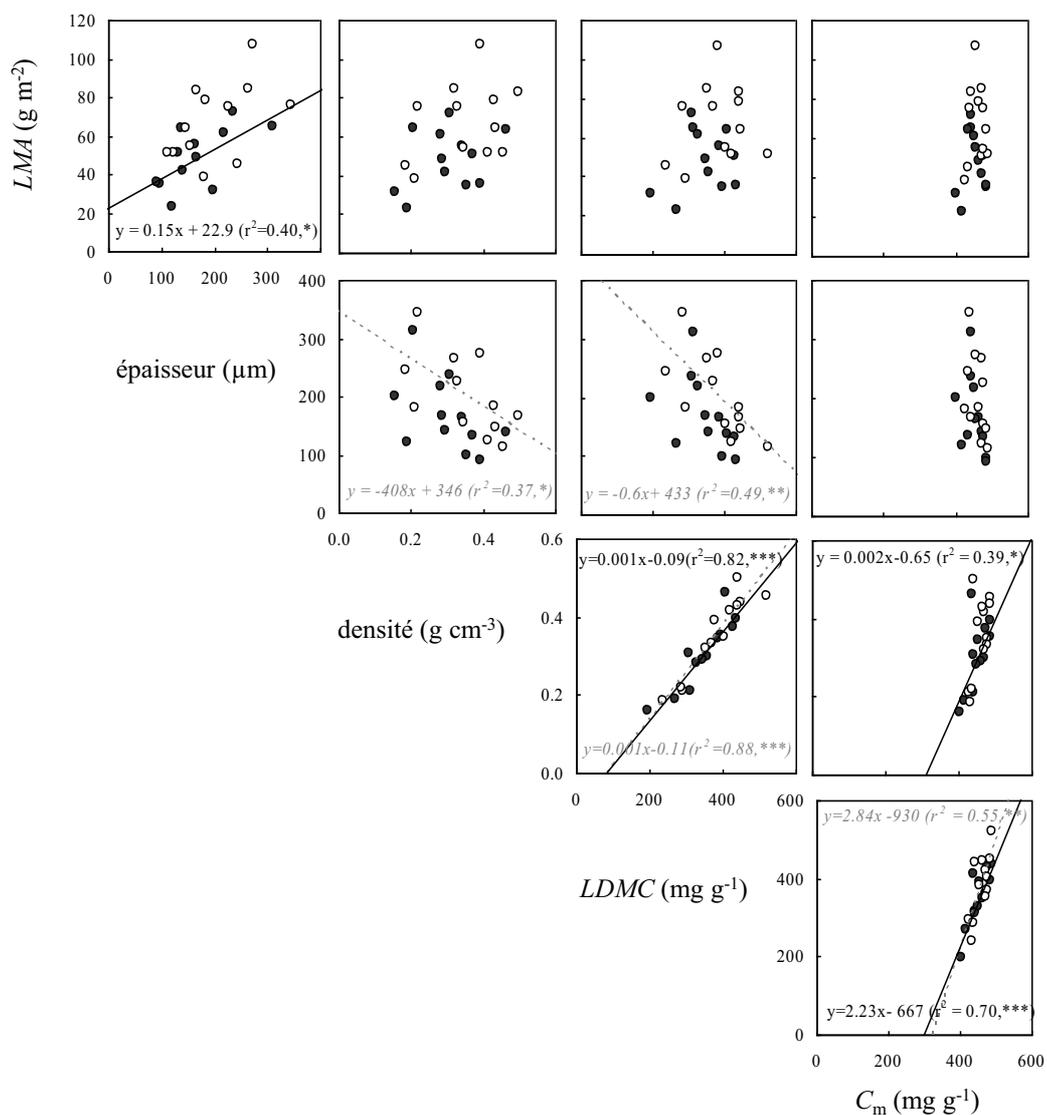


Figure 30: Relations entre la masse surfacique (LMA , g m^{-2}), l'épaisseur (μm), la densité (g cm^{-3}); les teneurs en matière sèche ($LDMC$; mg g^{-1}) et la concentration totale en C foliaire (C_m , mg g^{-1}). Des régressions linéaires simples, pour les éclaircissements relatifs t_{20} (symboles blancs) et t_5 (symboles noirs), ont été réalisées sur les valeurs moyennes par espèce. Quand une régression est significative ($P < 0,05$), l'équation et le r^2 sont indiqués (en italique et en gris pour t_{20}). Données issues du projet de publication 1.

moyenne des limbes n'est corrélée ni aux coûts de construction, ni aux traits morphologiques (*LMA*, *SMA*, *MMA*, densité et épaisseur des limbes, **Tableau V**).

Structure et composition chimique des limbes

La masse surfacique foliaire, *LMA* (g m^{-2}), ainsi que ses deux composantes, l'épaisseur et la densité, diffèrent très fortement entre espèces (**Figure 28, 29**), comme nous l'avions déjà observé (Coste et al. 2005). Afin de s'affranchir de la dépendance de la densité vis-à-vis de *LMA* et de l'épaisseur, la teneur en matière sèche des feuilles (*LDMC*, g g^{-1}) a également été mesurée (*Projet de publication 1*). A t_{20} , *LDMC* varie de 239 (*C. obtusa*) à 521 mg g^{-1} (*V. americana*, **Figure 29**). Comme nous l'espérons (Cornelissen et al. 2003b), *LDMC* et densité (*LMA*/épaisseur) sont très fortement corrélés. On considère généralement que les feuilles avec de forts *LDMC*, *LMA* ou densité, ont tendance à être plus coriaces et par conséquent plus résistantes aux dommages physiques (e.g. vent, usure, passage d'animaux, herbivorie). Ces feuilles, plus denses, pourraient contenir plus de tissus sclérenchymateux et être plus riches en lignine (Niinemets and Kull 1998, Niinemets 1999b), comme le suggère la forte corrélation observée entre les teneurs en C foliaire (C_m) et *LDMC* (**Figure 30**). Cependant, aucune corrélation n'a été observée entre CC_{1m} et *LMA*, la densité ou l'épaisseur des feuilles montrant qu'en dépit de leurs fortes valeurs de C_m , les feuilles les plus denses ne sont pas systématiquement les plus coûteuses (**Tableau V**). *LMA* varie de 38 à 107 g m^{-2} , soit presque de trois fois, entre les 13 espèces. Cette variabilité peut dépendre à la fois de celle des épaisseurs et/ou des densités des limbes des différentes espèces (Witkowski and Lamont 1991). Dans le cas présent, *LMA* est uniquement (et faiblement) corrélé à l'épaisseur. De nombreuses observations permettent de penser que les contrôles sur la densité et l'épaisseur ont pour origine des mécanismes différents (Niinemets 1999a, Wilson et al. 1999, Coste et al. 2005), ce qui ne peut être pleinement confirmé dans le cas particulier de cette étude où une (faible) corrélation négative a été observé entre les deux variables (et parallèlement entre l'épaisseur et *LDMC*) (**Figure 30**).

Une forte diversité interspécifique des teneurs en N, C et chlorophylle des limbes a également été observée (**Figure 29**). Les teneurs en N varient presque de 4 fois entre les feuilles de *P. cochlearia* (7,32 mg g^{-1}) et celles des pionnières *C. obtusa* et *B. guianensis* (26,7 et 28,4 mg g^{-1} respectivement). Ce sont ces dernières qui possèdent les plus fortes concentrations en chlorophylle exprimées par unité de masse (données non présentées) alors que lorsque les

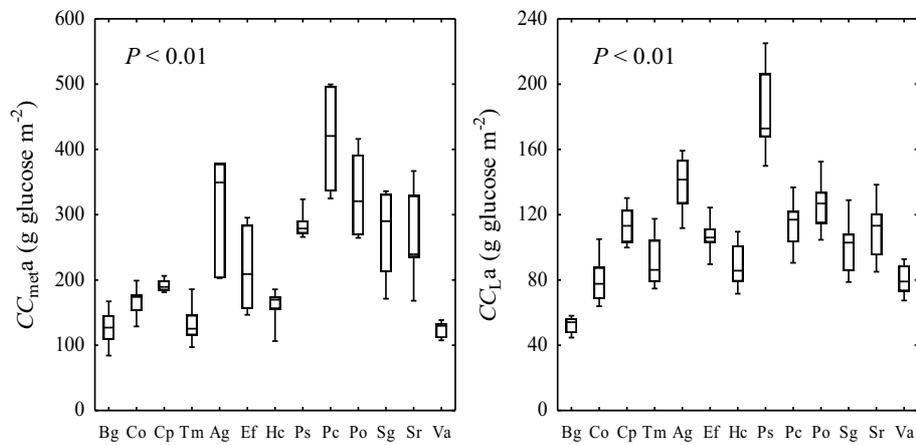


Figure 31: Boîtes à moustaches des coûts de construction (g glucose m^{-2}) des métamères ($CC_{met a}$) et des limbes ($CC_{L a}$) pour 13 espèces (voir tableau I pour les abréviations) à t_{20} . Les bords supérieurs et inférieurs de chaque boîte indiquent respectivement les centiles 75% et 25%. La ligne horizontale dans chaque boîte est la médiane et les barres verticales indiquent les centiles 10% et 90%. Une valeur de $P < 0,05$ indique une différence significative entre espèces (Anova à un facteur). Données issues du projet de publication 2.

teneurs sont exprimées par unité de surface ce sont les feuilles de *Pouteria sp.* qui se distinguent très nettement des autres (**Figure 29**).

Coût du déploiement de la surface assimilatrice

Il n'est pas évident de déterminer la meilleure façon d'estimer le coût nécessaire pour déployer une surface assimilatrice. S'il semble évident que le coût réel doit intégrer celui des structures de support du limbe, peu d'informations sont disponibles sur les coûts associés à la production d'une feuille à l'échelle de la plante entière dus par exemple à la croissance secondaire ou l'élongation racinaire. Pour les espèces tempérées, l'estimation du coût associé au déploiement de la surface assimilatrice peut être réalisée à l'échelle de la pousse annuelle feuillée (Barthod and Epron 2005, Barthod 2006, Barthod and Epron *in prep.*). Dans les cas des espèces tropicales, en raison de la diversité des modes de croissance (continue ou rythmique), ce coût a été estimé à l'échelle de la plus petite structure commune à toutes les espèces : le métamère.

L'énergie nécessaire à la mise en place de la surface assimilatrice ($CC_{met,a}$, g glucose⁻²) varie fortement entre les 13 espèces étudiées, et de telles différences peuvent être attribuées soit à des différences de composition biochimique (CC spécifique des organes), soit à des différences morphologiques (LMA , PMA et SMA). En dépit de la grande variabilité des CC_m et des rapports biomasse/surface des différents organes, pour une surface foliaire donnée, les métamères les plus chers à construire appartiennent aux espèces dont les limbes coûtent également le plus cher (**Figure 31**). A l'inverse, Barthod and Epron (*in prep.*) ont montré, pour 9 espèces d'arbres tempérés, qu'il n'existait aucune relation entre le coût de construction de la pousse annuelle et $CC_{L,a}$ (g m⁻²) et ce, bien que les feuilles représentent plus de 70% de la biomasse de la pousse annuelle. Dans notre étude, les limbes (nervure principale exclue) ne représentent que 51% ($\pm 14\%$) de la biomasse totale du métamère (et ce rapport diminue avec la lumière). En réalité $CC_{met,a}$ et $CC_{L,a}$ sont tous deux beaucoup plus influencés par LMA (et MMA pour $CC_{met,a}$), que par les CC_m des limbes et des autres organes (**Tableau V**). En d'autres termes, les différences interspécifiques de l'énergie nécessaire pour déployer une surface foliaire sont essentiellement pilotées par des différences structurales (du LMA et SMA particulièrement) qui, en définitive, jouent un rôle beaucoup plus important que les CC dans le bilan de C des plantes (Villar and Merino 2001, Poorter et al. 2006a, Barthod and Epron *in prep.*).

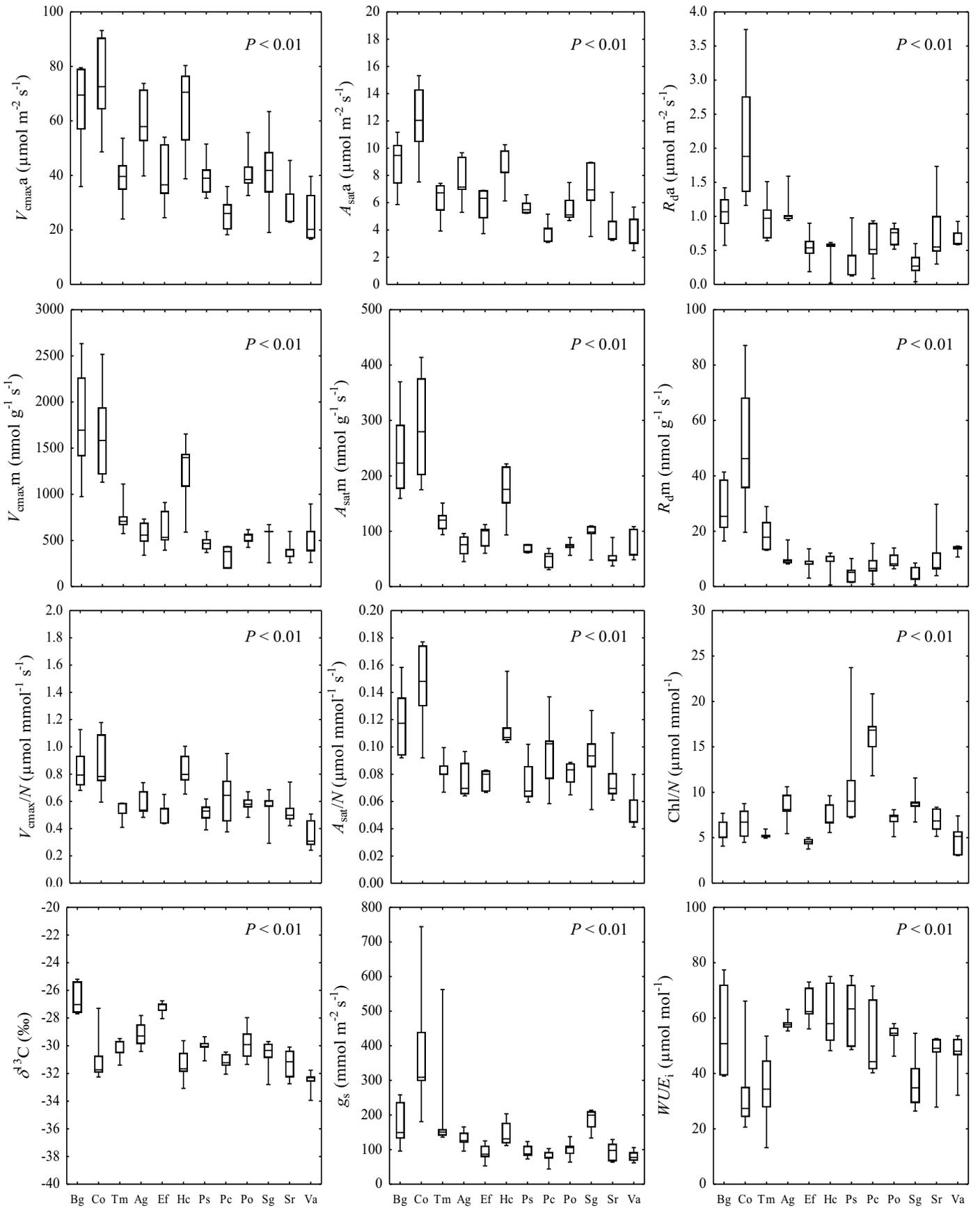


Figure 32: Boîtes à moustaches des vitesses maximales de carboxylation (V_{cmax}^a , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ et V_{cmax}^m , $\text{nmol g}^{-1} \text{s}^{-1}$), des assimilations en lumière saturante (A_{sat}^a , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ et A_{sat}^m , $\text{nmol g}^{-1} \text{s}^{-1}$), des respirations, des rapports V_{cmax}/N ($\mu\text{mol mmol}^{-1} \text{s}^{-1}$), A_{sat}/N ($\mu\text{mol mmol}^{-1} \text{s}^{-1}$) et Chl/N ($\mu\text{mol mmol}^{-1}$), des compositions isotopiques en C foliaire ($\delta^{13}\text{C}$, ‰), des conductances internes (g_s , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) et des efficacités intrinsèques d'utilisation de l'eau (WUE_i , $\mu\text{mol mol}^{-1}$) pour 12 espèces (voir tableau I pour les abréviations) à t_{20} . Les bords supérieurs et inférieurs de chaque boîte indiquent respectivement les centiles 75% et 25%. La ligne horizontale dans chaque boîte est la médiane et les barres verticales indiquent les centiles 10% et 90%. Une valeur de $P < 0,05$ indique une différence significative entre les espèces (Anova à un facteur). Données issues du projet de publication 1.

Comportement des espèces pionnières

Les coûts nécessaires au déploiement de la surface assimilatrice ($CC_{met,a}$ et $CC_{l,a}$) sont plus faibles chez les deux pionnières, *B. guianensis* et *C. obtusa*, ainsi que chez les deux espèces héliophiles non pionnières, *C. procera* et *T. melinonii*, que chez les autres espèces. Cependant le $CC_{met,a}$ moyen de la tolérante *V. americana* est du même ordre de grandeur. De manière générale, les deux espèces pionnières se distinguent essentiellement par des feuilles plus denses, des concentrations en N foliaire (N_m , mg g⁻¹) plus fortes ainsi que des pétioles et des entrenœuds très peu coûteux à mettre en place. Leurs *MMA*, comme leurs composantes, sont faibles, mais ne se distinguent pas particulièrement de ceux des espèces tolérantes et c'est d'ailleurs le très faible *MMA* de *V. americana* qui est à l'origine des faibles valeurs de $CC_{met,a}$.

III.1.2 Acquisition du carbone à l'échelle de la feuille

Vitesse maximale apparente de carboxylation et flux maximal apparent de transport d'électrons. Les capacités photosynthétiques foliaires, mesurées *via* V_{cmax} et J_{max} apparents, varient très fortement entre espèces, qu'elles soient exprimées par unité de surface (de l'ordre de 3 fois) ou de masse (de l'ordre de 5 fois) (**Figure 32**). En accord avec la littérature (Niinemets et al. 1998, Coste et al. 2005), V_{cmax} et J_{max} sont très fortement corrélés (**Tableau VI**), bien que, étonnamment, le rapport J_{max}/V_{cmax} diffère légèrement entre les espèces (**Tableau X**). Cette variabilité peut certainement être associée à la méthode utilisée pour estimer les deux paramètres. En effet, nous avons supposé que la conductance interne (g) était infinie et donc que la concentration en CO₂ chloroplastique était identique à celle des chambres sous-stomatiques. On sait à ce jour qu'une telle approximation entraîne très probablement une sous-estimation de V_{cmax} (Ethier and Livingston 2004). De plus, la diminution de la pression partielle de CO₂ depuis les espaces intercellulaires (C_i) jusqu'au stroma chloroplastique (C_c) varie d'une espèce à l'autre (Warren and Adams 2006). Malheureusement, il nous a été impossible d'estimer correctement g à partir de nos courbes $A-C_i$, et nous ne disposons d'aucune information quant à la diversité de la conductance interne des espèces de notre étude. L'estimation de J_{max} , elle, est moins sujette à une sous-estimation.

Tableau VI: Coefficients de corrélation de Pearson entre la vitesse maximale de carboxylation ($V_{\text{cmax,m}}$, $\text{nmol g}^{-1} \text{s}^{-1}$ et $V_{\text{cmax,a}}$, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) et les traits foliaires à t_{20} . Des régressions linéaires simples ont été appliquées sur les moyennes des variables par espèces. Degré de significativité: ns, $P>0,05$; *, $P<0,05$ et **, $P<0,01$. Données issues du projet de publication 1.

	$V_{\text{cmax,m}}$ ($\text{nmol g}^{-1} \text{s}^{-1}$)	$V_{\text{cmax,a}}$ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
LMA (g m^{-2})	-0.72**	-0.30 ns
épaisseur (μm)	-0.08 ns	0.23 ns
densité (g cm^{-3})	-0.67*	-0.65*
$LDMC$ (mg g^{-1})	-0.59*	-0.66 *
C_m (mg g^{-1})	-0.46 ns	-0.53 ns
N_m (mg g^{-1})	0.91***	–
Chl_m ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	0.76**	–
N_a (mg m^{-2})	–	0.69 *
Chl_a ($\mu\text{mol m}^{-2}$)	–	0.20 ns
$J_{\text{max,m}}$ ($\text{nmol g}^{-1} \text{s}^{-1}$)	0.98***	–
V_{cmax}/N ($\mu\text{mol mmol}^{-1} \text{s}^{-1}$)	0.85***	0.84***
Chl/N ($\mu\text{mol mmol}^{-1}$)	-0.38 ns	-0.27 ns
$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	0.33 ns	0.37 ns
g_s ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	0.69*	0.66*
WUE_i ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)	-0.11 ns	0.05 ns

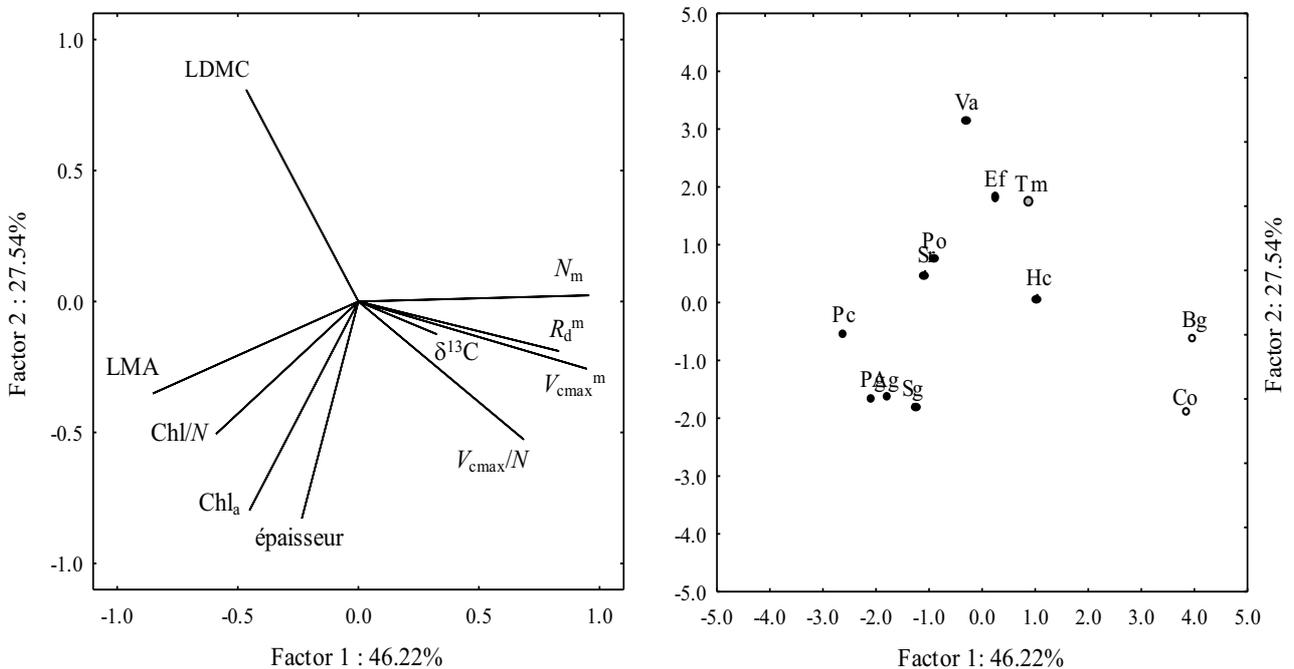


Figure 33: Analyse en composantes principales pour 12 espèces et 10 variables à t_{20} . Le cercle des corrélations des variables projetées sur le plan constitué par les axes 1 et 2 est représenté à gauche et la projection des espèces (voir tableau I pour les abréviations) dans le plan factoriel constitué par ces mêmes axes, à droite. Les variables sont LMA , épaisseur, $LDMC$, la vitesse maximale de carboxylation ($V_{\text{cmax,m}}$); la respiration (R_d), la composition isotopique pour le C ($\delta^{13}\text{C}$), la concentration totale en N foliaire (N_m), la concentration en chlorophylle (Chl_a) et les rapports V_{cmax}/N et Chl/N . Les espèces pionnières sont représentées par des symboles blancs. Données issues du projet de publication 1.

Relations entre capacités photosynthétiques, traits structuraux, et concentration en azote foliaire

Les relations entre capacités photosynthétiques et azote foliaire ont fait l'objet d'un grand nombre de publications et sont à ce jour relativement bien connues (Reich and Walters 1994, Reich et al. 1994, Reich et al. 1999, Wright et al. 2004). Ainsi, comme attendu, $V_{\text{cmax}}\text{m}$ et $J_{\text{max}}\text{m}$ sont fortement corrélés à N_{m} (**Tableau VI, Figure 33**). Cependant, comme ce fut déjà le cas lors d'une précédente étude sur d'autres espèces guyanaises (Coste et al. 2005), la relation observée lorsque les variables sont exprimées par unité de surface, est nettement plus faible (elle n'était même pas significative dans l'étude précédente). $V_{\text{cmax}}\text{m}$ est significativement corrélé à un certain nombre de traits structuraux : il augmente avec les concentrations en chlorophylle foliaire ($\text{Chl}_{\text{m}} \text{mg g}^{-1}$) et diminue fortement quand LMA ($LDMC$ et la densité, dans une moindre mesure) augmente (**Tableau VI**). Ces covariations ont très fréquemment été observées (Reich et al. 1991b, Reich and Walters 1994, Reich et al. 1994, Reich et al. 1995, Reich et al. 1997, Reich et al. 1999, Wright and Westoby 2002, Reich et al. 2003, Wright and Westoby 2003, Wright et al. 2005b), ce qui a notamment permis, plus récemment, la mise en place d'un schéma universel de gestion des ressources² (Wright et al. 2004). Ce dernier repose sur l'existence d'un compromis entre une acquisition rapide des ressources (fort N_{m} , $A_{\text{sat}}\text{m}$, $R_{\text{d}}\text{m}$, et faible LMA) et une conservation efficace des nutriments (fort LMA et faible N_{m} , $A_{\text{sat}}\text{m}$, $R_{\text{d}}\text{m}$). Une analyse en composantes principales appliquée à l'ensemble de ces traits foliaires montre que les données obtenues sur les espèces tropicales confirment ce schéma (**Figure 33**).

Efficiences photosynthétique d'utilisation de l'azote

En dépit d'une forte covariation entre les capacités photosynthétiques et N_{m} (**Tableau VI**), une grande diversité des allocations relatives de N aux fonctions de carboxylation (V_{cmax}/N) et de transport d'électrons (J_{max}/N) a été observée entre les espèces (**Figure 32**). Les variations du rapport Chl/N sont du même ordre (d'un facteur 4 environ). Une telle variabilité de l'efficacité d'utilisation de N ($PNUE$) a déjà été observée sur les espèces de FTH guyanaise, laissant alors supposer que l'investissement relatif de N dans la photosynthèse joue un rôle majeur dans la diversité interspécifique des capacités photosynthétiques (Coste et al. 2005). L'importance de $PNUE$ a également été soulignée par Wright et al. (2005a), qui confirme la position de ce trait au sein du schéma d'acquisition des

² « the world leaf economic spectrum »

ressources. En effet, d'une part un compromis entre *PNUE* et durée de vie des feuilles a fréquemment été évoqué (Reich et al. 1991a, Reich et al. 1997) . D'autre part, il semblerait que les espèces avec un *LMA* élevé aient également un faible *PNUE* (i.e. elles investissent moins d'N foliaire dans les processus de la photosynthèse), laissant supposer qu'elles investissent d'avantages de N dans des composés de défense, ce qui confirmerait l'hypothèse qu'un fort *LMA* contribue à augmenter la résistance aux herbivores (Walters and Reich 1999, Rijkers et al. 2000).

Parallèlement aux mesures de capacités photosynthétiques, la composition isotopique du C foliaire ($\delta^{13}\text{C}$, ‰) a également été mesurée. Une différence de l'ordre de 6 ‰ est observée entre les valeurs extrêmes mesurées à t_{20} , indiquant que l'efficacité intrinsèque d'utilisation de l'eau (WUE_i) varie fortement entre les espèces étudiées (**Figure 32**). Cette tendance est confirmée par la forte variation (de l'ordre du simple au double) de WUE_i calculée directement à partir des échanges gazeux (A_{sat}/g_s). La diversité observée est cohérente avec les observations réalisées par Bonal et al. (2007) sur des semis d'espèces tropicales élevés sous 25% du plein éclairage. De plus, il semblerait que cette diversité se maintienne au cours de l'ontogénie, comme le montre la corrélation entre les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ des jeunes plants et des adultes de la même espèce (Bonal et al. 2000, Bonal et al. 2007). Il n'existe à ce jour que très peu de données sur l'efficacité de la transpiration à l'échelle de la plante entière pour les arbres tropicaux, mais Cernusak et al. (2007) ont montré récemment qu'elle pouvait varier de l'ordre d'un facteur 2 parmi un groupe d'espèces. Dans notre étude, $\delta^{13}\text{C}$ et A_{sat}/g_s ne sont pas corrélés, ce qui peut probablement s'expliquer par la méthode de mesure : A_{sat} et g_s ont été estimés à partir de mesures réalisées sous éclairage saturant, ce qui n'est pas nécessairement représentatif des conditions environnementales dans lesquelles la photosynthèse et les stomates fonctionnent habituellement. L'absence de corrélation entre $\delta^{13}\text{C}$ et les autres traits étudiés (physiologiques comme structuraux, **Figure 33**) illustre bien que, pour ces espèces tropicales tout du moins, la diversité de $\delta^{13}\text{C}$ observée ne s'explique pas par des différences de capacités photosynthétiques mais sans doute de réponse stomatique.

Comportement des espèces pionnières

Comme il est fréquemment admis (Reich and Walters 1994, Reich et al. 1994, Ellsworth and Reich 1996, Niinemets et al. 1998), les espèces pionnières, *B. guianensis* et *C. obtusa*, se distinguent très nettement des autres par leurs fortes capacités photosynthétiques, leurs N_m et *PNUE* élevés et leurs faibles *LMA* (i.e. acquisition rapide des ressources), tandis que les 11

autres espèces se distribuent essentiellement le long de l'axe opposant épaisseur et *LDMC* (**Figure 33**). Cette discrimination limitée entre les espèces sur la base des traits étudiés, confirme que la plasticité phénotypique de ces mêmes traits en réponse à l'éclairement relatif, pourrait constituer un indice dans la différenciation des espèces et probablement des types fonctionnels.

III.1.3 Bilan de C à l'échelle de la feuille

La diversité interspécifique des bilans de C à l'échelle foliaire a été étudiée à l'aide d'une approche corrélative entre les principaux traits foliaires participant à ce bilan : l'assimilation photosynthétique foliaire journalière, les coûts de construction et de maintenance des feuilles et de leurs structures de support, le temps de retour sur investissement et la durée de vie des feuilles.

Estimation du temps de retour sur investissement (« payback time »)

Le temps nécessaire pour assimiler une quantité de C équivalente à celle utilisée pour la construction de la feuille (Williams et al. 1989, Poorter 1994, Poorter et al. 2006a), appelé temps de retour sur investissement ou « payback time » (*PBT*, jours), a été estimé pour les 13 espèces étudiées. En tenant non seulement compte du coût de production de la feuille mais également de celui des pétioles et des tiges, nous avons aussi calculé le *PBT* du métamère (*PBT_{met}*). Ces deux estimations du temps de retour sur investissement sont très fortement corrélées (**Figure 34**) et *PBT* correspond en moyenne à 51% (± 3 IC) du *PBT_{met}*.

Un certain nombre d'hypothèses et d'approximations ont dû être réalisées pour estimer le temps de retour sur investissement, et les valeurs obtenues sont très probablement inférieures à la réalité. En l'absence de données, le coût de maintenance et l'assimilation de C des structures de support ont été négligés. Le calcul de *PBT_{met}* dépend des estimations des coûts de construction des métamères (CC_{met}) et de l'assimilation photosynthétique journalière (A_{est} , $\mu\text{molCO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ j}^{-1}$). L'estimation de CC_{met} a déjà été discutée précédemment (§III.1.1). A_{est} dépend de l'éclairement journalier (I), de l'assimilation nette en lumière saturante (A_{sat}), de la respiration (R_d) et des courbes de réponse de l'assimilation à l'éclairement (courbes *A-PAR*). Le calcul de A_{est} repose sur différentes hypothèses et approximations. Premièrement, nous avons considéré que les valeurs de I étaient homogènes au sein d'un même traitement, sans tenir compte d'éventuels phénomènes d'auto-ombrage ou d'ombrage par les voisins, pouvant être à l'origine d'une surestimation de A_{est} pour certains individus (ou espèces les

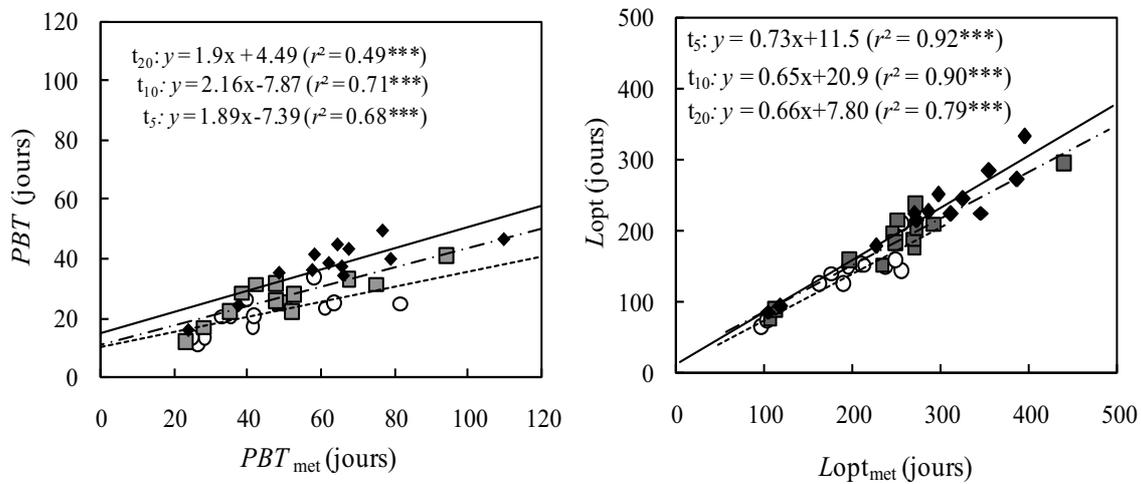


Figure 34: Relations entre les temps de retour sur investissement (à gauche) et les durées de vie optimales (à droite) calculés en tenant compte des CC des limbes uniquement (PBT et $Lopt$) et des CC du métamère (PBT_{met} et $Lopt_{met}$) à t_{20} . Des régressions linéaires simples, pour les éclaircissements relatifs t_{20} (ronds blancs), t_{10} (carrés gris) et t_5 (losanges noirs), ont été réalisées sur les valeurs moyennes par espèce. L'équation et le r^2 sont indiqués. Degré de significativité: ns, $P > 0,05$; *, $P \leq 0,05$; **, $P \leq 0,01$ et ***, $P \leq 0,001$. Données issues du projet de publication 1.

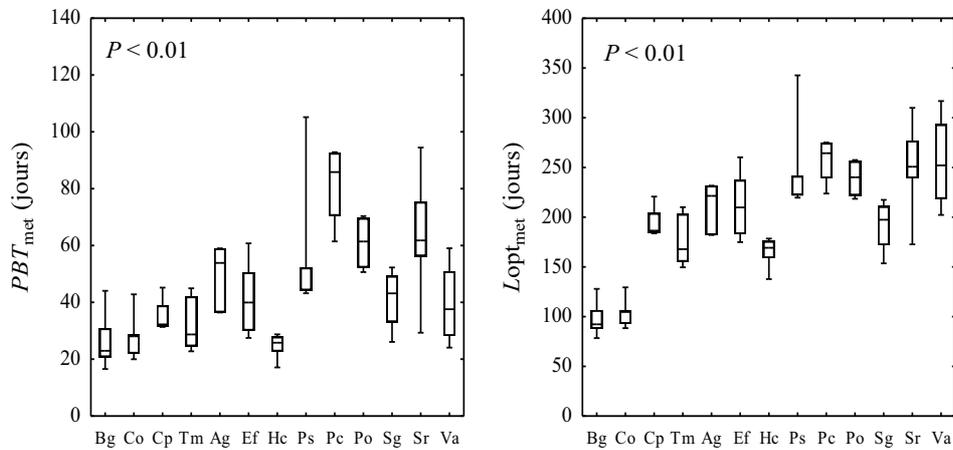


Figure 35: Boîtes à moustaches des PBT_{met} (jours) et des $Lopt_{met}$ (jours) pour 13 espèces (voir tableau I pour les abréviations) à t_{20} . Les bords supérieurs et inférieurs de chaque boîte indiquent respectivement les centiles 75% et 25%. La ligne horizontale dans chaque boîte est la médiane et les barres verticales indiquent les centiles 10% et 90%. Une valeur de $P < 0,05$ indique une différence significative entre espèces (Anova à un facteur). Données issues du projet de publication 1.

plus petites). Deuxièmement, nous avons utilisé des valeurs fixes pour le rendement quantique apparent (ϕ) et l'indice de courbure de l'hyperbole non rectangulaire (θ). Ces valeurs correspondent aux moyennes mesurées sur 106 courbes *A-PAR* effectuées sur des feuilles d'âges et d'espèces différents et sous différents éclairagements relatifs. Les valeurs ainsi obtenues sont extrêmement proches de celles utilisées par Poorter et al. (2006a), ce qui confirme la validité de cette estimation. Troisièmement, nous avons utilisé une valeur de respiration constante, et égale à 7% des A_{sat} mesurés. Cette valeur, également estimée par Givnish (1988) et Poorter et al. (2006a) correspond à la valeur médiane des rapports que nous avons obtenue à partir de nos données, ce qui nous a permis de valider notre choix. Cette approximation ne tient pas compte d'une variabilité interspécifique potentielle de la respiration, ce qui peut biaiser A_{est} . Pour finir, nous noterons également que considérer que l'assimilation nette est identique chaque jour n'est pas réaliste. En effet, nous avons constaté (sans le quantifier) qu'à certaines périodes de la journée, et parfois certaines journées, il était très difficile d'effectuer des mesures d'échanges gazeux en raison de la fermeture systématique des stomates. Par conséquent, considérer que A_{sat} ne varie qu'avec I au cours d'une journée, et que A_{est} ne varie pas d'un jour à l'autre, entraîne très certainement une surestimation de *PBT*.

Le temps de retour sur investissement

Les temps de retour sur investissement estimés (*PBT*) varient de 11 (*B. guianensis*) à 34 jours (*Pouteria sp.*). En toute logique, lorsque les *CC* des structures de support sont pris en compte (PBT_{met}), le temps de remboursement augmente significativement pour toutes les espèces (il ne dépasse cependant pas les 82 jours en moyenne, *Pradosia cochlearia*, **Figure 35**) et le classement des espèces n'est pas modifié (**Figure 34**). Les deux espèces pionnières sont celles qui remboursent leur CC_{met} le plus rapidement (en moins de 30 jours à t_{20}). *PBT* (et PBT_{met} dans une moindre mesure) est négativement corrélé à A_{sat} ($r^2=0,76$ et $r^2= 0,58$ respectivement) tandis qu'aucune relation n'a pu être mise en évidence entre ces derniers et les *CC* (**Tableau VII**). Une décomposition de la variance de *PBT* et PBT_{met} a confirmé que c'était *LMA*, plutôt que A_{est} ou les *CC* des limbes et des métamères, qui constituait la principale source de variation (**Tableau VIII**). La covariation positive de *LMA* et de PBT_{met} est très certainement liée à la forte corrélation négative classiquement observée entre A_{sat} et *LMA* (**Tableau VII**, Wright et al. 2004).

Tableau VII: Coefficients de corrélation de Pearson entre les capacités photosynthétiques ($A_{\text{sat,m}}$, $\text{nmol g}^{-1} \text{s}^{-1}$), la durée de vie (LLS , jours), le temps de retour sur investissement (PBT_{met} , jours), la durée de vie optimale ($Lopt_{\text{met}}$, jours) et d'autres traits étudiés à t_{20} . Des régressions linéaires simples ont été appliquées sur les moyennes des variables par espèce pour les trois traitements (t_5 , t_{10} et t_{20}). Pour LLS , les régressions n'ont été appliquées que pour les 10 espèces pour lesquelles cette variable a été estimée précisément. Degré de significativité: ns, $P>0,05$; *, $P<0,05$ et **, $P<0,01$. Données issues du projet de publication 2.

	$A_{\text{sat,m}}$	LLS ($n=10$)	PBT_{met}	$Lopt_{\text{met}}$
LMA (g m^{-2})	-0.62*	0.55ns	0.63*	0.59*
épaisseur (μm)	-0.17ns	-0.03ns	0.28ns	0.09ns
densité (g cm^{-3})	-0.36ns	0.52ns	0.29ns	0.47ns
MMA (g m^{-2})	-0.35ns	0.48ns	0.73**	0.40ns
CC_{Lm} (g g^{-1})	-0.14ns	0.30ns	-0.18ns	0.30ns
CC_{Pm} (g g^{-1})	-0.40ns	0.82**	0.18ns	0.64*
CC_{Sm} (g g^{-1})	-0.42ns	0.81**	0.18ns	0.62*
$CC_{\text{met,m}}$ (g g^{-1})	-0.32ns	0.58ns	-0.07ns	-0.06ns
$CC_{\text{met,a}}$ (g m^{-2})	—	0.61ns	0.90***	0.60*
$A_{\text{sat,m}}$ ($\text{nmol g}^{-1} \text{s}^{-1}$)	—	-0.65*	-0.76**	-0.89***
N_m (mg g^{-1})	0.65*	-0.78**	-0.76**	-0.76**
$A_{\text{sat,a}}$ ($\text{nmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	—	-0.24ns	-0.31ns	-0.44ns
PBT (jours)	-0.87***	0.67*	0.70**	0.87***
PBT_{met} (jours)	-0.76**	0.61ns	—	0.78***
b (jours)	-0.54*	0.83**	0.13ns	0.71**
$Lopt$ (jours)	-0.80***	0.85*	0.44ns	—
$Lopt_{\text{met}}$ (jours)	-0.89***	0.87***	0.74**	—
RGR ($\text{cm cm}^{-1} \text{an}^{-1}$)	0.46 ns	-0.61ns	-0.23ns	-0.59*

Tableau VIII: Pourcentage de la variance totale du temps de retour sur investissement (PBT et PBT_{met}) et de la durée de vie optimale ($Lopt$ et $Lopt_{\text{met}}$) expliqué par chacune de leurs composantes: les coûts de construction (CC_m et $CC_{\text{met,m}}$), l'assimilation journalière ($A_{\text{est,a}}$, $\text{mol m}^{-2} \text{j}^{-1}$) et le temps au bout duquel l'assimilation des feuilles devient nulle (b , jours). Les contributions des variances intra- et interspécifiques à la variance totale sont présentées séparément. La décomposition de la variance a été réalisée sur les valeurs des traits dans le traitement t_{20} . Données issues du projet de publication 2.

% de la variance totale							
	PBT			$Lopt$			
	CC_{Lm}	$A_{\text{est,a}}$	LMA	CC_{Lm}	$A_{\text{est,a}}$	LMA	b
Interspécifique	3.23	0.60	79.2	1.34	0.25	32.7	58.7
Intraspécifique	1.36	0.62	15.0	0.56	0.26	6.20	—
total	4.59	1.22	94.2	1.90	0.51	38.9	58.7
	PBT_{met}			$Lopt_{\text{met}}$			
	$CC_{\text{met,m}}$	$A_{\text{est,a}}$	LMA	$CC_{\text{met,m}}$	$A_{\text{est,a}}$	LMA	b
Interspécifique	3.59	0.61	79.4	1.48	0.25	32.8	58.8
Intraspécifique	0.71	0.62	15.1	0.29	0.26	6.21	—
total	4.30	1.24	94.5	1.77	0.51	39	58.8

La durée de vie optimale des feuilles (Kikuzawa 1991, Kikuzawa 1995)

Kikuzawa (1991, 1995) a proposé un modèle dans lequel le gain de C des arbres est maximisé. Ainsi, la durée de vie optimale des feuilles (L_{opt}) correspond à la durée pour laquelle le gain marginal de la feuille est maximum (§II.6.3). Ce modèle est basé sur le postulat qu'un arbre ne peut retenir qu'un nombre défini de feuilles. L_{opt} est calculé à partir du temps de remboursement des CC des limbes mais également du temps nécessaire pour que l'assimilation photosynthétique devienne nulle (b). Kikuzawa et Ackerly (1999) ont proposé une extension de ce modèle, dans laquelle les coûts de construction et de maintenance des structures de support des feuilles sont également pris en compte. En l'absence d'informations sur l'assimilation et la respiration des tiges et des pétioles, seuls les coûts de construction de ces structures ont pu être rajoutés au calcul initial de L_{opt} . Nous pouvons cependant estimer que $L_{opt_{met}}$ constitue une approche imparfaite du modèle de Kikuzawa et Ackerly (1999).

Les deux variables, L_{opt} et $L_{opt_{met}}$, sont très fortement corrélées, et en moyenne L_{opt} représente 70% (± 2 , IC) de $L_{opt_{met}}$ (**Figure 34**). Bien évidemment, les critiques relatives aux estimations de PBT et PBT_{met} , évoquées précédemment, sont également à considérer pour celles de L_{opt} et $L_{opt_{met}}$. Le modèle de Kikuzawa, de par sa relative simplicité, a été très largement cité bien qu'il possède un certain nombre d'imperfections, comme le souligne Givnish (2002). Le modèle ignore notamment l'effet de la vitesse de production des nouvelles feuilles, source d'auto-ombrage (Williams et al. 1989, Reich et al. 1992, Foster and Brooks 2005), sur les connections entre A_{sat} et la vitesse à laquelle la photosynthèse diminue avec l'âge.

Comme attendu, $L_{opt_{met}}$ diffère fortement et significativement entre les espèces, variant de 97 (*B. guianensis*) à 257 jours (*P. cochlearia*). Une forte corrélation positive a été observée entre $L_{opt_{met}}$ et ses deux composantes PBT_{met} et b (**Tableau VII**). b varie également très fortement entre les espèces étudiées, soit de 186 (*B. guianensis*) à 850 jours (*V. americana*, **Figure 36**). Ces valeurs restent des approximations ; nos données ne suivent pas l'évolution de l'assimilation dans le temps pour chacun des individus étudiés, et b est estimé à partir d'une courbe moyenne par espèce et par traitement (§II.6.3). La décomposition de la variance, de L_{opt} et $L_{opt_{met}}$, montre que c'est essentiellement la variation de b (et celle de LMA dans une moindre mesure) qui est à l'origine des différences observées entre espèces (**Tableau VIII**).

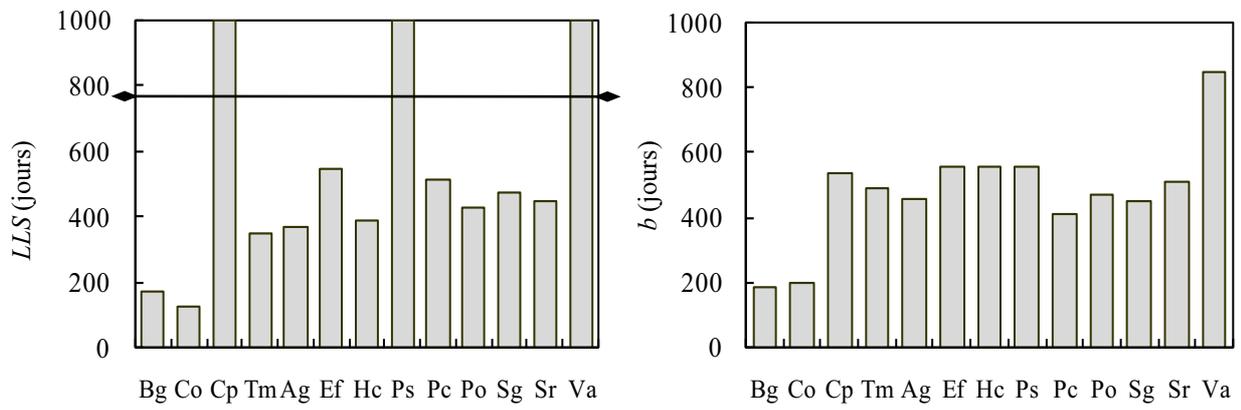


Figure 36: Valeurs médianes des durées de vie (LLS , jours), et moyennes des temps au bout desquels l'assimilation nette devient nulle (b , jours) pour 13 espèces à t_{20} . Pour LLS , la fin de l'expérimentation est indiquée par une ligne à 780 jours. *Données issues du projet de publication 2.*

La durée de vie réelle des feuilles

Dans le cadre de notre approche coût-bénéfice des traits foliaires relatifs au gain de C, la durée de vie des feuilles (*LLS*) correspond à la durée sur laquelle les bénéfices de la photosynthèse sont réalisés. Ainsi une longue durée de vie à faible éclairément devient nécessaire pour amortir les *CC* des feuilles lorsque seule une faible assimilation photosynthétique journalière est possible (Williams et al. 1989, Kikuzawa 1995). Cependant, *LLS* n'est pas toujours un trait facilement mesurable, tout particulièrement dans le cas des espèces d'arbres tropicaux comme en atteste le peu de données disponibles sur ces dernières en comparaison aux herbacées ou aux espèces d'arbres tempérés (Diemer 1998, Ryser and Urbas 2000, Navas et al. 2003). Un des tout premiers constats de ce travail a été que la durée de vie des feuilles de beaucoup de nos espèces dépassait la durée de l'expérimentation, soit 26 mois (et ce, essentiellement aux plus faibles éclairéments). Si nous n'avons pas été capables d'estimer *LLS* pour toutes nos espèces (dont *V. americana*, *Protium* sp. et *C. procera* à t_{20}) les données obtenues nous permettent tout à fait d'illustrer la forte diversité spécifique de cette variable. La durée de vie des feuilles des deux espèces pionnières *C. obtusa* et *B. guianensis* n'excède pas 200 jours alors que celles des autres espèces varient entre 300 et 600 jours (et > 800 jours pour trois espèces, **Figure 36**). A titre de comparaison, Reich et al. (2004) ont suivi la démographie foliaire de 23 espèces d'arbres de FTH amazonienne et ont observé des valeurs médianes de *LLS* allant de 76 jours (*Cecropia ficifolia* en milieu ouvert) à 1693 jours (*Protium spp.* en sous bois). Une telle diversité interspécifique pourrait être mise en relation avec la variabilité des vitesses d'apparition des nouvelles feuilles et donc avec la vitesse de croissance des plants. L'absence de corrélation entre *RGR* (croissance relative en hauteur) et *LLS* laisse cependant supposer le contraire (**Tableau VII**). L'effet de l'alternance des saisons sèches et humides du climat guyanais, n'intervient certainement pas ou peu dans la diversité des *LLS* observée et il a déjà été montré que dans cet environnement tropical, phénologie et démographie foliaire ne sont pas saisonnières (Reich et al. 2004).

La durée de vie des feuilles, connue pour varier très fortement entre espèces et biomes (Chabot and Hicks 1982), fait partie des traits permettant de décrire le compromis universel entre une acquisition rapide et une conservation efficace des ressources à l'échelle de la feuille (Wright et al. 2004). Ainsi un fort *LMA* associé à une longue *LLS* sont l'expression d'une longue conservation des nutriments et d'une réponse lente à des conditions favorables de croissance (Westoby et al. 2002). Comme la probabilité de dégâts par les herbivores augmente avec la durée de vie, les feuilles à fort *LLS* devraient contenir plus de composés et/ou de

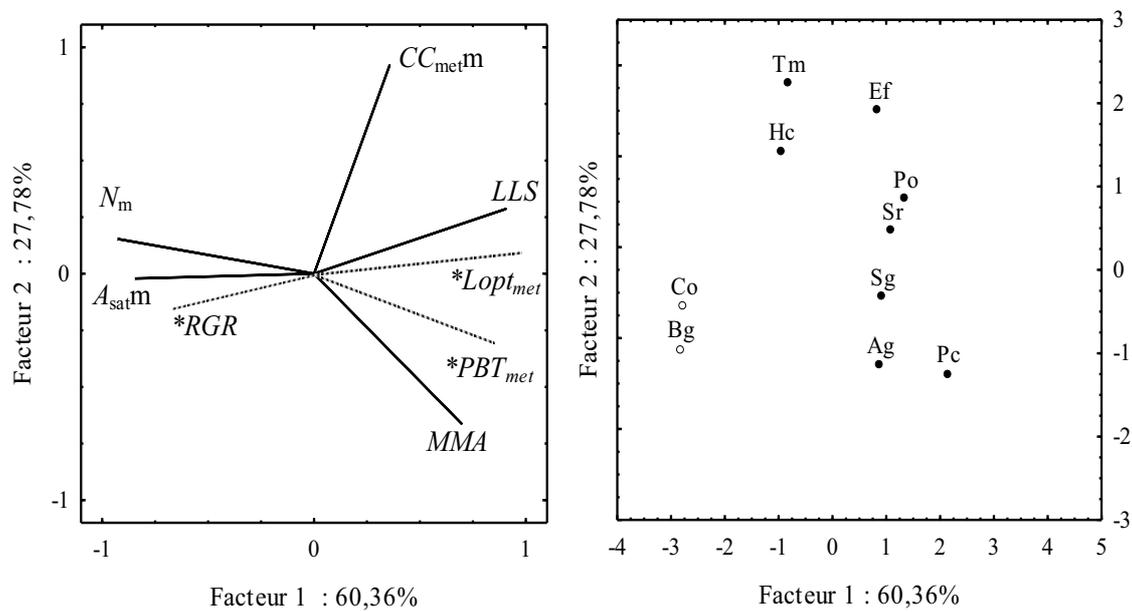


Figure 37: Analyse en composantes principales pour 10 espèces et 5 variables à t_{20} . Le cercle des corrélations des variables projetées sur le plan constitué par les axes 1 et 2 est représenté à gauche et la projection des espèces (voir tableau I pour les abréviations) dans le plan factoriel constitué par ces mêmes axes, à droite. Les variables sont le MMA ($g\ m^{-2}$), la durée de vie des feuilles (LLS , jours), le coût de construction du métamère (CC_{metm} , $g\ glucose\ g^{-1}$), l'assimilation nette (A_{satm} , $nmol\ g^{-1}\ s^{-1}$) et la concentration totale en N foliaire (N_m , $mg\ g^{-1}$). Les variables inactives (*) sont PBT_{met} , $Lopt_{met}$ (en jours) et le RGR ($cm\ cm^{-1}\ an^{-1}$). Les espèces pionnières sont représentées par des symboles blancs. Données issues du projet de publication 1.

structures de défense (Coley 1988, Eamus 1999) et par conséquent présenter des valeurs de *LMA* plus fortes (Grime et al. 1996, Hanley and Lamont 2002). La relation prédite entre *LMA* et *LLS* a été observée pour un grand nombre d'espèces et d'habitats (Rice and Bazzaz 1989, Reich et al. 1997, Williams-Linera 2000, Westoby et al. 2002) tandis que dans le cadre de notre étude, aucune corrélation n'a pu être mise en évidence entre *LLS* et *LMA* ou ses composantes (épaisseur et densité, **Tableau VII**). En définitive, aucun élément ne nous permet d'établir une relation entre les feuilles à fort *LMA*, un investissement plus important dans des composés de défense (fortes teneurs en *C* ou *CC* élevés) et une durée de vie plus longue. Cependant, si *LLS* et CC_{1m} ne sont pas corrélés, nous avons constaté que les espèces avec les valeurs de *LLS* les plus élevées étaient également les espèces dont les structures de support étaient les plus onéreuses (i.e. fort $CC_{p,m}$ et $CC_{s,m}$), suggérant que la durée de vie des feuilles doit non seulement être longue pour rembourser le coût de la feuille mais aussi et surtout celui des structures de support. L'absence de corrélation entre *LLS* et $CC_{met,m}$ ne permet pas, bien au contraire, de valider une telle hypothèse. La corrélation négative observée entre *LLS* et l'assimilation nette en lumière saturante ($A_{sat,m}$, $nmol\ g^{-1}\ s^{-1}$), quoique faible ($r^2=0,42$), supporte l'hypothèse de l'existence d'un compromis entre une forte assimilation et le maintien de cette assimilation sur une longue période (Chabot and Hicks 1982, Kikuzawa 1991, Reich et al. 1991a). Cependant les espèces pour lesquelles *LLS* n'a pu être estimé ($LLS > 780$ jours) n'ont pas systématiquement les plus faibles capacités photosynthétiques.

Une analyse en composantes principales appliquée aux différents traits participant au bilan de *C* à l'échelle du métamère illustre leurs principales covariations (**Figure 37**) : ainsi plus de 60% de la variabilité observée est expliquée par un axe opposant $A_{sat,m}$ et N_m à *LLS* et *MMA* ; $CC_{met,m}$ variant indépendamment. Ainsi, même si aucune corrélation n'a été observée entre *LLS* et *MMA* (ou *LMA*), une longue durée de vie ou un fort *MMA* n'est généralement pas associé à de fortes capacités photosynthétiques. *RGR* (variable inactive dans l'ACP) se positionne le long de cet axe, bien que contrairement à ce qu'on pouvait espérer (Reich et al. 1997), aucune relation significative n'ait été observée entre *RGR* et *LLS* ou les capacités photosynthétiques.

Enfin, la longévité des feuilles est fréquemment considérée avoir avant tout une fonction de « remboursement » des coûts de construction des limbes (Chabot and Hicks 1982, Williams et al. 1989, Sobrado 1991) et des structures de support (Kitajima et al. 1997). Cependant, la relation entre *LLS* et *PBT* est relativement faible ($r^2=0.56$, $P = 0.03$) et lorsque les coûts des structures de support sont pris en compte, aucune relation significative n'est observée

(**Tableau VII**). Ces résultats, comme les précédents, montrent que la relation entre durée de vie et temps de retour sur investissement n'est pas systématique (Navas et al. 2003). Ainsi, selon les espèces, PBT_{met} représente entre 4 (*C. proceru*) et 22% (*C. obtusa*) de LLS . Puisque LLS comme PBT , ne sont pas proportionnels à CC_{met} , la relation positive entre eux est en grande partie expliquée par la variabilité des gains de C entre espèces (Villar and Merino 2001), comme le confirme l'analyse en composantes principales (**Figure 37**). Quoiqu'il en soit, les valeurs de PBT sont systématiquement très inférieures à celle de LLS , et quelle que soit l'espèce considérée, l'investissement nécessaire pour mettre en place un nouveau métamère est dans tous les cas très largement amorti (**Figures 35 et 36**).

Comparaison entre les durées de vie optimales et mesurées des feuilles

Quelle que soit l'espèce concernée, la durée de vie réelle des feuilles (LLS) est toujours très nettement supérieure à nos estimations de durée de vie optimale ($Lopt$ et $Lopt_{met}$). D'après le modèle de Kikuzawa, la durée de vie des feuilles diminue lorsque (i) l'assimilation photosynthétique journalière initiale est forte, (ii) les coûts de construction sont faibles et (iii) le temps nécessaire pour que l'assimilation nette devienne nulle est court. Ces prédictions sont en accord avec les données observées dans la littérature (Coley 1988, Kitajima et al. 1997, Wright et al. 2004). On notera cependant que si la corrélation entre durée de vie des feuilles et capacité photosynthétique initiale a largement été démontrée (Reich et al. 1991a, Reich et al. 1992, Wright et al. 2004), en comparaison les données sur la relation entre LLS et la vitesse de diminution des capacités photosynthétiques (i.e. A_{sat}/b) sont rares (Kitajima et al. 1997, Kitajima et al. 2002). Pour les espèces tropicales étudiées, LLS augmente significativement lorsque b augmente (**Tableau VII**), confirmant ainsi que le déclin des capacités photosynthétiques avec l'âge des feuilles est plus rapide chez les espèces avec de faibles LLS (Kitajima et al. 1997, Kitajima et al. 2002). Les relations entre assimilation journalière (A_{est}), coûts de construction des métamères et la durée de vie des feuilles ont été discutées dans le paragraphe précédent et une analyse en composantes principales a confirmé l'existence d'un compromis entre $A_{sat,m}$ et N_m d'un côté et LLS et MMA (ou LMA) de l'autre ; CC_m variant indépendamment de cet axe (**Figure 37**).

Si les prédictions du modèle sont confirmées, et bien que LLS et $Lopt_{met}$ soit fortement corrélés, les faibles valeurs de $Lopt_{met}$ que nous avons obtenues, restent tout de même à expliquer. Pourquoi un arbre maintiendrait-il ses feuilles après que le gain marginal foliaire en C ne soit plus maximal? Les différences observées entre LLS et $Lopt_{met}$ peuvent être

expliquées par différentes hypothèses : (i) une mauvaise estimation de $Lopt_{met}$, liée essentiellement à une sous-estimation du paramètre b , (ii) le nombre de feuilles portées par un arbre n'est pas limité (rejet de l'hypothèse principale de départ), ce qui est certainement le cas chez nos jeunes plants en croissance, et (iii) les feuilles sont réellement maintenues au-delà de leur gain marginal maximal et peut être même jusqu'à ce que leur assimilation nette en C soit nulle, comme le suggèrent les valeurs de LLS plus proches de celles de b que de celles de $Lopt_{met}$ (**Figure 35 et 36**). La validation de cette dernière hypothèse impliquerait que l'arbre ne maximise pas son gain de C.

Comportement des espèces pionnières

Les deux espèces pionnières se distinguent très nettement des autres sur l'axe révélé par l'ACP appliquée aux traits relatifs au bilan de C à l'échelle de la feuille. Ainsi, *C. obtusa* et *B. guianensis* possèdent toutes deux de fortes capacités photosynthétiques et de fortes concentrations en N foliaire associées à de courtes durées de vie des feuilles (**Figure 37**). Ce sont également pour ces deux espèces que les PBT , PBT_{met} (avec ceux de l'espèce *H. courbaryll*), $Lopt$ et $Lopt_{met}$ les plus faibles ont été mesurés. Les autres espèces, elles, se distinguent essentiellement par des différences de CC_{met} et de MMA (**Figure 37**).

Une très forte diversité interspécifique a été observée pour l'ensemble des traits étudiés, et les espèces se répartissent le long d'un axe opposant les capacités photosynthétiques, les teneurs en N et les PNUE, aux durées de vie et LMA (MMA). Les coûts de construction des métamères varient indépendamment de cet axe. A t_{20} , toutes les espèces remboursent très largement l'énergie investie dans le déploiement de la surface assimilatrice et aucune corrélation n'a été observée entre PBT_{met} et LLS . Les différences observées entre les durées de vie optimales estimées et les durées de vie réelles mesurées, suggèrent que les feuilles peuvent être maintenues même lorsque leur gain marginal n'est plus maximal, ne permettant alors plus à l'arbre d'optimiser son gain de C.

III.2 Plasticité phénotypique en réponse à la disponibilité en lumière

III.2.1 Les coûts de construction des métamères

Comparativement aux connaissances sur la plasticité phénotypique des traits comme les capacités photosynthétiques ou la structure des feuilles, les effets de la lumière sur les coûts de construction sont relativement peu connus. Dans notre étude, un effet significatif de

Tableau IX: Résultats d'une Anova factorielle, pour les effets espèce (13 espèces) et éclairement relatif (3 traitements, t_5 , t_{10} et t_{20}) et leur interaction, sur les traits foliaires. $n=8$ à 10 individus par espèce x traitement. Les valeurs de F et de P sont indiquées. A l'exception de CC_{Lm} , CC_{Pm} , CC_{Sm} , LMA , épaisseur, Chl_a et les teneurs en C et en cendres des tiges, toutes les variables ont été transformées (\log_{10}). Les moyennes (\pm intervalles de confiance au seuil de 95%) sont indiquées pour chacun des deux éclairements relatifs. Pour chaque trait, le coefficient de rang de Spearman, entre les valeurs moyennes par espèces pour les deux éclairements, est indiqué. Degré de significativité: ns, $P>0,05$; *, $P \leq 0,05$; **, $P \leq 0,01$ et ***, $P \leq 0,001$. Données issues du projet de publication 2.

	Espèces	Eclairement	Esp. x Ec.	t_5	t_{10}	t_{20}	r de Spearman (t_{20} vs. t_5)
CC_{Lm} ($g\ g^{-1}$)	98.6***	16.5***	3.42***	1.47±0.02a	1.50±0.02b	1.46±0.02a	0.83***
CC_{Pm} ($g\ g^{-1}$)	173***	25.2***	4.01***	1.31±0.02a	1.34±0.02b	1.34±0.02b	0.90***
CC_{Sm} ($g\ g^{-1}$)	37.6***	4.48***	1.56 ns	1.29±0.02a	1.29±0.02a	1.31±0.02b	0.81***
CC_{metm} ($g\ g^{-1}$)	111***	5.57***	2.98***	1.39±0.02ab	1.48±0.036a	1.38±0.02b	0.91***
LMA ($g\ m^{-2}$)	86.6***	271***	6.61***	45.8±2.3a	56.4±3.2b	73±4.2c	0.95***
PMA ($g\ m^{-2}$)	296***	168***	3.08***	13.2±1.1a	17.3±1.5b	22.6±2.4c	0.96***
SMA ($g\ m^{-2}$)	29.3***	74.5***	4.52***	23.7±5.4a	39.0±9.4b	75.5±15c	0.82***
MMA ($g\ m^{-2}$)	38.7***	150***	4.23***	80.0±8.0a	108±12b	166±18c	0.76***
CC_{La} ($g\ m^{-2}$)	93.0***	231***	3.51***	67.1±3.2a	84.3±4.7b	106±6.2c	0.82***
CC_{metA} ($g\ m^{-2}$)	50.4***	162***	4.07***	107±9.8a	143±15b	210±22c	0.86***
surface (cm^2)	354***	6.70***	2.35***	432±80a	468±87a	412±81b	0.98***
épaisseur (μm)	140***	69.8***	3.15***	167±11a	182±11 b	206±13c	0.90***
densité ($g\ cm^{-3}$)	148***	90.4***	3.20***	0.29±0.02a	0.33±0.02b	0.38±0.02c	0.87***
Chl_a ($\mu mol\ m^{-2}$)	57.9***	107***	1.07 ns	598±28a	658±32b	469±32c	0.96***
<i>Limbe</i>							
N_m (%)	160***	228***	2.34***	1.88±0.13a	1.74±0.11b	1.27±0.10c	0.98***
C_m (%)	114***	9.44***	3.79***	46.0±0.4a	46.6±0.5b	46.4±0.4b	0.83***
Cendres (%)	78.2***	6.11**	3.66***	7.34±0.4a	7.85±0.4b	7.77±0.4ab	0.80***
<i>Pétiole+veine</i>							
N_m (%)	77.4***	104***	11.9***	0.94±0.13a	0.83±0.08a	0.56±0.03b	0.87***
C_m (%)	244***	39.3***	6.12***	43.6±0.7a	44.5±0.6b	44.8±0.5c	0.90***
Cendres (%)	115***	1.38 ns	3.28***	8.05±0.75a	7.74±0.61a	7.46±0.60a	0.80***
<i>Tige (entre-nœud)</i>							
N_m (%)	60.7***	31.1***	4.66***	0.78±0.15a	0.63±0.11a	0.39±0.04b	0.67**
C_m (%)	61.6***	13.8***	3.01***	43.6±0.6a	44.1±0.5b	44.8±0.4c	0.70**
Cendres (%)	28.2***	11.7***	3.83***	6.71±0.8a	5.56±0.6b	4.83±0.5b	0.38 ns

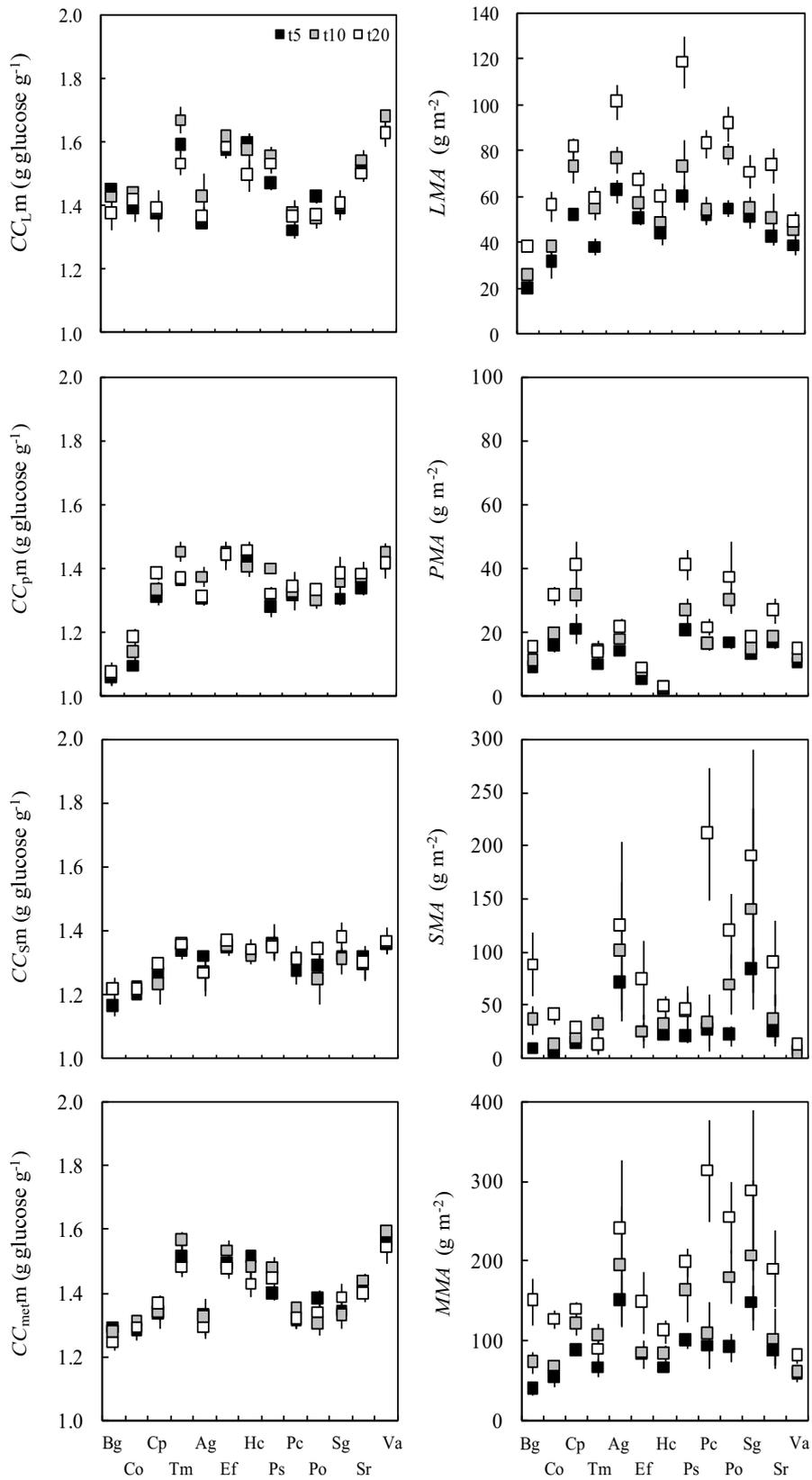


Figure 38: Effet de l'éclairement reçu (exprimé en % du rayonnement incident extérieur) sur les coûts de construction spécifiques (g glucose g^{-1}) des limbes (CC_{Lm}), des pétioles (CC_{Pm}), des tiges (CC_{Sm}) et du métamère (CC_{metm}) et sur les rapports biomasse/surface (g m^{-2}) des limbes (LMA), des pétioles (PMA), des tiges (SMA) et du métamère (MMA). Les valeurs moyennes (\pm intervalles de confiance au seuil de 95%) sont indiquées pour les 13 espèces étudiées (voir Tableau I pour abréviations) et les trois traitements t_5 , t_{10} et t_{20} . *Données issues du projet de publication 2.*

l'éclairement relatif a été observé pour les CC_m , ainsi que pour les caractéristiques biochimiques et morphologiques des espèces.

Coûts de construction spécifiques

Quel que soit l'organe considéré, les coûts de construction spécifiques varient significativement avec l'éclairement relatif, bien que l'effet observé soit moindre que l'effet espèce (**Tableau IX**). L'effet traitement (t_5 , t_{10} ou t_{20}) n'est cependant pas le même selon l'espèce considérée (i.e. il existe une interaction entre l'effet espèce et l'effet traitement). Selon les espèces $CC_{L,m}$ peut diminuer quand l'éclairement augmente (e.g. *B. guianensis* et *H. courbaril*), ne pas être affecté (e.g. *A. guianensis*) et plus rarement, augmenter au niveau intermédiaire, t_{10} (*T. melinonii*, **Figure 38**). Ces résultats illustrent finalement assez bien les apparentes contradictions de la littérature. Certains auteurs ont observé que les feuilles d'ombre avaient de plus faibles $CC_{L,m}$ que celles de lumière (Williams et al. 1989, Niinemets 1999b), d'autres exactement l'inverse (Sims and Percy 1994, Baruch et al. 2000). Poorter et al. (2006a), à partir d'une base de données regroupant 37 espèces (incluant des espèces herbacées), ont estimé que CC_m baisse en moyenne de 4% avec la diminution de l'éclairement relatif (de 90% à 3% du rayonnement solaire). La différence entre les résultats obtenus et la tendance générale synthétisée par Poorter et al (2006a) peut éventuellement être liée à 2 facteurs : (i) nous avons utilisé un gradient de lumière plus faible que les auteurs précédents et/ou (ii) notre calcul des CC_m fait intervenir la teneur en N totale qui diminue fortement entre les traitements t_{20} et t_5 (**Tableau IX**). Il semblerait cependant, que N_m ne contribue que très peu à la variabilité des CC_m (Villar and Merino 2001). Quoiqu'il en soit plusieurs études ont déjà montré que l'effet de l'éclairement relatif variait selon les espèces (Williams et al. 1989, Niinemets 1999b, Barthod and Epron 2005). La plasticité des $CC_{L,m}$ en réponse à l'éclairement peut être interprétée de différentes manières : d'un côté une augmentation de $CC_{L,m}$ à la lumière, peut correspondre à une augmentation de la machinerie photosynthétique (Griffin 1994), de l'autre, une augmentation à l'ombre, où les *LLS* sont supposés être plus forts ainsi que, *a priori*, les risques de dommages et d'herbivorie, peut correspondre à une augmentation de l'investissement dans les structures et composés de défense. Comme pour les limbes, les CC_m des structures de soutien (pétioles et tiges) ainsi que $CC_{met,m}$, ont tendance à augmenter entre t_5 et t_{20} , mais l'éclairement relatif n'affecte pas les espèces de manière équivalente. Le classement général des espèces pour les CC spécifiques reste cependant constant entre les deux traitements extrêmes (**Figure 38, Tableau IX**).

Différents composés peuvent être à l'origine des changements de CC_m le long d'un gradient de lumière. Il a déjà été montré que les concentrations en lignine augmentaient avec la lumière aux dépens des celluloses et hémicelluloses (Niinemets and Kull 1998, Niinemets 1999b). Les hydrates de carbones non structuraux peuvent également contribuer à la variabilité des CC (Griffin et al. 1996, Poorter and Villar 1997). De plus, différentes compositions chimiques peuvent aboutir à des coûts de construction similaires, entraînant ainsi une apparente insensibilité de ces derniers à l'éclairement relatif, comme c'est le cas de certaines des espèces étudiées (Chapin III 1989, Poorter and Villar 1997).

Caractéristiques morphologiques des métamères

La surface moyenne des feuilles diminue avec l'éclairement relatif. En conséquence, les rapports des biomasses des organes à la surface foliaire déployée augmentent très fortement du traitement t_5 au traitement t_{20} (**Tableau IX**). L'amplitude de la réponse plastique diffère entre les espèces mais leur classement est maintenu aux différents traitements. En conséquence, la plus grande partie des relations observées à t_{20} (§ III.1.1) est maintenue à t_5 (*Projet de publication 2*).

Structure et composition chimique des feuilles

Comme cela a été fréquemment observé, la structure des feuilles est très fortement modifiée par l'éclairement reçu (Rijkers et al. 2000, Valladares et al. 2000, Rozendaal et al. 2006). Ainsi, les feuilles des semis élevés sous faibles éclaircissements sont plus fines, moins denses et ont des LMA plus faibles que les feuilles des plants élevés dans des conditions d'éclairement moins limitantes (**Tableau X et Figure 39**). Contrairement aux coûts de construction, l'effet traitement sur LMA est très nettement supérieur à l'effet espèce (**Tableau X**). De tels ajustements structuraux sont supposés permettre aux feuilles de lumière de maximiser la fixation du C et aux feuilles d'ombre de maximiser l'interception de lumière. Ainsi, les feuilles de lumière augmentent leurs capacités de photosynthèse en augmentant N_a et en multipliant les couches de cellules mésophylliennes (i.e. le volume de la machinerie photosynthétique) (Ellsworth and Reich 1993).

Les teneurs en N et en C foliaire (N_m et C_m , $m\ g^{-1}$) diminuent significativement quand l'éclairement relatif augmente. La diminution de N_m est quelque peu surprenante de prime abord puisque usuellement cette variable est très peu plastique en réponse à un gradient de lumière (Ellsworth and Reich 1993, Niinemets 1997c, Niinemets and Kull 1998, Rijkers et al.

Tableau X: Résultats d'une Anova factorielle, pour les effets espèce (12 espèces) et éclairage relatif (2 traitements, t_5 et t_{20}) et leur interaction, sur les traits foliaires. $n=5$ à 7 individus par espèce x traitement. Les valeurs de F et de P sont indiquées. A l'exception de $\delta^{13}C$ (‰), C_m (mg g⁻¹) et WUE_i ($\mu\text{mol mol}^{-1}$), toutes les variables ont été transformées (racine carré pour R_{da} et R_{dm} , \log_{10} pour toutes les autres). Les moyennes (\pm intervalles de confiance au seuil de 95%) sont indiquées pour chacun des deux éclairages relatifs. Pour chaque trait, le coefficient de rang de Spearman, entre les valeurs moyennes par espèce pour les deux éclairages, est indiqué. Degré de significativité: ns, $P>0,05$; *, $P\leq 0,05$; **, $P\leq 0,01$ et ***, $P\leq 0,001$. Données issues du projet de publication 1.

	Espèce	Eclairage	Esp x Ec	t_5	t_{20}	r de Spearman
	F	F	F	moyennes	moyennes	
Traits structuraux						
LMA (g m ⁻²)	53.0***	153***	1.30 ns	47.3±4.1	65.7±5.4	0.94***
épaisseur (μm)	71.1***	88.6***	1.51 ns	166±16	203±17	0.95***
densité (g cm ⁻³)	96.1***	52.1***	0.63 ns	0.30±0.02	0.34±0.03	0.99***
$LDMC$ (mg g ⁻¹)	58.5***	27.8***	1.62 ns	343±19	376±22	0.92***
C_m (mg g ⁻¹)	116***	36.9***	7.46***	451±6.8	459±5.6	0.92***
N_a (mg m ⁻²)	11.3***	14.5***	1.30 ns	0.90±0.05	1.03±0.07	0.71**
N_m (mg g ⁻¹)	53.6***	39.4***	1.09 ns	21.6±2.3	17.6±1.8	0.97***
Chl_a ($\mu\text{mol m}^{-2}$)	17.5***	18.6***	1.47 ns	602±39	537±52	0.91***
Chl_m ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	14.7***	128***	1.75 ns	14.2±1.3	8.70±0.9	0.83***
Traits fonctionnels						
V_{cmaxa} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	15.6***	63.8***	1.02 ns	30.4±3.2	46.7±4.9	0.76**
J_{maxa} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	18.4***	69.2***	2.48**	43.9±3.5	69.3±8.2	0.80*
R_{da} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	5.25***	34.4***	2.76**	0.43±0.07	0.87±0.16	0.42 ns
V_{cmaxm} (nmol g ⁻¹ s ⁻¹)	38.4***	1.57 ns	1.02 ns	797±154	839±142	0.76*
J_{maxm} (nmol g ⁻¹ s ⁻¹)	49.3***	0.47 ns	2.09 *	1122±176	1276±246	0.70*
R_{dm} (nmol g ⁻¹ s ⁻¹)	9.16***	8.81**	1.88 ns	10.3±2.1	16.1±3.9	0.64*
J_{max}/V_{cmax}	2.59**	2.18 ns	3.11**	1.53±0.08	1.48±0.06	0.07 ns
A_{sata} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	18.3***	76.9***	1.24 ns	4.48±0.4	6.87±0.7	0.89***
A_{sat}^m (nmol g ⁻¹ s ⁻¹)	42.8***	0.83 ns	1.29 ns	116±20	124±22	0.71*
V_{cmax}/N ($\mu\text{mol mmol}^{-1} \text{s}^{-1}$)	15.3***	37.2***	0.56 ns	0.48±0.05	0.63±0.05	0.80**
J_{max}/N ($\mu\text{mol mmol}^{-1} \text{s}^{-1}$)	16.7***	38.3***	2.40 **	0.70±0.05	0.93±0.09	0.59*
A_{max}/N ($\mu\text{mol mmol}^{-1} \text{s}^{-1}$)	13.0***	35.0***	0.9 ns	0.07±0.01	0.09±0.01	0.90***
Chl/N ($\mu\text{mol mmol}^{-1}$)	24.5***	64.3***	1.24 ns	9.98±0.9	7.69±0.9	0.92***
$\delta^{13}C$ (‰)	21.1***	89.0***	1.00 ns	-32±0.5	-30±0.5	0.76**
g_s (mmol m ⁻² s ⁻¹)	15.6***	55.4***	2.05*	91.8±11	150±29	0.76**
WUE_i ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)	5.81***	1.07 ns	1.62 ns	53.1±3.4	50.9±3.8	0.52 ns

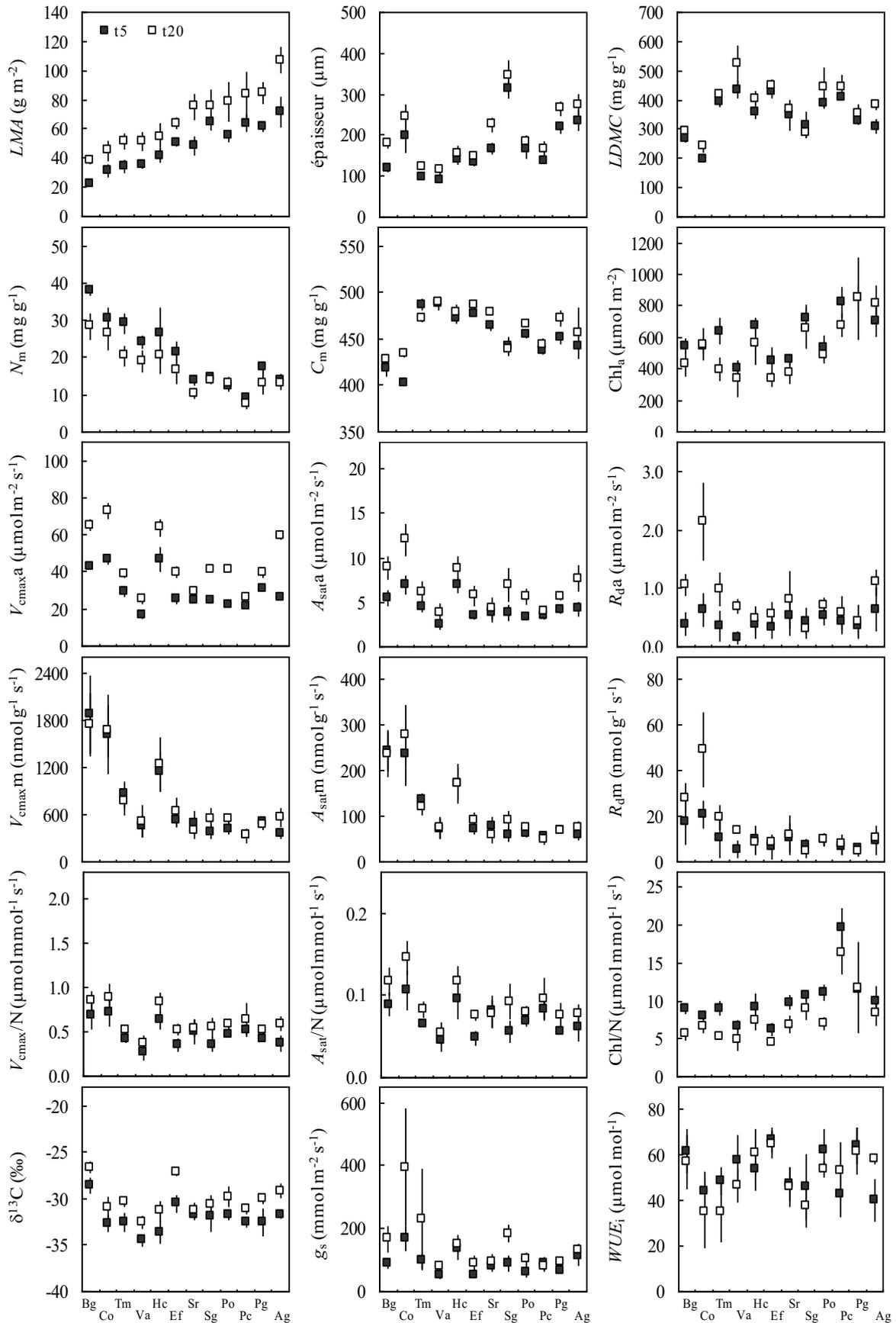


Figure 39: Effet de l'éclairage reçu (exprimé en % du rayonnement incident extérieur) sur 18 traits structuraux et fonctionnels. Les valeurs moyennes (\pm intervalles de confiance au seuil de 95%) sont indiquées pour les 12 espèces étudiées (voir Tableau I pour abrégations) et les deux traitements t_5 et t_{20} . Les espèces sont classées par ordre croissant selon leurs valeurs moyennes de LMA à t_{20} . Données issues du projet de publication 1.

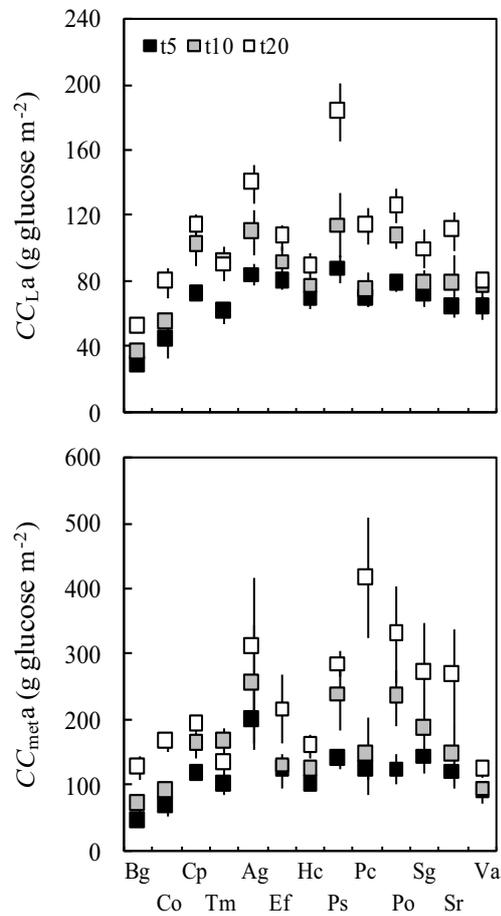


Figure 40: Effet de l'éclairement reçu (exprimé en % du rayonnement incident extérieur) sur les coûts de construction du limbe (CC_{La}) et du métamère (CC_{met}^a) exprimé par unité de surface assimilatrice déployée ($g\ glucose\ m^{-2}$). Les valeurs moyennes (\pm intervalles de confiance au seuil de 95%) sont indiquées pour les 13 espèces étudiées (voir Tableau I pour abréviations) et les trois traitements t_5 , t_{10} et t_{20} . *Données issues du projet de publication 2.*

2000). Dans le cadre d'une étude réalisée en serre, comme c'est le cas ici, où les plants sont élevés en pots, une telle diminution de l'N foliaire dans le traitement de lumière le plus élevé, où la croissance des plants est la plus forte, pourrait être attribuée à des carences en N, en dépit de la fertilisation. Cependant l'augmentation de $PNUE$ à t_{20} (§III.2.2) montre bien que cette limitation potentielle n'a que très peu de conséquences. La même diminution de N_m a été constatée le long d'un gradient naturel de lumière, pour les deux espèces (*Tachigali melinonii* et *Dicorynia guianensis*) étudiées sur le terrain (*Projet de publication 3*). Malgré cette diminution, N_a ($g_N m^{-2}$), parallèlement à LMA , augmente significativement de t_5 à t_{20} (**Tableau X**).

En dépit d'une très nette diminution de LMA , les concentrations en chlorophylle foliaire diminuent significativement de t_5 à t_{20} , qu'elles soient exprimées par unité de masse ou de surface. Ces observations contrastent avec de précédentes, où habituellement, la covariation négative du LMA et de Chl_m avec l'éclairement conduit à des valeurs similaires de Chl_a , et donc à des capacités d'interception comparables, pour les feuilles d'ombre et de lumière (Poorter et al. 1995, Poorter et al. 2000, Rozendaal et al. 2006).

Coûts du déploiement de la surface assimilatrice

$CC_{met,a}$ (et $CC_{l,a}$) augmentent très nettement avec l'éclairement relatif chez l'ensemble des espèces étudiées, variant de 108 à 210 $g_{glucose} m^{-2}$ en moyenne. Cette variabilité est essentiellement liée à la très forte plasticité observée pour LMA , PMA et SMA (et donc MMA), comme le confirme le faible impact des différents traitements sur $CC_{met,m}$ (**Tableau IX**). Barthod et Epron (2005) sont parvenus à la même conclusion sur l'origine de la plasticité des coûts des pousses annuelles de plantules d'*Acer platinoïdes* et *Fraxinus excelsior*. Quoiqu'il en soit, l'amplitude de la réponse de $CC_{met,a}$ et $CC_{l,a}$ diffère entre les espèces et si les valeurs moyennes de coûts observées à t_{20} sont bien supérieures à celles observées à t_5 , la relation entre les coûts du métamère et la disponibilité en lumière n'est pas linéaire (**Figure 40**).

III.2.2 Capacités photosynthétiques et allocation de l'N foliaire

Comme cela a été fréquemment observé (Niinemets and Tenhunen 1997, Niinemets et al. 1998, Rijkers et al. 2000), les capacités photosynthétiques varient avec la disponibilité en lumière. Mais si l'éclairement relatif affecte fortement les capacités photosynthétiques lorsqu'elles sont exprimées par unité de surface ($\mu mol m^{-2} s^{-1}$), aucun effet n'est observé lorsqu'elles le sont par unité de masse ($nmol g^{-1} s^{-1}$). Un tel constat, nous a permis de conclure

Tableau XI: Résultats d'une Anova factorielle, pour les effets espèce (13 espèces) et éclairément relatif (3 traitements, t_5 , t_{10} et t_{20}) et leur interaction, sur les traits foliaires. $n=8$ à 10 individus par espèce x traitement. Les valeurs de F et de P sont indiquées. Les variables ont été transformées (\log_{10}). Les moyennes (\pm intervalles de confiance au seuil de 95%) sont indiquées pour chacun des deux éclairéments relatifs. Pour chaque trait, le coefficient de rang de Spearman, entre les valeurs moyennes par espèce pour les deux éclairéments, est indiqué. Degré de significativité: ns, $P>0,05$; *, $P\leq 0,05$; **, $P\leq 0,01$ et ***, $P\leq 0,001$. Données issues du projet de publication 2.

	Espèces	Eclairément	Esp. x Ec.	t_5	t_{10}	t_{20}	r de Spearman (t_{20} vs. t_5)
$A_{\text{sat}a}$ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	26.9***	49.6***	2.56***	5.36 \pm 0.44a	6.14 \pm 0.39b	7.53 \pm 0.31c	0.63*
$A_{\text{sat}m}$ ($\text{nmol g}^{-1} \text{s}^{-1}$)	37.8***	6.51**	2.39***	124 \pm 9.3a	119 \pm 10ab	111 \pm 9.4b	0.75**
$A_{\text{est}m}$ ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{d}^{-1}$)	57.6***	249***	4.67***	1.46 \pm 0.11a	2.08 \pm 0.14b	2.62 \pm 0.18c	0.79**
LLS (jours)*	–	–	–	>780	>780	443	0.74**
PBT (jours)	54.4***	237***	4.44***	37.6 \pm 1.9a	27.0 \pm 1.6b	21.3 \pm 1.5c	0.37 ns
$Lopt$ (jours)	321***	544***	15.4***	223 \pm 12a	182 \pm 10b	141 \pm 7.5c	0.53 ns
PBT_{met} (jours)	36.2***	37.5***	4.29***	60.0 \pm 5.5a	45.8 \pm 5.0b	41.0 \pm 4.7c	0.63*
$Lopt_{\text{met}}$ (jours)	190***	120***	6.28***	265 \pm 23a	225 \pm 21b	186 \pm 15c	0.57*
RGR ($\text{cm cm}^{-1} \text{an}^{-1}$)	101***	48.7***	3.73***	1.18 \pm 0.12a	1.26 \pm 0.11a	1.55 \pm 0.11b	0.62*

Tableau XII: Pourcentage de la variance totale des temps de retour sur investissement (PBT et PBT_{met}) et de la durée de vie optimale ($Lopt$ et $Lopt_{\text{met}}$) expliqué par chacune de leurs composantes: les coûts de construction (CC_m et $CC_{\text{met}m}$), l'assimilation quotidienne ($A_{\text{est}a}$, $\text{mol m}^{-2} \text{j}^{-1}$) et le temps au bout duquel l'assimilation des feuilles devient nulle (b , jours). Les contributions des variances intra- et interspécifiques à la variance totale sont présentées séparément. L'analyse de sensibilité a été réalisée sur l'ensemble des données des trois traitements d'éclairément relatif. Données issues du projet de publication 2.

% de la variance totale							
	PBT			$Lopt$			
	CC_{Lm}	$A_{\text{est}a}$	LMA	CC_{Lm}	$A_{\text{est}a}$	LMA	b
Interspécifique	0.16	0.27	3.12	0.01	0.02	0.24	0.54
Intraspécifique	8.62	7.36	80.5	0.67	0.57	6.22	91.7
total	8.77	7.63	83.6	0.68	0.59	6.46	92.3
	PBT_{met}			$Lopt_{\text{met}}$			
	$CC_{\text{met}m}$	$A_{\text{est}a}$	LMA	$CC_{\text{met}m}$	$A_{\text{est}a}$	LMA	b
Interspécifique	0.18	0.29	3.42	0.01	0.02	0.24	0.54
Intraspécifique	0.04	8.05	88.0	0.003	0.57	6.26	92.3
total	0.21	8.34	91.4	0.02	0.59	6.50	92.9

que la forte plasticité observée pour V_{cmax} , J_{max} et A_{sat} est dominée par des ajustements structuraux, *via* la forte plasticité phénotypique de *LMA* (**Tableau X et Figure 39**).

Chez les espèces étudiées en serre, l'augmentation des capacités photosynthétiques est associée à une augmentation de l'investissement de N dans la carboxylation (V_{cmax}/N) et le transfert d'électrons (J_{max}/N) et à une diminution de l'investissement de l'interception de la lumière (Chl/N , **Tableau X et Figure 39**). Cette tendance n'est cependant pas généralisable et dans le cas des espèces observées en forêt, l'efficacité d'utilisation de l'N de *T. melinonii* varie significativement et celle de *D. guianensis* reste constante quel que soit l'éclairement considéré (*Projet de publication 3*).

III.2.3 Bilan de C à l'échelle de la feuille

Les temps de retour sur investissement et la durée de vie optimale

Puisque l'assimilation nette journalière diminue fortement à l'ombre et bien que les CC_{met} aient également tendance à diminuer, il n'est pas étonnant de constater que les temps de retour sur investissement augmentent significativement sous faibles éclairagements (**Tableau XI**). La forte corrélation entre PBT et PBT_{met} est maintenue aux trois niveaux de lumière (**Figure 34**). Une analyse de sensibilité révèle que c'est la variabilité de *LMA* qui permet d'expliquer les réponses plastiques de PBT_{met} (**Tableau XII**). Ces résultats confirment pleinement ceux de Poorter et al. (2006a) qui concluaient que le *LMA* s'avérait être le paramètre le plus important dans la capacité d'une plante à s'acclimater à de très faibles éclairagements. Cependant, même à moins de 5% du rayonnement incident, les PBT_{met} estimés ne dépassent jamais 110 jours (**Figure 41**). Les deux espèces pionnières possèdent les valeurs de PBT_{met} les plus faibles quel que soit le traitement considéré, mais ne se distinguent ni par une plus forte ni par une plus faible amplitude de réponse que les autres espèces.

Comme attendu, les durées de vie optimales estimées ($Lopt$ et $Lopt_{\text{met}}$) augmentent à faible éclairagement. Contrairement à PBT_{met} , c'est b , le temps pour que l'assimilation soit égale à 0, qui explique la plus grande part de la variabilité des $Lopt$ en réponse à la lumière (**Tableau XII**). Les valeurs de b ont également tendance à augmenter, mais l'effet traitement n'a cependant pas pu être testé sur cette variable (b est estimé à partir d'une régression unique entre A_{sat} et le temps par espèce et par traitement). Dans t_5 , b varie de 190 (*C. obtusa*) à 1341 jours (*E. falcata*) et $Lopt_{\text{met}}$ de 104 à 395 jours (pour *B. guianensis* et *E. falcata* respectivement, **Figure 41**). Ce sont les espèces pionnières qui (*i*) possèdent systématiquement les $Lopt_{\text{met}}$ les

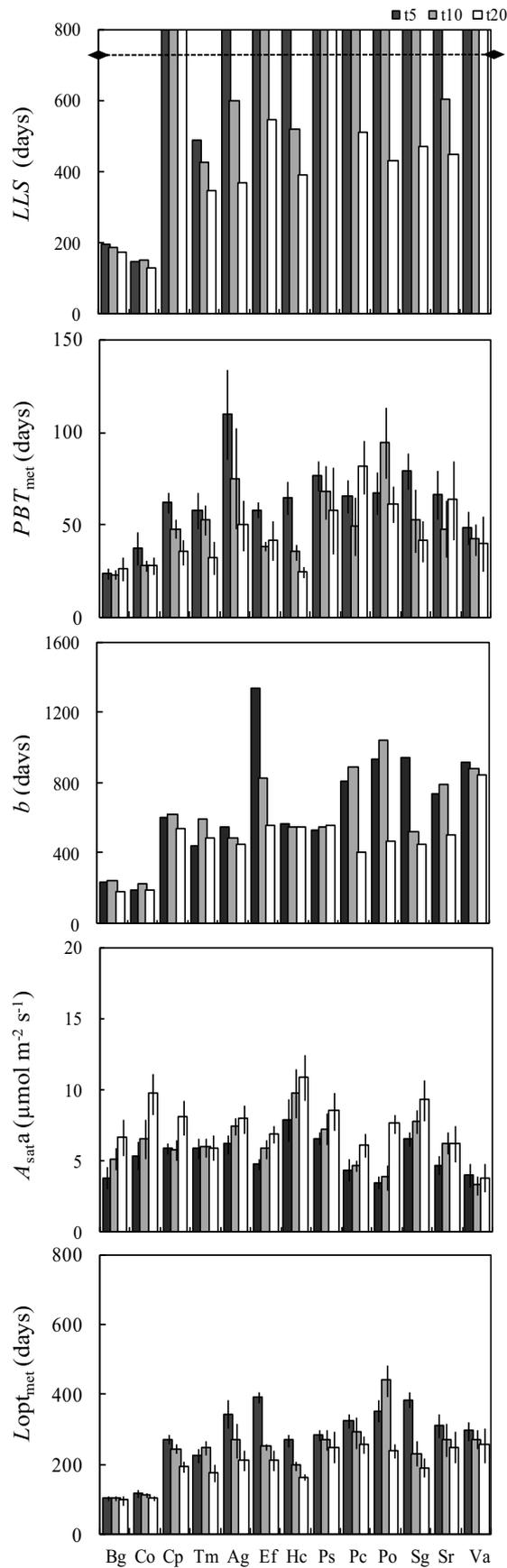


Figure 41: Effet de l'éclairement reçu (exprimé en % du rayonnement incident extérieur) sur la durée de vie (LLS , jours), le temps au bout duquel l'assimilation nette est nulle (b , jours), l'assimilation nette ($A_{sat,a}$, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), le temps de remboursement (PBT_{met} , jours) et la durée de vie optimale ($Lopt_{met}$, jours). Les valeurs moyennes (\pm intervalles de confiance au seuil de 95%) sont indiquées pour les 12 espèces étudiées (voir Tableau I pour abréviations) et les trois traitements t_5 , t_{10} et t_{20} . Pour LLS , les valeurs correspondent aux médianes et la fin de l'expérimentation est indiquée par une ligne à 780 jours. Données issues du projet de publication 1.

plus faibles et (ii) sont les moins plastiques. Si ce résultat confirme que ces espèces sont capables de maximiser leur gain de C rapidement, il est plus surprenant de constater que c'est le cas même sous de très faibles éclairagements.

La durée de vie des feuilles

Au cours de l'expérimentation, 77% des espèces n'ont pas perdu de feuille à t_5 , 54% à t_{10} contre seulement 23% à t_{20} (**Figure 41**). Bien que l'impossibilité d'estimer correctement LLS pour les espèces dans tous les traitements ne nous permette pas de le vérifier statistiquement, ce résultat nous montre bien que LLS augmente quand l'éclairement relatif diminue (Niinemets 1997a, Rijkers 2000, Reich et al. 2004, Vincent 2006). Une longue durée de vie de feuille à faible irradiance peut être interprétée comme la conséquence d'un vieillissement plus lent, dû à une activité métabolique photosynthétique plus lente, et la plasticité de LLS est supposée favoriser l'efficacité de gain du C à faible lumière (Vincent 2006). Pour l'ensemble des espèces, même pionnières, l'investissement dans la production d'une nouvelle feuille est toujours largement remboursé, même à très faible éclairage (**Figure 41**). En d'autres termes, il semblerait, qu'à ce stade et dans ces conditions, toutes nos espèces soient capables de maintenir un bilan de C foliaire positif et que ce critère ne permette pas de distinguer les espèces pionnières des autres. Les différences observées entre $Lopt_{met}$ et LLS à t_{20} sont maintenues à faible éclairage.

L'éclairement relatif modifie significativement l'ensemble des traits étudiés. Les changements de LMA entre les traitements jouent un rôle déterminant dans la plasticité des capacités photosynthétiques et des PBT_{met} . L'effet de l'éclairement relatif sur les CC spécifiques varie selon l'espèce considérée, tandis que PBT_{met} , LLS et $Lopt_{met}$ augmentent systématiquement à l'ombre.

III.3 Diversité interspécifique de la plasticité phénotypique

III.3.1 Comment quantifier la plasticité phénotypique : le choix des indices

Le choix d'un indice de plasticité n'est pas aisé, et la littérature en regorge (Valladares et al. 2006). L'approche la plus simple est de comparer les pentes des réponses des variables en fonction de l'éclairement. Cette approche a été possible dans le cadre de l'expérimentation sur le terrain où, d'une part l'éclairement relatif correspondait à un gradient continu et d'autre part, la plupart des réponses étaient linéaires chez les espèces étudiées. Dans ce cas de figure,

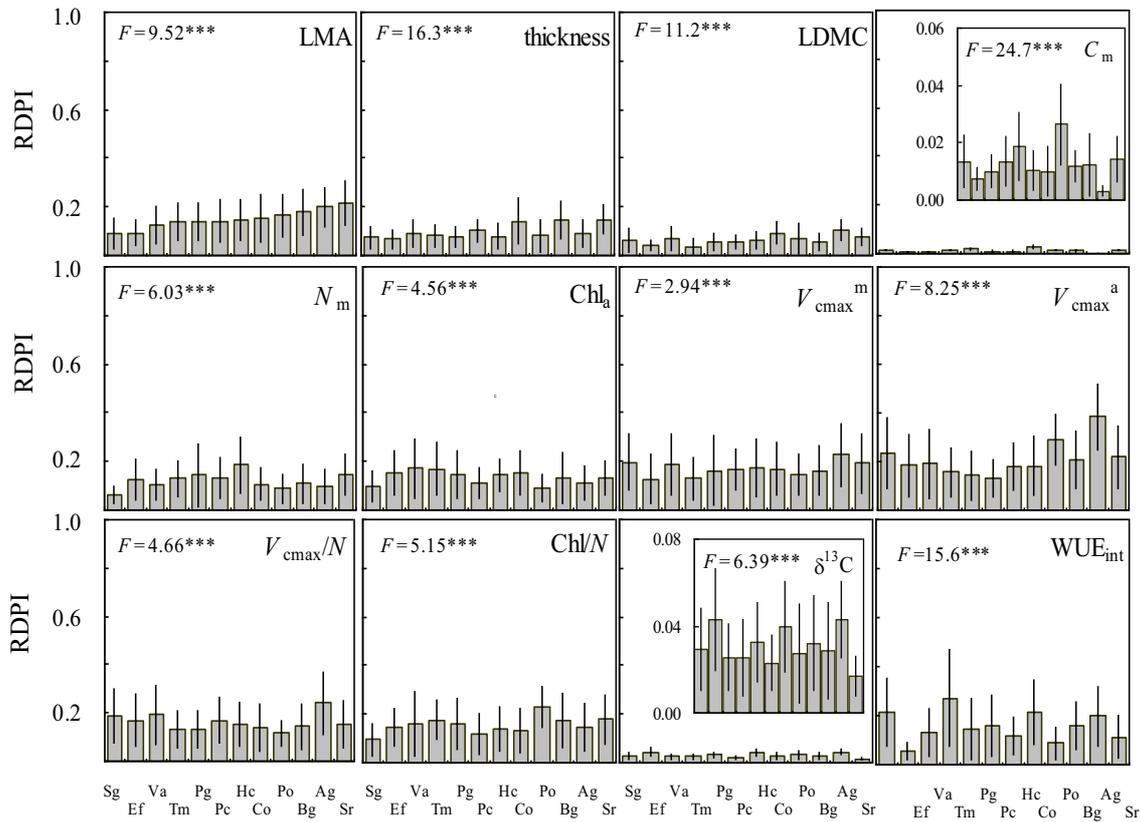


Figure 42. Valeurs moyennes (\pm intervalles de confiance au seuil de 95%) des RDPI (« relative distance plasticity index », pour 12 traits structuraux et fonctionnels pour les 12 espèces étudiées (voir Tableau I pour les abréviations). Cet indice, variant entre 0 (pas de plasticité) et 1 (plasticité maximale), a été calculé pour chaque trait et chaque espèce. Les différences entre espèces sont testées par une Anova. Les valeurs de F et de P sont indiquées. Les espèces sont classées par ordre croissant selon leurs valeurs moyennes de RDPI pour LMA à t_{20} . Degré de significativité: ns, $P > 0,05$; *, $P \leq 0,05$; **, $P \leq 0,01$ and ***, $P \leq 0,001$. Données issues du projet de publication 1.

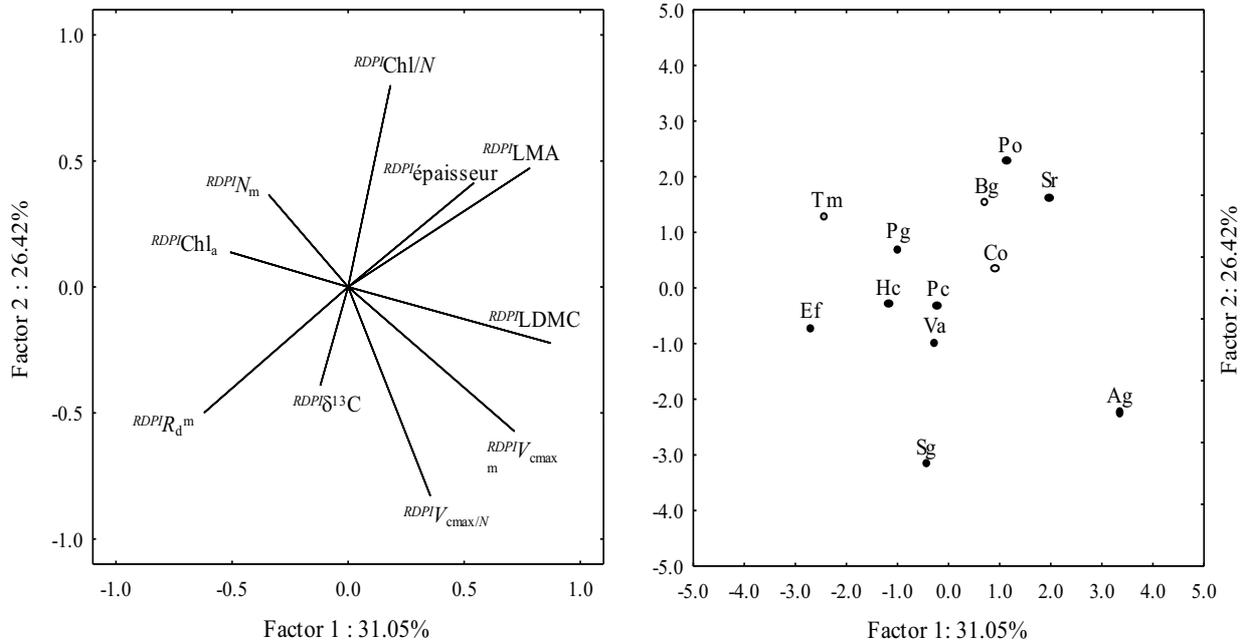


Figure 43: Analyse en composantes principales pour 12 espèces et 10 variables. Le cercle des corrélations des variables projetées sur le plan constitué par les axes 1 et 2 est représenté à gauche et la projection des espèces (voir tableau I pour les abréviations) dans le plan factoriel constitué par ces mêmes axes, à droite. Les variables sont les RDPI de LMA , l'épaisseur, le $LDMC$, la vitesse maximale de carboxylation ($V_{cmax,m}$), la respiration (R_d,m), la composition isotopique pour le C ($\delta^{13}C$), la concentration totale en N foliaire (N_m), la concentration en chlorophylle (Chl_a) et les rapports V_{cmax}/N et Chl/N . Les espèces pionnières sont représentées par des symboles blancs. Données issues du projet de publication 1.

la plasticité phénotypique a été appréhendée à l'aide d'une Ancova. Malheureusement, comme le souligne d'ailleurs très bien Valladares et al. (2006), la plupart des relations entre les variables étudiées et la lumière ne sont pas linéaires, ce qui est par ailleurs confirmé par nos données expérimentales en serre. Nous avons donc choisi d'utiliser l'indice de plasticité des distances relatives (RDPI, Valladares et al. 2006), qui présente l'avantage de permettre les comparaisons statistiques entre espèces et traits.

Si l'utilisation des indices est très utile pour comparer la plasticité de différentes espèces pour un trait donné, la comparaison de la plasticité entre traits à l'aide d'indices est plus délicate. Tout d'abord, puisque la relation entre les traits et la variable environnementale n'est pas linéaire, l'estimation de l'indice ne peut être valable que dans la gamme d'éclairiments étudiée. Ce point rend difficile la comparaison des valeurs obtenues dans d'autres études. Deuxièmement, l'indice de plasticité d'un trait est estimé à partir de sa gamme de variations naturelles ; en conséquence, la très faible variation d'un trait peut correspondre à de très fortes différences physiologiques ou structurales (comme c'est le cas de C_m dans notre étude).

Plutôt que de calculer un indice de plasticité moyen par espèce (soit la moyenne de tous les indices d'une espèce) comme cela a déjà été fait (Valladares et al. 2000, Rozendaal et al. 2006), nous avons préféré effectuer une analyse en composantes principales sur les RDPI afin de tester la plasticité globale de chaque espèce. Cette méthode, contrairement au calcul d'une plasticité moyenne, a également l'avantage de nous permettre de distinguer pour quel(s) trait(s) telle ou telle espèce est plus ou moins plastique.

III.3.2 Diversité interspécifique de la réponse plastique à l'éclairiment relatif

Bien que, comme nous venons de le voir, l'éclairiment relatif ait un effet important sur la majorité des traits, nous n'avons pas mis en évidence de différences significatives de plasticité phénotypique entre les espèces étudiées. Ce constat repose sur trois observations : (i) les effets de l'interaction entre les facteurs espèce et traitement sont faibles (**Tableaux IX**) ou non significatifs (**Tableaux X**), (ii) pour un trait donné, le classement des espèces est très largement conservé entre les différents traitements d'éclairiments relatifs et (iii) une analyse en composantes principales réalisée sur les indices de plasticité basée sur les distances relatives (RDPI) ne permet pas de discriminer les espèces (**Figure 43**).

L'absence de différences interspécifiques dans la réponse plastique des espèces à l'éclairiment relatif s'accorde avec les résultats de Rozendaal et al. (2006) et contredit l'hypothèse selon

laquelle la plasticité des traits devrait différer entre espèces et notamment être plus importante chez les pionnières que chez les espèces de sous-bois (Valladares et al. 2000). En réalité, quel que soit le traitement, t_5 , t_{10} ou t_{20} , ce sont toujours *C. obtusa* et *B. guianensis* qui possèdent les plus fortes capacités photosynthétiques et *V. americana* les plus faibles. De précédentes études ont également suggéré que les traits physiologiques étaient plus plastiques que les traits morphologiques (Valladares et al. 2000). La comparaison des indices de plasticité, nous permet de vérifier cette hypothèse ; cependant, les RDPI n'ayant quasiment jamais été utilisés auparavant (Maestre et al. 2007), il est difficile de comparer nos valeurs à des données publiées. Les plus fortes valeurs de RDPI mesurées correspondent à R_d , $R_{d,m}$, $V_{c_{max}a}$ et g_s (**Figure 42**), soit effectivement des variables physiologiques, mais l'analyse en composantes principales réalisée sur ces indices illustre très clairement l'absence de différences ou de compromis entre eux (**Figure 43**).

Les RDPI n'ont pas été calculés pour les traits relatifs au bilan de C foliaire (PBT_{met} , $Lopt_{met}$ et $CC_{met,m}$, *Projet de publication 2*), mais les résultats des Anova réalisées sur ces traits (**Tableaux IX et XI**), confirment que les espèces se distinguent relativement peu par leur degré de plasticité. Les effets interaction entre espèces et traitements, indiquent l'existence de différences dans l'amplitude de la réponse plastique des espèces, mais le classement des espèces est systématiquement conservé entre t_5 et t_{20} .

III.3.3 Plasticité phénotypique et tolérance à l'ombrage

On considère communément que les espèces pionnières (héliophiles) sont globalement plus plastiques que les espèces de sous-bois, puisqu'elles occupent des habitats de début de succession où l'environnement (lumineux) est très hétérogène. Mais ne peut-on pas également considérer que les pionnières, comme les autres espèces, peuvent être plastiques pour différents traits leur conférant différents avantages dans tels ou tels environnements (Valladares et al. 2000, Rozendaal et al. 2006) ? Dans le cas présent, les deux espèces pionnières *C. obtusa* et *B. guianensis* se distinguent très nettement des autres par leurs fortes capacités de photosynthèse, leur faible *LMA* et leur fort *PNUE*, et ce, quel que soit le traitement considéré, mais absolument pas par la plasticité d'un ou de plusieurs traits.

Nos données confirment que le classement des espèces selon leur degré de plasticité dépend du trait considéré (Bloor and Grubb 2004) et qu'aucune espèce n'est plus « plastique » que les autres sur l'ensemble des traits. Aucune covariation ou compromis de la plasticité entre les traits physiologiques et structuraux, n'a été mis en évidence. La plasticité moyenne des

espèces étudiées semble être comparable, même si les stratégies pour y parvenir diffèrent entre elles (i.e. différentes amplitudes de réponses plastiques de différents traits sont associées à chaque espèce).

III.4 Interaction entre l'ontogénèse et l'éclairement relatif

III.4.1 Taille des arbres et stades architecturaux de développement

Au cours de sa croissance et de son développement, une plante augmente à la fois en taille et complexité. Bien que dans cette étude, nous nous soyons davantage intéressés à l'augmentation de la complexité de la structure des arbres avec le temps qu'à l'augmentation de leur taille, ces caractéristiques ne sont pas indépendantes l'une de l'autre. La hauteur (H) et le diamètre basal (D) augmentent significativement du stade 1 (jeunes plants non ramifiés) au stade 3 (jeunes arbres en début de formation de leur couronne, **Figure 44**). On sait que l'éclairement relatif peut moduler le déroulement de la séquence de succession en l'accéléralant ou en la ralentissant en fonction des conditions favorables ou limitantes du milieu (Barthelemy and Caraglio 2007). Ainsi, en sous-bois (en condition de lumière limitante), des événements comme l'apparition de la ramification ou la mise en place du houppier peuvent se produire plus tard et à une hauteur plus importante donc qu'en milieu ouvert (i.e., la hauteur mesurée à un stade donné diminue lorsque l'éclairement augmente, **Figure 45**). En conséquence, plusieurs hauteurs (et probablement plusieurs âges chronologiques) peuvent correspondre à un stade donné selon les conditions environnementales (Heuret et al. 2000, Nicolini et al. 2000, Roggy et al. 2005).

III.4.2 Variabilité des traits foliaires entre les stades ontogénétiques

Les traits structuraux et physiologiques des deux espèces, *Dicorynia guianensis* et *Tachigali melinonii*, ne varient pas de la même façon au cours de l'ontogénèse. En réalité, la plupart des traits étudiés diffèrent entre les stades chez *T. melinonii*, alors que seules de faibles différences sont observées chez *D. guianensis*.

La masse surfacique, LMA (g m^{-2}) est le paramètre le plus fréquemment évoqué pour expliquer à la fois la plasticité en réponse à l'éclairement relatif et les changements ontogénétiques des traits foliaires (Niinemets 1999a, Thomas and Winner 2002, Niinemets 2006, Lusk and Warton 2007). Ainsi une augmentation de LMA avec la taille ou l'âge des arbres a souvent été observée (Thomas and Winner 2002, Mediavilla and Escudero 2003,

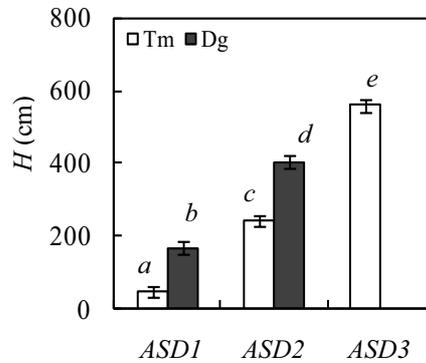


Figure 44: Effet des stades architecturaux de développement (*ASD1*; *ASD2* et *ASD3*) sur la hauteur de l'axe principal de *Tachigali melinonii* (blanc) et *Dicorynia guianensis* (noir). Les valeurs sont des moyennes ajustées (\pm erreurs types) pour un éclaircissement relatif donné ($DPF_{rel} = 26,1\%$). Une différence de moyenne significative au seuil de 95 %, selon le test statistique Post Hoc de Tukey, est indiquée par deux lettres différentes (*a*, *b*). Les *ASD3* de *Dicorynia guianensis* ont été exclus de l'analyse car ils n'ont pas été observés sur un gradient suffisant d'éclaircissement relatif. Données issues du projet de publication 3.

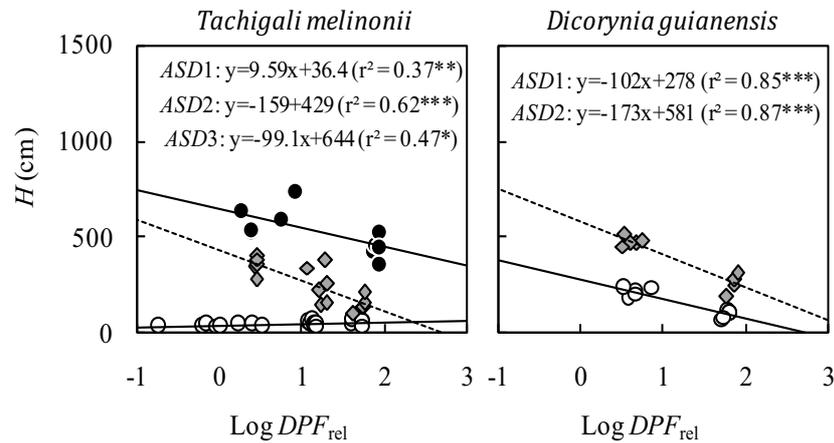


Figure 45: Relations entre hauteur de l'axe principal et éclaircissement relatif ($\log DPF_{rel}$) pour les trois stades architecturaux de développement (*ASD1*, rond blanc; *ASD2*, losange gris; et *ASD3*, rond noir) et pour les espèces *Tachigali melinonii* (gauche) et *Dicorynia guianensis* (droite). Les équations des régressions linéaires et le coefficient de détermination (r^2) sont indiqués. Degré de significativité: ns, $P > 0.05$; *, $P \leq 0.05$; **, $P \leq 0.01$ and ***, $P \leq 0.001$. Données issues du projet de publication 3.

Roggy et al. 2005). Dans cette étude, *LMA* augmente significativement avec les stades de développement architecturaux (*ASD*), pour *T. melinonii* et *D. guianensis*. Chez *T. melinonii* (**Tableau XIII**), il augmente de 59 à 69 g m⁻² entre *ASD1* et *ASD2* le long du gradient de lumière (de 0,05 to 27,5 mol m⁻² d⁻¹) tandis que chez *D. guianensis*, il augmente de 59,4 à 64,1 g m⁻². Comme nous l'avons vu précédemment, de telles variations de *LMA* peuvent être attribuées à des différences d'épaisseur et/ou de densité, ses deux composantes (Witkowski and Lamont 1991). Pour *T. melinonii*, l'épaisseur et la densité augmentent toutes les deux avec *ASD*_s, alors qu'aucune différence significative n'a été observée pour ces variables chez *D. guianensis* (**Tableaux XIII et XIV**). L'augmentation du *LMA* entre les jeunes plants et les arbres adultes pourrait être liée à la restriction du transport de l'eau ; l'augmentation des résistances hydrauliques dans les grands arbres, conduit à une restriction de l'allongement des feuilles qui peut résulter en une augmentation du *LMA*, une diminution de la taille des feuilles et une augmentation de l'épaisseur des parois cellulaires (Niinemets 2002, Thomas and Winner 2002). Si une telle hypothèse s'applique essentiellement pour des arbres adultes, des événements comme l'apparition de la ramification qui se produisent pourtant relativement tôt dans la vie d'un arbre, contribuent néanmoins à augmenter la complexité de l'architecture hydraulique de la plante et modifient, en conséquence, le transport de l'eau dans cette dernière. Parallèlement à l'épaisseur, la densité ainsi que la concentration en C foliaires (i.e. une approximation de *CC_{1,m}*) augmentent avec *ASDs* chez *T. melinonii* mais restent constantes chez *D. guianensis*.

Les effets des *ASDs* sur les capacités photosynthétiques diffèrent également entre les deux espèces. Lorsqu'elles sont exprimées par unité de surface, elles augmentent significativement entre *ASD1* et *ASD2*, chez *T. melinonii* (**Tableau XIII**) mais ne varient quasiment pas chez *D. guianensis* (**Tableau XIV**). Cependant, chez cette espèce, si l'assimilation photosynthétique n'augmente pas (ou faiblement) avec les *ASDs*, la respiration (*R_{d,a}* et *R_{d,m}*), elle, diminue significativement entre *ASD1* et *ASD2*. Chez *T. melinonii*, à l'inverse la respiration reste constante quel que soit le stade de développement. Lorsqu'ils surviennent, les changements ontogénétiques de capacité photosynthétique ont essentiellement pour origine des ajustements structuraux et, en général, l'augmentation de *LMA* est associée à une diminution de capacité photosynthétique par unité de masse (Niinemets 2002, Thomas and Winner 2002, Mediavilla and Escudero 2003, Roggy et al. 2005). Dans cette étude, quelle que soit l'espèce, les différences entre stades sont effectivement nettement plus marquées pour *V_{cm_a}* et *J_{max_a}* que pour *V_{cm_m}* et *J_{max_m}* (**Tableaux XIII et XIV**). Les deux paramètres, *V_{cm_a}* et *J_{max_a}*,

Tableau XIII: Résultats d'une Ancova avec le stade de développement (*ASD*, 3 stades) comme facteur principal et l'éclairage relatif (PFD_{rel} , %) comme covariant, appliquée à l'espèce *Tachigali melinonii*. Les valeurs de F , le degré de significativité (P) et le coefficient de détermination (r^2) du modèle sont indiqués. PFD_{rel} , H , D , LMA , N_a et J_{max}^a ont été transformés (\log_{10}) avant l'analyse. Les moyennes ajustées (\pm l'erreur type) sont indiquées pour chacun des stades de développement (moyenne du covariant, $DPF_{rel}=30\%$). Une différence de moyenne significative au seuil de 95 %, selon le test statistique post hoc de Tukey, est indiquée par deux lettres différentes (a , b). C_m et l'épaisseur ont été analysés avec un modèle de pentes séparées. V_{cmax}^m , J_{max}^m et R_d^m ont été analysés avec une Anova. Degré de significativité: ns, $P>0,05$; *, $P\leq 0,05$; **, $P\leq 0,01$ and ***, $P\leq 0,001$. Données issues du projet de publication 3.

<i>Tachigali melinonii</i>	<i>ASD</i>	DPF_{rel} (%)	$DPF_{rel} \times ASD$	modèle	<i>ASD1</i>	<i>ASD2</i>	<i>ASD3</i>
	F	F	F	r^2	$n = 20$	$n = 16$	$n = 11$
H	226***	—	15.9***	0.96	22.8±15a	238±17b	548±21c
D	72.6***	—	23.0***	0.94	1.02±0.2a	1.83±0.2b	5.42±0.3c
Traits structuraux							
LMA	26.5***	183***	—	0.88	59.3±1.8a	68.9±1.9b	77.6±2.5c
épaisseur	8.63***	—	121***	0.55	144±6.1ab	148±6a	152±7.6b
densité	19***	90.9***	—	0.80	0.41±0.02a	0.47±0.02b	0.50±0.02c
N_a	76.4***	20.3***	—	0.84	1.26±0.05a	1.82±0.05b	2.33±0.06c
N_m	38.6***	102***	—	0.77	21.8±0.8a	27.4±0.8b	31.7±1.1b
C_m	18.3***	—	9.35***	0.75	481±2.6a	498±2.5b	504±3.2c
Chl_a	24.3***	52.1***	—	0.65	527±31a	675±33b	840±42b
Chl_m	1.9 ns	189***	—	0.82	10.6±0.9	10.9±1	12.8±1.2
Traits physiologiques							
V_{cmax}^a	49.7***	98***	—	0.86	25.3±1.2a	35.2±1.3b	41.5±1.6c
J_{max}^a	40.2***	176***	—	0.89	41.6±2.2a	56.6±2.4b	63.5±3c
R_d^a	3.44*	18.1***	—	0.45	1.46±0.2a	1.88±0.2ab	2±0.2b
V_{cmax}^m	6.85**	ns	—	0.24	430±23a	526±18b	535±30b
J_{max}^m	5.40**	ns	—	0.20	678±31a	819±35b	839±60b
R_d^m	0.62 ns	ns	—	0.03	23.8±2.7	27.8±3	27.4±2.7
J_{max}/V_{cmax}	1.15 ns	7.76**	—	0.16	1.64±0.05	1.58±0.05	1.50±0.06
V_{cmax}/N	1.29 ns	22.4***	—	0.34	0.28±0.02	0.27±0.02	0.24±0.02
J_{max}/N	2.76 ns	49.7***	—	0.54	0.45±0.02	0.43±0.02	0.37±0.03
Chl/N	9.06**	—	56.3***	0.85	6.45±0.3a	5.33±0.3b	5.54±0.4c

Tableau XIV. Résultats d'une Ancova avec le stade de développement (*ASD1* et *ASD2*) comme facteur principal et l'éclairement relatif (PDF_{rel} , %) comme covariant, appliquée à l'espèce *Dicorynia guianensis*. Les valeurs de F , le degré de significativité (P) et le coefficient de détermination (r^2) du modèle sont indiqués. DPF_{rel} , H , D , et J_{max}^a ont été transformés (\log_{10}) avant l'analyse. Les moyennes ajustées (\pm l'erreur type) sont indiquées pour chacun des stades de développement (moyenne du covariant, $DPF_{rel}=33,5$ %). V_{cmax}^a a été analysé avec un modèle de pentes séparées. D , C_m , J_{max}^a , J_{max}/V_{cmax} , V_{cmax}/N et J_{max}/N ont été analysés avec une Anova. Degré de significativité: ns, $P>0,05$; *, $P \leq 0,05$; **, $P \leq 0,01$ et ***, $P \leq 0,001$. Données issues du projet de publication 3.

<i>Dicorynia guianensis</i>	<i>ASD</i>	DPF_{rel} (%)	DPF_{rel} x <i>ASD</i>	modèle	<i>ASD1</i>	<i>ASD2</i>
	F	F		r^2	$n = 10$	$n = 9$
H	110***	66.0***	—	0.92	151±14	381±15
D	74.4***	ns	—	0.81	1.74±0.1	3.24±0.1
Traits structuraux						
LMA	7.78*	164***	—	0.91	59.4±1.7	64.1±1.8
épaisseur	2.99 ns	30***	—	0.67	204±6.5	219±6.9
densité	0.16 ns	25.7***	—	0.62	0.29±0.01	0.29±0.01
N_a	4.13 ns	5.84*	—	0.37	1.29±0.1	1.56±0.1
N_m	0.66 ns	12.5**	—	0.46	22.9±1.4	24.9±1.5
C_m	0.3 ns	ns	—	0.02	500±7.6	502±5.9
Traits physiologiques						
V_{cmax}^a	0.01 ns	—	11.7***	0.77	20.5±0.8	25.9±0.8
J_{max}^a	13.1**	ns	—	0.44	30.2±0.9	41±3
R_d^a	6.87*	160***	—	0.91	0.60±0.04	0.38±0.04
V_{cmax}^m	3.79 ns	32.3***	—	0.70	367±16	422±17
J_{max}^m	6.24*	21.2***	—	0.64	544±27	662±29
R_d^m	13.6**	89.2***	—	0.87	8.92±0.7	4.92±0.7
J_{max}/V_{cmax}	6.4*	ns	—	0.27	1.48±0.02	1.57±0.03
V_{cmax}/N	0.14 ns	ns	—	0.01	0.23±0.05	0.24±0.05
J_{max}/N	0.94 ns	ns	—	0.05	0.34±0.03	0.38±0.03

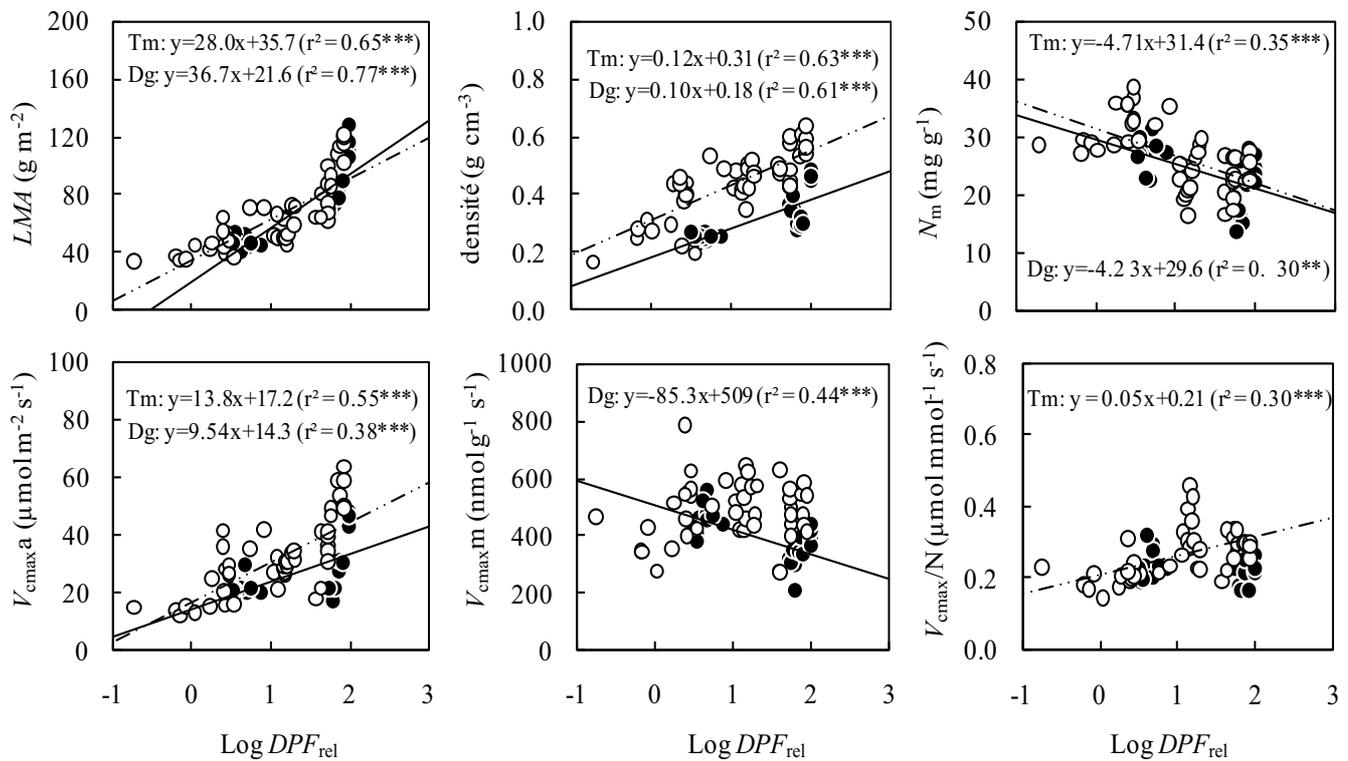


Figure 46: Relations entre les traits foliaires et l'éclairement relatif ($\log DPF_{rel}$) pour *Tachigali melinonii* (symbole blanc, régression en noir) et *Dicorynia guianensis* (symbole noir, régression en pointillées). Les équations des régressions linéaires et le coefficient de détermination (r^2) sont indiqués lorsque $P < 0.05$. Degré de significativité: ns, $P > 0,05$; *, $P \leq 0,05$; **, $P \leq 0,01$ et ***, $P \leq 0,001$. Seuls les traits pour lesquels aucune interaction n'est observée entre les $ASDs$ et l'éclairement relatif sont représentés. Données issues du projet de publication 3.

augmentent parallèlement d'un stade à l'autre, conduisant au maintien du rapport J_{\max}/V_{\max} entre les 3 *ASDs* de *T. melinonii*. Chez *D. guianensis*, ce rapport a légèrement tendance à augmenter entre les *ASD1* et *ASD2*. Cette variabilité pourrait avoir pour origine les incertitudes liées à la méthode utilisée pour estimer V_{\max} (voir § III.1.2).

Parallèlement aux capacités photosynthétiques, la concentration totale en N foliaire, N_m , augmente de *ASD1* à *ASD3*, chez *T. melinonii* et reste constante chez *D. guianensis*. En conséquence, les allocations relatives de N aux processus de carboxylation (V_{\max}/N) et de transfert d'électrons (J_{\max}/N) ne diffèrent pas d'un stade à l'autre pour aucune des deux espèces. La faible diminution de Chl/N (mesurée uniquement chez *T. melinonii*) est essentiellement une conséquence de la diminution de N_m , puisque la concentration de chlorophylle (Chl_m , $\mu\text{mol}_{\text{chlorophylle}} \text{g}^{-1}$) ne change pas, elle.

Comme les individus de *ASD3* n'ont pas été inclus dans l'Ancova réalisée pour *D. guianensis* (**Tableau XIV**), l'interprétation des différences observées d'évolution des traits au cours de l'ontogénèse entre les deux espèces nécessite certaines précautions. Cependant, les différences révélées par l'Ancova sur les 3 stades pour *T. melinonii*, sont maintenues même lorsqu'*ASD3* n'est pas pris en compte (voir l'annexe 2 du *Projet de publication 3*). Nos résultats semblent indiquer que des événements comme l'apparition de la ramification peuvent avoir un effet (mais pas systématique) sur les traits fonctionnels foliaires ; cependant, il est difficile de dissocier les effets stade des effets dimension.

III.4.3 Variabilité de la plasticité des traits entre les stades architecturaux de développement

L'effet de l'éclairement relatif sur les traits fonctionnels a été fréquemment décrit. Indépendamment des stades architecturaux de développement, l'éclairement relatif modifie la majorité des traits structuraux et physiologiques étudiés. Cependant, puisque les traits foliaires varient également au cours de l'ontogénèse et que les stades de développement eux-mêmes peuvent être modulés par l'environnement, il peut exister des interactions entre la plasticité phénotypique des espèces (sensu Bradshaw 1965) et les changements ontogénétiques (Wright and McConnaughay 2002). En d'autres termes, la réponse plastique à l'éclairement relatif peut varier entre les différents stades architecturaux de développement.

Comme attendu, nous avons observé un effet de l'éclairement relatif (DPF_{rel} , %) sur la majorité des traits morphologiques et physiologiques étudiés. Pour *T. melinonii* comme pour

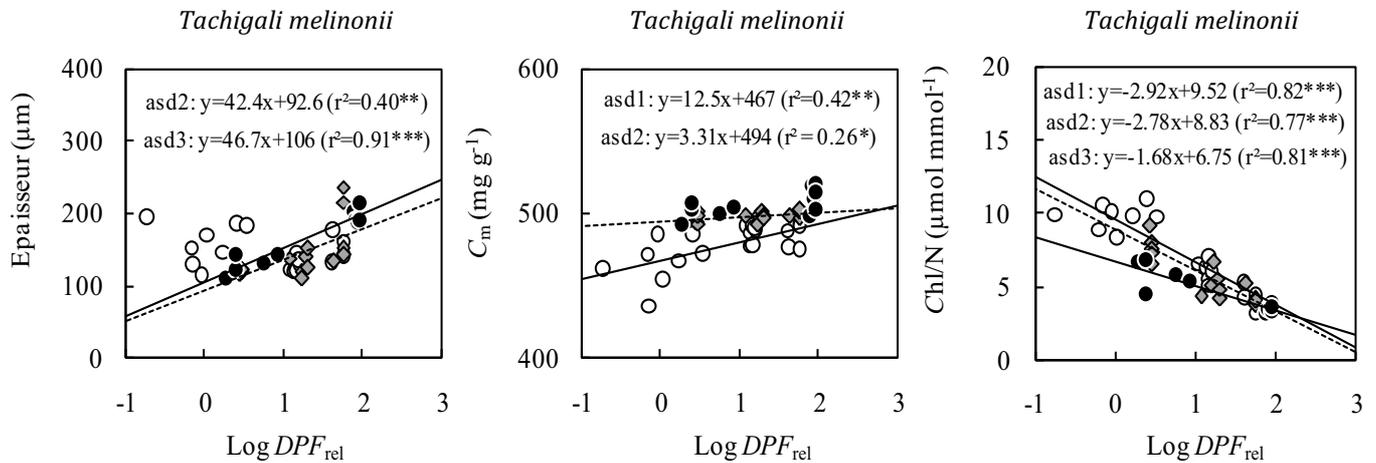


Figure 47: Relations entre l'épaisseur, la concentration en C foliaire, le rapport Chl/N et l'éclairement relatif ($\text{log DPF}_{\text{rel}}$) pour les trois stades architecturaux de développement (*ASD1*, rond blanc; *ASD2*, losange gris; et *ASD3*, rond noir) de *Tachigali melinonii*. Les équations des régressions linéaires et le coefficient de détermination (r^2) sont indiqués lorsque $P < 0,05$. Degré de significativité: ns, $P > 0,05$; *, $P \leq 0,05$; **, $P \leq 0,01$ et ***, $P \leq 0,001$. Données issues du projet de publication 3.

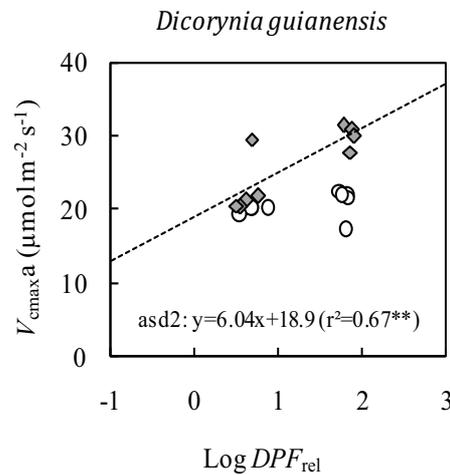


Figure 48: Relations entre l'épaisseur, la vitesse maximale de carboxylation et l'éclairement relatif ($\text{log DPF}_{\text{rel}}$) pour les trois stades architecturaux de développement (*ASD1*, rond blanc; *ASD2*, losange gris; et *ASD3*, rond noir) de *Dicorynia guianensis*. Les équations des régressions linéaires et le coefficient de détermination (r^2) sont indiqués lorsque $P < 0,05$. Les *ASD3* ont été exclus de l'analyse car ils n'ont pas été observés sur un gradient suffisant d'éclairement relatif. Degré de significativité: ns, $P > 0,05$; *, $P \leq 0,05$; **, $P \leq 0,01$ et ***, $P \leq 0,001$. Données issues du projet de publication 3.

D. guianensis, *LMA* et densité foliaire augmentent avec DPF_{rel} , quel que soit le stade considéré (**Figure 46**). Comme ce fut le cas pour les espèces élevées en serre, la teneur totale en N foliaire (N_m) diminue significativement chez les feuilles de lumière, et ce pour les deux espèces (**Figure 46**). En conséquence, l'augmentation apparente de N_a ($g_N m^{-2}$) est essentiellement due à la large plasticité de *LMA*. Les concentrations en chlorophylle (Chl_m et Chl_a) augmentent fortement à l'ombre. L'effet de l'éclairement relatif sur la concentration totale en C foliaire (C_m) diffère entre les espèces, confirmant ainsi les précédentes conclusions sur la plasticité des coûts de construction (§III.2.1). Ainsi, C_m augmente avec la disponibilité en lumière chez *T. melinonii*, et reste constant (avec DPF_{rel} et *ASDs*) chez *D. guianensis*. Comme attendu V_{cmax} et J_{max} augmentent fortement le long du gradient de lumière tandis que V_{cmax} et J_{max} restent constants (*T. melinonii*) ou diminuent (*D. guianensis*). En conséquence, les allocations relatives de N à la carboxylation (V_{cmax}/N) et à la bioénergétique (J_{max}/N) augmentent dans les feuilles de lumière chez *T. melinonii* tandis qu'elles restent constantes chez *D. guianensis* (**Figure 46**).

De manière générale, la réponse plastique reste la même d'un stade à l'autre pour les deux espèces (i.e. les interactions entre les effets de l'éclairement relatif et de l'ontogénèse sont peu nombreuses et de faibles ampleurs). On note cependant, bien que ce soit surprenant, que l'épaisseur des feuilles des individus *ASD1* de *T. melinonii* n'est pas modifiée par DPF_{rel} (**Figure 47**). Ce résultat suggère que ce sont essentiellement les variations de densité qui modulent *LMA* à ce stade. Cependant, à l'instar de l'épaisseur, la concentration en C foliaire ne varie pas le long du gradient de lumière et aucune corrélation n'a été observée à ce stade entre la densité et C_m . Une faible interaction a également été observée pour Chl/N , dont l'amplitude de la réponse à l'éclairement relatif est plus faible pour *ASD3* que pour les deux autres stades (**Figure 47**). Pour *D. guianensis*, les feuilles du stade *ASD1*, possèdent des V_{cmax} comparables quel que soit le DPF_{rel} (**Figure 48**).

Puisque dans cette étude les interactions entre les *ASDs* et l'éclairement relatif sont rares, les différences entre espèces se maintiennent au cours de l'ontogénèse (**Figure 49**). Cette étude réalisée sur deux espèces, toutes deux plutôt héliophiles, ne permet pas de tester l'hypothèse d'un changement de classement des performances des espèces au cours de l'ontogénèse. De récents travaux suggèrent que les différences de tolérance à l'ombrage entre les espèces pourraient ainsi être détectées (Niinemets 2006, Lusk and Warton 2007). Nous avons néanmoins montré que, même entre des stades relativement jeunes dans la vie d'un arbre, des différences de valeurs de traits pouvaient exister. Plus particulièrement, ne pas faire de

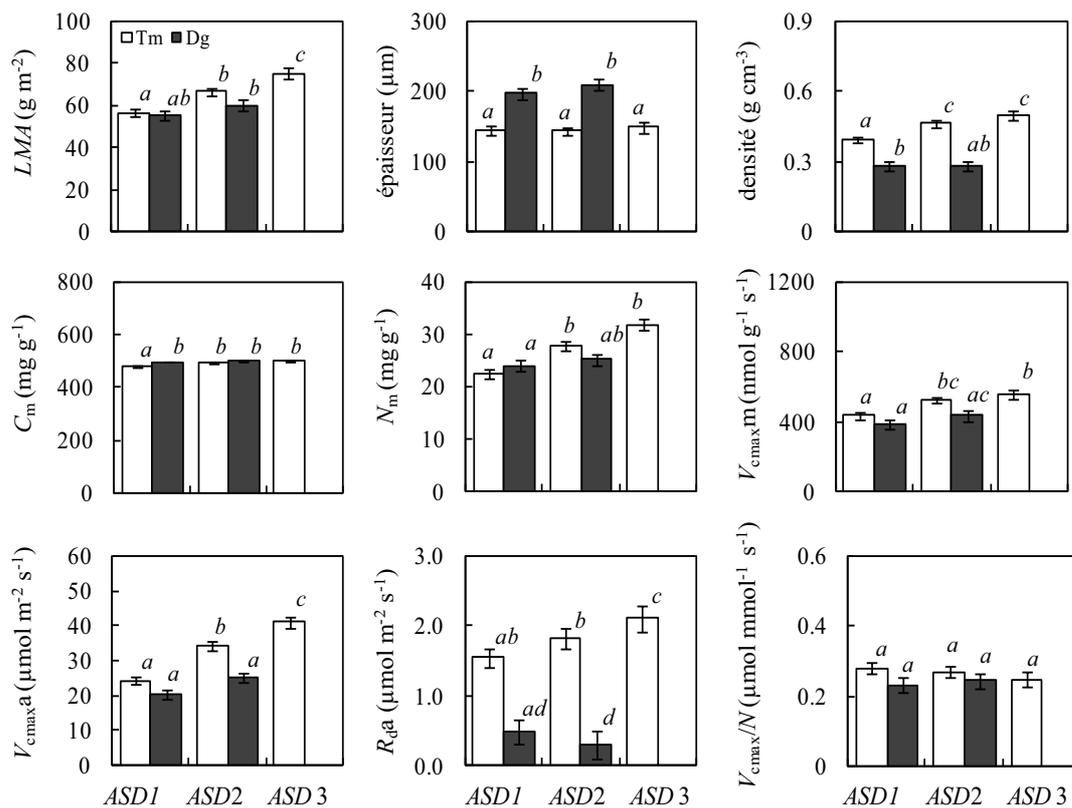


Figure 49: Comparaison des valeurs de traits foliaires entre les stades de développement (ASD 1, 2 et 3) pour les espèces *Tachigali melinonii* (en blanc) et *Dicorynia guianensis* (en noir). Les valeurs sont les moyennes ajustées (\pm erreur type) pour un éclairage relatif donné, $DPF_{rel} = 26,1\%$. Une différence de moyenne significative au seuil de 95 %, selon le test statistique post hoc de Tukey, est indiquée par deux lettres différentes (*a*, *b*). Les ASD3 de *Dicorynia guianensis* ont été exclus de l'analyse car ils n'ont pas été observés sur un gradient suffisant d'éclairage relatif. Données issues du projet de publication 3.

distinction entre de jeunes plants non ramifiés et de jeunes plants portant déjà leurs toutes premières ramifications, peut entraîner une mauvaise interprétation de la variabilité observée. Ces résultats soulignent ainsi que dans le cadre de l'étude de la diversité interspécifique des traits fonctionnels, il est important de tenir compte du stade de développement des individus au cours de l'échantillonnage.

En dépit des différences observées entre les différents stades de développement, et de la plasticité des traits en réponse à l'éclairement relatif, la réponse plastique des deux espèces n'a pas varié au cours de l'ontogénèse. Si nos résultats soulignent que même chez de jeunes arbres des événements comme l'apparition de la ramification peuvent avoir un effet (mais pas systématique) sur les traits fonctionnels foliaires, il est toujours difficile de décorrélérer les effets « stades de développement » des effets « taille » dans l'interprétation de ces variations.

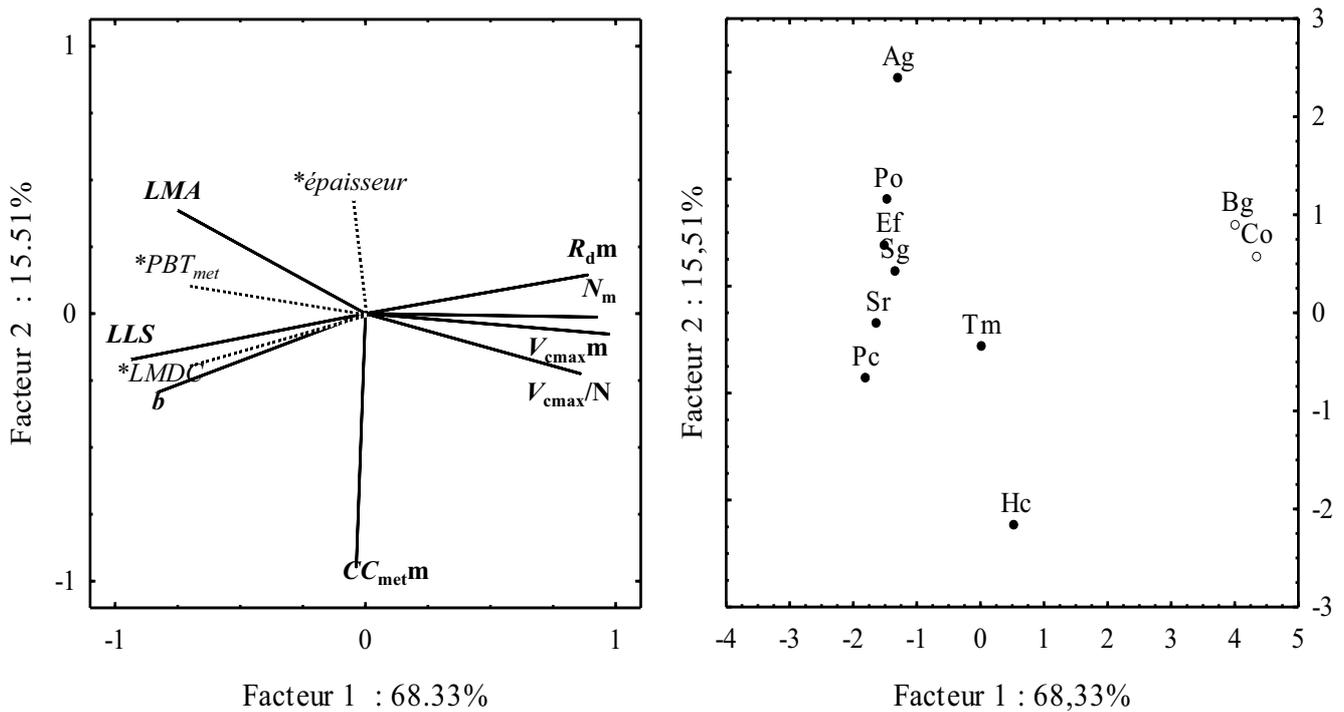


Figure 50: Analyse en composantes principales pour 10 espèces et 8 variables. Le cercle des corrélations des variables projetées sur le plan constitué par les axes 1 et 2 est représenté à gauche et la projection des espèces (voir tableau I pour les abréviations) dans le plan factoriel constitué par ces mêmes axes, à droite. Les variables sont le *LMA* (g m^{-2}), la durée de vie des feuilles (*LLS*, jours), le coût de construction du métamère (*CC_{met}m*, g glucose g^{-1}), la vitesse maximale de carboxylation apparente (*V_{cmax}m*, $\text{nmol g}^{-1} \text{s}^{-1}$), la respiration (*R_dm*, $\text{nmol g}^{-1} \text{s}^{-1}$), la concentration totale en *N* foliaire (*N_m*, mg g^{-1}), l'allocation relative de l'*N* foliaire à la carboxylation (*V_{cmax}/N*) et le temps au bout duquel l'assimilation devient nulle (*b*, jours). Les variables inactives (*) sont l'épaisseur, le *LMDC* et *PBT_{met}*. Les espèces pionnières sont représentées par des symboles blancs.

IV. Conclusion et perspectives

L'objectif central de ce travail était d'appréhender la variabilité, ainsi que les principales covariations, d'un ensemble de traits foliaires relatifs à l'acquisition du carbone, d'espèces d'arbres de FTH. Pour cela une approche comparative des traits a été réalisée sur des semis de 13 espèces d'arbres élevés en conditions contrôlées dans trois traitements d'éclaircissements relatifs distincts.

Diversité interspécifique : principaux compromis et covariations des traits

Une forte diversité des capacités photosynthétiques et des traits structuraux foliaires a été observée entre les 13 espèces étudiées.

L'analyse en composantes principales présentée dans la **Figure 50**, synthétise les principales covariations entre traits observés au cours de cette étude. Ainsi, 68% de la variabilité est expliquée par l'axe opposant durée de vie et $LM4$ d'un côté, aux capacités photosynthétiques, $PNUE$ (V_{cmax}/N), R_d et N_m de l'autre. Ces résultats sont en adéquation avec le schéma universel d'acquisition des ressources proposé par Wright et al. (2004, 2005a).

- Plus particulièrement, nous avons constaté qu'en dépit de la corrélation entre les capacités photosynthétiques et les teneurs en azote foliaire, les allocations relatives de cet azote aux processus de la photosynthèse (V_{cmax}/N et J_{max}/N) variaient fortement entre les espèces. Ces résultats suggèrent l'existence d'un compromis entre l'investissement de l'azote foliaire dans la machinerie photosynthétique ou dans des composés et/ou des structures de défense contre l'herbivorie. Afin de tester une telle hypothèse, il serait alors intéressant de :

1. Estimer plus précisément la quantité réelle d'N investie dans la carboxylation *via* :
 - (i) le dosage des teneurs en Rubisco des feuilles de nos espèces, afin de tester l'efficacité de l'allocation de N aux processus de la photosynthèse (Warren and Adams 2004)
 - (ii) la mesure des conductances internes (g_i) des feuilles de nos espèces, qui nous permettrait de calculer des V_{cmax} réels et non apparents (Warren and Adams 2006).

2. Etudier les traits liés aux stratégies de défense contre l'herbivorie par l'intermédiaire de dosages de composés chimiques (terpènes, polyphénols, contenu en protéines, taux de silice, Chabot and Hicks 1982, Coley 1983).

- Une des originalités de ce travail était d'estimer le coût de déploiement de la surface assimilatrice à l'échelle du métamère ($CC_{met,a}$). Nous avons ainsi fait l'hypothèse que la durée de vie des feuilles était proportionnelle aux coûts de construction des métamères et/ou négativement corrélée à leurs capacités photosynthétiques. Comme nous l'espérions, l'énergie nécessaire au déploiement de la surface assimilatrice varie significativement entre les espèces observées. Cependant, les feuilles les plus chères ne sont pas systématiquement celles qui possèdent les durées de vie les plus longues (i.e. aucune corrélation n'a été observée entre LLS et $CC_{met,m}$). Ce résultat nous laisse supposer que la longévité des feuilles n'est pas conditionnée par la durée de remboursement des coûts investis dans le déploiement du limbe (Williams et al. 1989, Sobrado 1991, Kitajima et al. 1997) et des structures de support (Kikuzawa 1991). Le calcul du temps de retour sur investissement (PBT_{met}) permet d'infirmer l'hypothèse initiale. En effet, d'une part la relation entre LLS et PBT est relativement faible et d'autre part l'ensemble des espèces amortissent très largement leurs coûts de construction (i.e. PBT est systématiquement très inférieur à LLS). Une décomposition de la variance a confirmé que c'était la structure (*via* le LMA) qui expliquait majoritairement les différences interspécifiques de PBT .

- Pour finir, la comparaison des durées de vie optimales calculées selon le modèle de Kikuzawa (1991, 1995) et des durées de vie réelles, suggère que les feuilles pourraient être maintenues même lorsque leur gain marginal n'est plus maximal, ne permettant alors plus à l'arbre d'optimiser son gain de C. Il semblerait que la durée de vie des feuilles corresponde davantage à la durée pendant laquelle l'assimilation photosynthétique est possible (i.e. n'est pas encore nulle).

Cette approche coût/bénéfice des traits foliaires nous a ainsi permis de mettre en évidence les principales covariations entre les composantes du bilan de C et de comparer les résultats obtenus aux hypothèses récurrentes de la littérature. La suite logique de cette étude serait :

- (i) dans un premier temps, de calculer le bilan de C foliaire des espèces étudiées, directement à partir du jeu de données de cette étude ;

- (ii) dans l'avenir, de réaliser une estimation du bilan de C à l'échelle de la plante entière, ce qui implique notamment de posséder des données sur la respiration des tiges et des structures de support ainsi que sur la croissance racinaire.

Diversité de la plasticité phénotypique

L'ensemble des traits étudiés varient entre les trois niveaux d'éclairement de l'expérimentation. Les ajustements structuraux en réponse à l'éclairement relatif (LMA , principalement) jouent un rôle déterminant dans la plasticité des capacités photosynthétiques et des PBT_{met} . Comme attendu, les feuilles de lumière sont plus épaisses, plus denses, possèdent de plus forts LMA et A_{sat} que celles d'ombre. Nous avons fait l'hypothèse que dans des conditions limitantes d'éclairement relatif (1) puisque les capacités d'assimilation photosynthétiques sont plus faibles, le temps de « remboursement » et donc la durée de vie de feuilles seraient plus longues, et (2) les allocations de N aux processus de la photosynthèse seraient moins importantes en contrepartie d'un investissement plus fort dans des composés et des structures favorisant cette durée de vie plus longue. Nos résultats ont en effet montré que PBT_{met} , LLS et $Lopt_{met}$ augmentaient significativement pour les feuilles des plants élevés à 5% du rayonnement extérieur tandis que V_{cmax}/N et J_{max}/N diminuaient. En revanche, nous avons observé que l'effet de l'éclairement relatif sur les CC spécifiques des métamères dépendait de l'espèce considérée.

De manière générale, le classement des espèces est maintenu d'un traitement à l'autre et, à l'exception des coûts de construction pour lesquels le sens et l'amplitude de la réponse à l'éclairement diffèrent, seuls de faibles effets d'interaction ont été observés entre espèces et éclairagements relatifs. Le calcul d'un indice de plasticité a également permis de montrer qu'aucune espèce n'était globalement plus « plastique » que les autres pour l'ensemble des traits considérés. De la même manière, aucune covariation ou compromis n'a été mis en évidence entre la plasticité des traits physiologiques et structuraux.

Ontogénèse et plasticité phénotypique

Enfin, l'étude *in situ*, d'individus appartenant à 2 stades architecturaux de développement différents (semis non ramifiés et semis en début de ramification) chez deux espèces *Dicorynia guianensis* et *Tachigali melinonii* a permis de souligner l'importance de prendre en compte les stades ontogéniques dans l'étude de la diversité interspécifique. En dépit des différences observées entre les différents stades de développement, la réponse plastique des deux espèces

n'a pas varié au cours de l'ontogénèse. Si nos résultats soulignent que même chez de jeunes arbres des événements comme l'apparition de la ramification peuvent avoir un effet (mais pas systématique) sur les traits fonctionnels foliaires, il est toujours difficile de décorrélérer les effets « stade de développement » des effets « dimension » dans l'interprétation de ces variations. Notre étude reste encore exploratoire, les interactions entre plasticité phénotypique et ontogénèse méritent cependant d'être approfondies notamment dans le but d'une meilleure compréhension des déterminants physiologiques de la tolérance à l'ombrage (Niinemets 2006).

Déterminants physiologiques de la tolérance à l'ombrage

Dans le cadre de cette étude nous n'avons pas cherché à « tester » des différences entre groupes de tempéraments : la plupart de nos espèces sont des espèces de sous-bois, à l'exception de *Cecropia obtusa* et *Bagassa guianensis* qui se distinguent très nettement par leurs caractéristiques de pionnières. Comme attendu, ces deux espèces se distinguent très nettement des autres par leurs fortes capacités photosynthétiques, leurs N_m et $PNUE$ élevés et leurs faibles LMA et LLS (i.e. acquisition rapide des ressources), tandis que les 11 autres espèces se distribuent essentiellement le long de l'axe opposant épaisseur et CC_{met} (**Figure 50**). Cependant si les PBT_{met} des pionnières, sont les plus faibles que nous ayons mesurés, toutes les espèces semblent capables de rembourser l'énergie investie dans le déploiement de la surface assimilatrice, et ce, même à 5% du rayonnement extérieur. Ainsi, si les pionnières se distinguent nettement par leurs attributs, aucune différence de plasticité en réponse à la lumière n'a été mise en évidence entre les espèces étudiées.

L'ensemble des résultats obtenus contribuent à une meilleure compréhension des stratégies de régénération et de croissance des espèces de FTH guyanaise et il serait intéressant, dans la continuité de cette étude de (1) vérifier si les covariations et compromis entre traits fonctionnels foliaires observés en conditions contrôlées s'expriment de la même façon *in situ* et (2) tester l'existence de contraintes phylogénétiques sur ces covariations.

V. Références bibliographiques

- Adams III, W.W., B. Demmig-Adams, T.N. Rosenstiel and V. Ebbert. 2001. Dependence of photosynthesis and energy dissipation activity upon growth form and light environment during the winter. *Photosynthesis Research*. 67:51-62.
- Anten, N.P.R., R. Hernandez and E.M. Medina. 1996. The photosynthetic capacity and leaf nitrogen concentration as related to light regime in shade leaves of a montane tropical forest tree, *Tetrorchidium rubrivenium*. *Functional Ecology*. 10:491-500.
- Bacelar, E.A., C.M. Correia, J.M. Moutinho-Pereira, B.C. Goncalves, J.I. Lopes and J.M.G. Torres-Pereira. 2004. Sclerophylly and leaf anatomical traits of five field-grown olive cultivars growing under drought conditions. *Tree Physiology*. 24:233-239.
- Baraloto, C., D.E. Goldberg and D. Bonal. 2005. Performance trade-offs among tropical tree seedlings in contrasting microhabitats. *Ecology*. 86:2461-2472.
- Baraloto, C., F. Morneau, D. Bonal, L. Blanc and B. Ferry. 2007. Seasonal water stress tolerance and habitat associations within four neotropical tree genera. *Ecology*. 88:478-489.
- Barigah, T.S., P. Imbert and R. Huc. 1998. Croissance et assimilation nette foliaire de jeunes plants de dix arbres de la forêt guyanaise cultivés à cinq niveaux d'éclaircissement. *Annals of Forest Science*. 55:681-706.
- Barthelemy, D. and Y. Caraglio. 2007. Plant architecture: A dynamic, multilevel and comprehensive approach to plant form, structure and ontogeny. *Annals of Botany*. 99:375-407.
- Barthélémy, D., C. Edelin and F. Hallé 1989. Architectural concepts for tropical trees. *In Tropical forests: botanical dynamics, speciation and diversity*. Eds. L.B. Holm-Nielsen, I.C. Nielsen and H. Balslev. Academic Press, London, pp. 89-100.
- Barthod, S. 2006. Variabilité interspécifique et plasticité du coût associé au déploiement de la surface assimilatrice chez des semis forestiers en régénération naturelle. Thèse de Doctorat, Université de Franche-Comté, Besançon.
- Barthod, S. and D. Epron. 2005. Variations of construction cost associated to leaf area renewal in saplings of two co-occurring temperate tree species (*Acer platanoides* L. and *Fraxinus excelsior* L.) along a light gradient. *Annals of Forest Science*. 62:545-551.
- Barthod, S. and D. Epron *in prep.* Interspecific variations in construction cost associated to the leaf area renewal in understorey saplings of temperate tree species.
- Baruch, Z., R.R. Pattison and G. Goldstein. 2000. Responses to light and water availability of four invasive Melastomataceae in the Hawaiian islands. *International Journal of Plant Sciences*. 161:107-118.
- Bazzaz, F.A. and R.W. Carlson. 1982. Photosynthetic acclimation to variability in the light environment of early and late successional plants. *Oecologia*. 54:313-316.
- Bazzaz, F.A. and S.T.A. Pickett. 1980. Physiological ecology of tropical succession: A Comparative Review. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 11:287-310.

- Blanc, L., O. Flores, J.-F. Molino, S. Gourlet-Fleury and D. Sabatier. 2003. Diversité spécifique et regroupement d'espèces arborescentes en forêt guyanaise. *Revue Forestière Française*. Numéro spécial
- Bloor, J.M.G. and P.J. Grubb. 2003. Growth and mortality in high and low light: trends among 15 shade-tolerant tropical rain forest tree species. *Journal of Ecology*. 91:77–85.
- Bloor, J.M.G. and P.J. Grubb. 2004. Morphological plasticity of shade-tolerant tropical rainforest tree seedlings exposed to light changes. *Functional Ecology*. 18:337–348.
- Boardman, N.K. 1977. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. *Annual Review of Plant Physiology*. 28:355-377.
- Bonal, D., C. Born, C. Brechet, S. Coste, E. Marcon, J.-C. Roggy and J.M. Guehl. 2007. The successional status of tropical rainforest tree species is associated with differences in leaf carbon isotope discrimination and functional traits. *Annals of Forest Science*. 64:169–176.
- Bonal, D., D. Sabatier, P. Montpied, D. Tremeaux and J.M. Guehl. 2000. Interspecific variability of $\delta^{13}\text{C}$ among trees in rainforests of French Guiana: functional groups and canopy integration. *Oecologia*. 124:454-468.
- Bradshaw, A.D. 1965. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Advances in Genetics*. 13:115-155.
- Callaway, R.M., S.C. Pennings and C.L. Richards. 2003. Phenotypic plasticity and interactions among plants. *Ecology*. 84:1115–1128.
- Cavender-Bares, J. and F.A. Bazzaz. 2000. Changes in drought response strategies with ontogeny in *Quercus rubra* : implications for scaling from seedlings to mature trees. *Oecologia*. 124:8-18.
- Cernusak, L.A., K. Winter, J. Aranda, B.L. Turner and J.D. Marshall. 2007. Transpiration efficiency of a tropical pioneer tree (*Ficus insipida*) in relation to soil fertility. *Journal of Experimental Botany*. 58:3549-3566.
- Chabot, B.F. and D.J. Hicks. 1982. The Ecology of Leaf Life Spans. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 13:229-259.
- Chapin III, F.S. 1989. The cost of tundra plant structures: evaluation of concepts and currencies. *American Naturalist*. 133:1-19.
- Chazdon, R.L. and S. Kaufmann. 1993. Plasticity of leaf anatomy of two rain forest shrubs in relation to photosynthetic light acclimation. *Functional Ecology*. 7:385-394.
- Clark, D.B., D.A. Clark, P.M. Rich, S. Weiss and S.F. Oberbauer. 1996. Landscape-scale evaluation of understory light and canopy structure: methods and application in a neotropical lowland rainforest. *Canadian Journal of Forest Research*. 26:747-757.
- Coleman, J.C., K.D.M. McConnaughay and A. D.D. 1994. Interpreting phenotypic variation in plants. *Trends in Ecology and Evolution*. 9:187-191.
- Coley, P.D. 1983. Herbivory and defensive characteristics of tree species in a lowland tropical forest. *Ecological monograph*. 53:209–233.
- Coley, P.D. 1988. Effects of plant growth rate and leaf lifetime on the amount and type of antiherbivore defense. *Oecologia*. 74:531-36.

- Cornelissen, J.H.C., B. Cerabolini, P. Castro-Díez, P. Villar-Salvador, G. Montserrat-Martí, J.P. Puyravaud, M. Maestro, M.J.A. Werger and R. Aerts. 2003a. Functional traits of woody plants: correspondence of species rankings between field adults and laboratory-grown seedlings? *Journal of Vegetation Science*. 14:311-322.
- Cornelissen, J.H.C., S. Lavorel, E. Garnier, S. Diaz, N. Buchmann, D.E. Gurvich, P.B. Reich, H. ter Steege, H.D. Morgan, M.G.A. van der Heijden, J.G. Pausas and H. Poorter. 2003b. A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany*. 51:335-380.
- Coste, S., J.-C. Roggy, P. Imbert, C. Born, D. Bonal and E. Dreyer. 2005. Leaf photosynthetic traits of 14 tropical rain forest species in relation to leaf nitrogen concentration and shade tolerance. *Tree Physiology*. 25:1127-1137.
- Cunningham, S.A., B. Summerhayes and M. Westoby. 1999. Evolutionary divergences in leaf structure and chemistry, comparing rainfall and soil nutrient gradients. *Ecological Monographs*. 69:569-588.
- Davies, S.J. 2001. Tree mortality and growth in 11 sympatric *Macaranga* species in Borneo. *Ecology*. 82:920-932.
- Delagrange, S., C. Messier, M.J. Lechowicz and P. Dizengremel. 2004. Physiological, morphological and allocational plasticity in understory deciduous trees: importance of plant size and light availability. *Tree Physiology*. 24:775-784.
- Delzon, S., A. Bosc, L. Cantet and D. Loustau. 2005. Variation of the photosynthetic capacity across a chronosequence of maritime pine correlates with needle phosphorus concentration. *Annals of Forest Science*. 62:537-543.
- Delzon, S., M. Sartore, R. Burlett, R.C. Dewar and D. Loustau. 2004. Hydraulic responses to height growth in maritime pine trees. *Plant, Cell and Environment*. 27:1077-1087.
- Diaz, S. and M. Cabido. 2001. Vive la difference: plant functional diversity matters to ecosystem processes. *Trends in Ecology & Evolution*. 16:646-655.
- Diemer, M. 1998. Life span and dynamics of leaves of herbaceous perennials in high-elevation environments: 'news from the elephant's leg'. *Functional Ecology*. 12:413-425.
- Dreyer, E., X. Le Roux, P. Montpied, F.A. Daudet and F. Masson. 2001. Temperature response of leaf photosynthetic capacity in seedlings from seven temperate tree species. *Tree Physiology*. 21:223-232.
- Eamus, D. 1999. Ecophysiological traits of deciduous and evergreen woody species in the seasonally dry tropics. *Trends in Ecology & Evolution*. 14:11-16.
- Eamus, D. and H. Prichard. 1998. A cost-benefit analysis of leaves of four Australian savanna species. *Tree Physiology*. 18:537-545.
- Eamus, D. and L. Prior. 2001. Ecophysiology of trees of seasonally dry tropics: Comparisons among phenologies. *Advances in Ecological Research*. 32:113-197.
- Ellis, A.R., P.S. Hubbell and C. Potvin. 2000. In situ field measurements of photosynthetic rates of tropical tree species: a test of the functional group hypothesis. *Canadian Journal of Botany*. 78:1336-1347.
- Ellsworth, D.S. and P.B. Reich. 1993. Canopy structure and vertical patterns of photosynthesis and related leaf traits in a deciduous forest. *Oecologia*. 96:169-178.

- Ellsworth, D.S. and P.B. Reich. 1996. Photosynthesis and leaf nitrogen in five Amazonian tree species during early secondary succession. *Ecology*. 77:581-594.
- Entry, J.A., K. Cromak, E. Hansen and R. Waring. 1991. Response of western coniferous seedlings to infection by *Armillaria ostoyae* under limited light and nitrogen. *Plant Physiology and Biochemistry*. 81:89-94.
- Eschenbach, C., R. Glauner, M. Kleine and L. Kappen. 1998. Photosynthesis rates of selected tree species in lowland dipterocarp rainforest of Sabah, Malaysia. *Trees*. 12:356-365.
- Ethier, G.J. and N. Livingston. 2004. On the need to incorporate sensitivity to CO₂ transfer conductance into the Farquhar–von Caemmerer–Berry leaf photosynthesis model. *Plant, Cell and Environment*. 27:137–153.
- Evans, G.C. 1972. *The Quantitative Analysis of Plant Growth*. University of California Press, CA.
- Evans, J.R. 1989a. Partitioning of nitrogen between and within leaves grown under different irradiances. *Australian Journal of Plant Physiology*. 16:533-548.
- Evans, J.R. 1989b. Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C₃ plants. *Oecologia*. 78:9-19.
- Evans, J.R. and H. Poorter. 2001. Photosynthetic acclimation of plants to growth irradiance: the relative importance of specific leaf area and nitrogen partitioning in maximizing carbon gain. *Plant, Cell and Environment*. 24:755-767.
- Evans, J.R. and J.R. Seemann 1989. The allocation of protein nitrogen in the photosynthetic apparatus: costs, consequences, and control. *In* *Photosynthesis* Eds. W.R. Briggs and A.R. Liss, New York, pp. 183-205.
- Falster, D.S. and M. Westoby. 2003. Leaf size and angle vary widely across species: what consequences for light interception? *New Phytologist*. 158:509-525.
- Farquhar, G.D., S. von Caemmerer and J.A. Berry. 1980. A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. *Planta*. 149:78-90.
- Favrichon, V. 1995. Modèle matriciel déterministe en temps discret. Application à l'étude de la dynamique d'un peuplement forestier tropical humide. Thèse de Doctorat, Université Claude Bernard, Lyon, p. 251.
- Fetcher, N., B.R. Strain and S.F. Oberbauer. 1983. Effects of light regime on the growth, leaf morphology, and water relations of seedlings of two species of tropical trees. *Oecologia*. 58:314-319.
- Field, C. and H.A. Mooney 1986. The photosynthesis nitrogen relationship in wild plants. *In* *On the economy of plant form and function*. Ed. T.J. Givnish. Cambridge University Press, Cambridge, UK., pp. 25-55.
- Flores, O. 2005. Déterminisme de la régénération chez quinze espèces d'arbres tropicaux en forêt guyanaise : les effets de l'environnement et de la limitation par la dispersion. Thèse de Doctorat, Montpellier II : Sciences et techniques du Languedoc, Montpellier.
- Foster, T.E. and J.R. Brooks. 2005. Functional groups based on leaf physiology: are they spatially and temporally robust? *Oecologia*. 144:337-352.
- Frak, E. 2002. Allocation de l'azote dans le feuillage d'un arbre decidu (*Juglans nigra* x *regia*) aux niveaux foliaire et de la plante entière. Thèse de Doctorat, Université Paris XI, Orsay, p. 89.

- Gary, C., N. Bertin, J.S. Frossard and J. Le Bot. 1998. High mineral contents explain the low construction cost of leaves, stems and fruits of tomato plants. *Journal of Experimental Botany*. 49:49-57.
- Givnish, T.J. 1988. Adaptation to sun and shade: A whole plant perspective. *Australian Journal of Plant Physiology*. 15:63-92.
- Givnish, T.J. 2002. Adaptive significance of evergreen vs. deciduous leaves: Solving the triple paradox. *Silva Fennica*. 36:703-743.
- Gourlet-Fleury, S., J.-F. Molino, P. Petronelli and L. Schmitt 2004. Paracou experimental plots: key features. *In Ecology and Management of a Neotropical Rainforest. Lessons drawn from Paracou, a long-term experimental research site in French Guiana*. Eds. S. Gourlet-Fleury, J.M. Guehl and O. Laroussinie. Elsevier, Paris, pp. 3-60.
- Griffin, K.L. 1994. Calorimetric estimates of construction cost and their use in ecological studies. *Functional Ecology*. 8:551-562.
- Griffin, K.L., W.E. Winner and B.R. Strain. 1996. Construction cost of loblolly and ponderosa pine leaves grown with varying carbon and nitrogen availability. *Plant, Cell and Environment*. 19:729-739.
- Grime, J.P. 2001. *Plant strategies, vegetation processes, and ecosystem properties*. J. W. a. Sons, Chichester, UK.
- Grime, J.P., J.H.C. Cornelissen, K. Thompson and J.G. Hodgson. 1996. Evidence of a causal connection between antiherbivore defence and the decomposition rate of leaves. *Oikos*. 77:489-494.
- Hanba, Y.T., H. Kogami and I. Terashima. 2002. The effect of growth irradiance on leaf anatomy and photosynthesis in *Acer* species differing in light demand. *Plant, Cell and Environment*. 25:1021-1030.
- Hanley, M.E. and B.B. Lamont. 2002. Relationships between physical and chemical attributes of congeneric seedlings: how important is seedling defence? *Functional Ecology*. 16:216-222.
- Harley, P.C. and J.D. Tenhunen 1991. Modeling the photosynthetic response of C3 leaves to environmental factors. *In Modeling crop photosynthesis-from Biochemistry to Canopy*. Eds. K.J. Boote and R.S. Loomis. American Society of Agronomy and Crop Science Society of America, Madison, USA, pp. 17-39.
- Heuret, P., D. Barthélémy, E. Nicolini and C. Atger. 2000. Analyse des composantes de la croissance en hauteur et de la formation du tronc chez le chêne sessile, *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. (Fagaceae) en sylviculture dynamique. *Canadian Journal of Botany*. 78:361-373.
- Hikosaka, K., Y.T. Hanba, T. Hirose and I. Terashima. 1998. Photosynthetic nitrogen-use efficiency in leaves of woody and herbaceous species. *Functional Ecology*. 12:896-905.
- Hikosaka, K. and I. Terashima. 1996. Nitrogen partitioning among photosynthetic components and its consequences in sun and shade plants. *Functional Ecology*. 10:335-343.
- Hoflacher, H. and H. Bauer. 1982. Light acclimation in leaves of the juvenile and adult life phases of ivy (*Hedrea helix*). *Physiologia Plantarum*. 56:177-182.

- Holscher, D. 2004. Leaf traits and photosynthetic parameters of saplings and adult trees of co-existing species in a temperate broad-leaved forest. *Basic and Applied Ecology*. 5:163-172.
- Kikuzawa, K. 1991. A cost-benefit analysis of leaf habit and leaf longevity of trees and their geographical pattern. *American Naturalist*. 138:1250- 1263.
- Kikuzawa, K. 1995. The basis for variation in leaf longevity of plants. *Vegetatio*. 121:89-100.
- Kikuzawa, K. and D. Ackerly. 1999. Significance of leaf longevity in plant. *Plant Species Biology*. 14:39-45.
- King, D.A. 1994. Influence of light level on the growth and morphology of saplings in a Panamanian forest. *American Journal of Botany*. 81:948-957.
- Kitajima, K. 1994. Relative importance of photosynthetic traits and allocation patterns as correlates of seedling shade tolerance of 13 tropical trees. *Oecologia*. 98:419-428.
- Kitajima, K. 1996. Ecophysiology of tropical tree seedlings. *In* Tropical forest plant ecophysiology. Eds. S.S. Mulkey, R.L. Chazdon and A.P. Smith. Chapman Hall, New York, pp. pp 559-596.
- Kitajima, K., S.S. Mulkey, M. Samaniego and S.J. Wright. 2002. Decline of photosynthetic capacity with leaf age and position in two tropical pioneer tree species. *American Journal of Botany*. 89:1925–1932.
- Kitajima, K., S.S. Mulkey and S.J. Wright. 1997. Decline of photosynthetic capacity with leaf age in relation to leaf longevities for five tropical canopy tree species. *American Journal of Botany*. 84:702–708.
- Kobe, R.K., S.W. Pacala, J.A. Silander and C.D. Canham. 1995. Juvenile Tree Survivorship as a Component of Shade Tolerance. *Ecological Applications*. 5:517-532.
- Laisk, A., H. Eichelmann, V. Oja, B. Rasulov, E. Padu, I. Bichele, H. Pettai and O. Kull. 2005. Adjustment of leaf photosynthesis to shade in a natural canopy: rate parameters. *Plant, Cell and Environment*. 28:375-388.
- Lavorel, S. and E. Garnier. 2002. Predicting changes in community composition and ecosystem functioning from plant traits: revisiting the Holy Grail. *Functional Ecology*. 16:545-556.
- Le Roux, X., H. Sinoquet and M. Vandame. 1999. Spatial distribution of leaf weight per area and leaf nitrogen content in relation to local radiation regime within an isolated tree crown. *Tree Physiology*. 19:181-188.
- Leuning, R. 1997. Scaling to a common temperature improves the correlation between the photosynthesis parameters J_{max} and V_{cmax} . *Journal of Experimental Botany*. 48:345-347.
- Lusk, C.H. and D.I. Warton. 2007. Global meta-analysis shows that relationships of leaf mass per area with species shade tolerance depend on leaf habit and ontogeny. *New Phytologist*. 176:764-774.
- Maestre, F.T., J.L. Quero, F. Valladares and J.F. Reynolds. 2007. Individual *vs.* population plastic responses to elevated CO₂, nutrient availability, and heterogeneity: a microcosm experiment with co-occurring species. *Plant and soil*. 296:53-64.
- McConnaughay, K.D.M. and J.S. Coleman. 1999. Biomass allocation in plants: ontogeny or optimality? A test along three resource gradients. *Ecology*. 80:2581-2593.

- McDermitt, D.K. and R.S. Loomis. 1981. Elemental composition of biomass and its relation to energy content, growth efficiency, and growth yield. *Annals of Botany*. 48:275-290.
- Mediavilla, S. and A. Escudero. 2003. Mature trees versus seedlings: Differences in leaf traits and gas exchange patterns in three co-occurring Mediterranean oaks. *Annals of Forest Science*. 60:455-460.
- Mediavilla, S. and A. Escudero. 2004. Stomatal responses to drought of mature trees and seedlings of two co-occurring Mediterranean oaks. *Forest Ecology and Management*. 187:281-294.
- Messier, C., R. Doucet, J.-C. Ruel, Y. Claveau, C. Kelly and M.J. Lechowicz. 1999. Functional ecology of advance regeneration in relation to light in boreal forests. *Canadian Journal of Forest Research*. 29:812-823.
- Miyajy, K.-I., W.S. da Silva and P.d.T. Alvim. 1997. Productivity of leaves of a tropical tree, *Theobroma cacao*, grown under shading, in relation to leaf age and light conditions within the canopy. *New Phytologist*. 137:463-472.
- Molino, J.-F. and D. Sabatier. 2001. Tree diversity in tropical rain forests: A validation of the intermediate disturbance hypothesis. *Science*. 294:1702-1704.
- Morneau, F. 2006. Effet d'un gradient d'engorgement hydrique sur la structure et la dynamique d'une forêt tropicale humide (Paracou, Guyane française). Thèse de Doctorat, Ecole du Génie Rural, des Eaux et des Forêts, Nancy.
- Navas, M.-L., B. Ducout, C. Roumet, J. Richarte, J. Garnier and E. Garnier. 2003. Leaf life span, dynamics and construction cost of species from Mediterranean old-fields differing in successional status. *New Phytologist*. 159:213-228.
- Navas, M.-L. and E. Garnier. 2002. Plasticity of whole plant and leaf traits in *Rubia peregrina* in response to light, nutrient and water availability. *Acta Oecologica-International Journal of Ecology*. 23:375-383.
- Nicolini, E., D. Barthélémy and P. Heuret. 2000. Influence de la densité du couvert forestier sur le développement architectural de jeunes chênes sessiles, *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. (Fagaceae), en régénération forestière. *Canadian Journal of Botany*. 78:1531-1344.
- Niinemets, U. 1998. Are compound-leaved woody species inherently shade-intolerant? An analysis of species ecological requirements and foliar support costs. *Plant Ecology*. 134:1-11.
- Niinemets, U. 2006. The controversy over traits conferring shade-tolerance in trees: ontogenetic changes revisited. *Journal of Ecology*. 94:464-470.
- Niinemets, U. and O. Kull. 1995. Effects of light availability and tree size on the architecture of assimilative surface in the canopy of *Picea-abies* - Variation in Needle Morphology. *Tree Physiology*. 15:307-315.
- Niinemets, U., A. Portsmouth, D. Tena, M. Tobias, S. Matesanz and F. Valladares. 2007. Do we underestimate the importance of leaf size in plant economics? Disproportional scaling of support costs within the spectrum of leaf physiognomy. *Annals of Botany*. 100:283-303.
- Niinemets, U., A. Portsmouth and M. Tobias. 2006. Leaf size modifies support biomass distribution among stems, petioles and mid-ribs in temperate plants. *New Phytologist*. 171:91-104.

- Niinemets, U. and F. Valladares. 2004. Photosynthetic acclimation to simultaneous and interacting environmental stresses along natural light gradients: Optimality and constraints. *Plant Biology*. 6:254-268.
- Niinemets, Ü. 1997a. Acclimation to low irradiance in *Picea abies*: influences of past and present light climate on foliage structure and function. *Tree Physiology*. 17:723-732.
- Niinemets, Ü. 1997b. Distribution patterns of foliar carbon and nitrogen as affected by tree dimensions and relative light conditions in the canopy of *Picea abies*. *Trees*. 11:144-154.
- Niinemets, Ü. 1997c. Role of foliar nitrogen in light harvesting and shade tolerance of four temperate deciduous woody species. *Functional Ecology*. 11:518-531.
- Niinemets, Ü. 1999a. Components of leaf dry mass per area - thickness and density - alter leaf photosynthetic capacity in reverse directions in woody plants. *New Phytologist*. 144:35-47.
- Niinemets, Ü. 1999b. Energy requirement for foliage formation is not constant along canopy light gradients in temperate deciduous trees. *New Phytologist*. 141:459-470.
- Niinemets, Ü. 2002. Stomatal conductance alone does not explain the decline in foliar photosynthetic rates with increasing tree age and size in *Picea abies* and *Pinus sylvestris*. *Tree Physiology*. 22:515-535.
- Niinemets, Ü. and O. Kull. 1994. Leaf weight per area and leaf size of 85 Estonian woody species in relation to shade tolerance and light availability. *Forest Ecology and Management*. 70:1-10.
- Niinemets, Ü. and O. Kull. 1998. Stoichiometry of foliar carbon constituents varies along light gradients in temperate woody canopies: implications for foliage morphological plasticity. *Tree Physiology*. 18:467-479.
- Niinemets, Ü., O. Kull and J.D. Tenhunen. 1998. An analysis of light effects on foliar morphology, physiology, interception in temperate deciduous woody species shade tolerance. *Tree Physiology*. 18:681-696.
- Niinemets, Ü. and J.D. Tenhunen. 1997. A model separating leaf structural and physiological effects on carbon gain along light gradients for the shade tolerant species *Acer saccharum*. *Plant, Cell and Environment*. 20:845-866.
- Oldeman, R.A.A. 1990. *Forests: elements of silvology*. Springer-Verlag, Berlin.
- Oldeman, R.A.A. and J. van Dijk 1991. Diagnosis of the temperament of tropical rain forest trees. *In Rain forest regeneration and management*. Eds. A. Gomez-Pompa, T.C. Whitmore and H. Hadley. Unesco Parijs & Parthenon Publ. Group, UK/USA pp. 21-65.
- Onoda, Y., K. Hikosaka and T. Hirose. 2004. Allocation of nitrogen to cell walls decreases photosynthetic nitrogen-use efficiency. *Functional Ecology*. 18:419-425.
- Pearcy, R.W. 1999. Responses of plants to heterogeneous light environments. *In Handbook of Functional Ecology* Eds. F.I. Pugnaire and F. Valladares. Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 269-314.
- Penning De Vries, F.W.T., A.H.M. Brunsting and H.H. Van Laar. 1974. Products, requirements and efficiency of biosynthesis: a quantitative approach. *Journal of theoretical Biology*. 45:339-377.

- Petchey, O.L. and K.J. Gaston. 2006. Functional diversity: back to basics and looking forward. *Ecology Letters*. 9:741-758.
- Pickup, M., M. Westoby and A. Basden. 2005. Dry mass costs of deploying leaf area in relation to leaf size. *Functional Ecology*. 19:88-97.
- Piel, C. 2002. Diffusion du CO₂ dans le mésophylle des plantes à métabolisme C₃. Thèse de Doctorat, Université Paris XI, Orsay, p. 132.
- Pons, T.L. and R.W. Pearcy. 1994. Nitrogen reallocation and photosynthetic acclimation in response to partial shading in soybean plants. *Physiologia Plantarum*. 92:636-644.
- Pons, T.L. and R.A.M. Welschen. 2002. Overestimation of respiration rates in commercially available clamp-on leaf chambers. Complications with measurement of net photosynthesis. *Plant, Cell and Environment*. 25:1367-1372.
- Poorter, H. 1994. Construction costs and payback time of biomass: a whole plant approach. *In A whole plant perspective on carbon-nitrogen interactions* Eds. J. Roy and E. Garnier. Backhuys Publishers, The Hague, The Netherlands, pp. 111-127.
- Poorter, H. and J.R. Evans. 1998. Photosynthetic nitrogen-use efficiency of species that differ inherently in specific leaf area. *Oecologia*. 116:26-37.
- Poorter, H., S. Pepin, T. Rijkers, Y. de Jong, J.R. Evans and C. Körner. 2006a. Construction costs, chemical composition and payback time of high- and low-irradiance leaves. *Journal of Experimental Botany*. 57:355-371.
- Poorter, H. and R. Villar 1997. The fate of acquired carbon in plants: chemical composition and construction costs. *In Plant resource allocation* Eds. F.A. Bazzaz and J. Grace. Academic Press, San Diego, CA, USA, pp. 39-72.
- Poorter, L. 1999. Growth responses of 15 rain-forest tree species to a light gradient: the relative importance of morphological and physiological traits. *Functional Ecology*. 13:396-410.
- Poorter, L. and F. Bongers. 2006. Leaf traits are good predictors of plant performance across 53 rain forest species. *Ecology*. 87:1733-1743.
- Poorter, L., L. Bongers and F. Bongers. 2006b. Architecture of 54 moist-forest tree species: Traits, trade-offs, and functional groups. *Ecology*. 87:1289-1301.
- Poorter, L., R. Kwant, R. Hernandez, E. Medina and M.J.A. Werger. 2000. Leaf optical properties in Venezuelan cloud forest trees. *Tree Physiology*. 20:519-526.
- Poorter, L., S.F. Oberbauer and D.B. Clark. 1995. Leaf optical properties along a vertical gradient in a tropical rain forest canopy in Costa Rica. *American Journal of Botany*. 82:1257-1263.
- Popma, J., F. Bongers and M.J.A. Werger. 1992. Gap-dependence and leaf characteristics of trees in a tropical lowland rain forest in Mexico. *Oikos*. 63:207-214.
- Portsmouth, A. and U. Niinemets. 2007. Structural and physiological plasticity in response to light and nutrients in five temperate deciduous woody species of contrasting shade tolerance. *Functional Ecology*. 21:61-77.
- Reich, P.B., D.S. Ellsworth and M.B. Walters. 1998. Leaf structure (specific leaf area) modulates photosynthesis-nitrogen relations: evidence from within and across species and functional groups. *Functional Ecology*

- Reich, P.B., D.S. Ellsworth, M.B. Walters, J.M. Vose, C. Gresham, J.C. Volin and W.D. Bowman. 1999. Generality of leaf trait relationships: a test across six biomes. *Ecology*. 80:1955-1969.
- Reich, P.B., B.D. Kloeppel, D.S. Ellsworth and M.B. Walters. 1995. Different photosynthesis-nitrogen relations in deciduous hardwood and evergreen coniferous tree species. *Oecologia*. 104:24-30.
- Reich, P.B., C. Uhl, M.B. Walters and D.S. Ellsworth. 1991a. Leaf life-span as a determinant of leaf structure and function among 23 amazonian tree species. *Oecologia*. 86:16-24.
- Reich, P.B., C. Uhl, M.B. Walters, L. Prugh and D.S. Ellsworth. 2004. Leaf demography and phenology in amazonian rain Forest: A census of 40000 leaves of 23 trees species. *Ecological Monographs*. 74:3-23.
- Reich, P.B. and M.B. Walters. 1994. Photosynthesis-nitrogen relations in Amazonian tree species. II: Variation in nitrogen vis-a-vis specific leaf area influences mass and area-based expressions. *Oecologia*. 97:73-80.
- Reich, P.B., M.B. Walters and D.S. Ellsworth. 1991b. Leaf age and season influence the relationships between leaf nitrogen, leaf mass per area and photosynthesis in maple and oak trees. *Plant, Cell and Environment*. 14:251-259.
- Reich, P.B., M.B. Walters and D.S. Ellsworth. 1992. Leaf life-span in relation to leaf, plant and stand characteristics among divers ecosystems. *Ecological Monographs*. 62:365-392.
- Reich, P.B., M.B. Walters and D.S. Ellsworth. 1997. From tropics to tundra: global convergence in plant functioning. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*. 94:13730-13734.
- Reich, P.B., M.B. Walters, D.S. Ellsworth and C. Uhl. 1994. Photosynthesis-nitrogen relations in Amazonian tree species. I: Patterns among species and communities. *Oecologia*. 97:62-72.
- Reich, P.B., I.J. Wright, J. Cavender-Bares, J.M. Craine, J. Oleksyn, M. Westoby and M.B. Walters. 2003. The evolution of plant functional variation: Traits, spectra, and strategies. *International Journal of Plant Sciences*. 164:S143-S164.
- Rice, S.A. and F.A. Bazzaz. 1989. Growth consequences of plasticity of plant traits in response to light conditions. *Oecologia*. 78:508-512.
- Riéra, B., H. Puig and J.-P. Lescure. 1989. La dynamique de la forêt naturelle. *Bois et Forêts des Tropiques*. 219:69-78.
- Rijkers, T. 2000. Leaf function in tropical rain forest canopy trees: the effect of light on leaf morphology and physiology in different-sized trees. PhD thesis, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands, p. 120.
- Rijkers, T., T.L. Pons and F. Bongers. 2000. The effect of tree height and light availability on photosynthetic leaf traits of four neotropical species differing in shade tolerance. *Functional Ecology*. 14:77-86.
- Rôças, G., C.F. Barros and F.R. Scarano. 1997. Leaf anatomy plasticity of *Alchornea triplinervia* (Euphorbiaceae) under distinct light regimes in a Brazilian montane Atlantic rain forest. *Trees*. 11:469-473.

- Roggy, J.-C., E. Nicolini, P. Imbert, Y. Caraglio, A. Bosc and P. Heuret. 2005. Links between tree structure and functional leaf traits in the tropical forest tree *Dicorynia guianensis* Amshoff (Caesalpinaceae). *Annals of Forest Science*. 62:553-564.
- Rozendaal, D.M.A., V.H. Hurtado and L. Poorter. 2006. Plasticity in leaf traits of 38 tropical tree species in response to light; relationships with light demand and adult stature. *Functional Ecology*. 20:207-216.
- Ryser, P. and P. Urbas. 2000. Ecological significance of leaf life span among Central European grass species. *Oikos*. 91:41-50.
- Schimann, H., S. Ponton, S. Hattenschwiler, B. Ferry, R. Lensi, A.-M. Domenach and J.-C. Roggy. 2008. Differing nitrogen use strategies of two tropical rainforest late successional tree species in French Guiana: Evidence from N-15 natural abundance and microbial activities. *Soil Biology & Biochemistry*. 40:487-494.
- Schlichting, C.D. 1986. The evolution of phenotypic plasticity in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 17:667-693.
- Seemann, J.R., T.D. Sharkey, J.L. Wang and C.B. Osmond. 1987. Environmental effects on photosynthesis, nitrogen use efficiency and metabolite pools in leaves of sun and shade plants. *Plant Physiology*. 84:796-802.
- Sharpe, P.J.H. and D.W. DeMichele. 1977. Reaction kinetics of poikilotherm development. *Journal of theoretical Biology*. 64:649-670.
- Shipley, B., M.J. Lechowicz, I.J. Wright and P.B. Reich. 2006. Fundamental trade-offs generating the worldwide leaf economics spectrum. *Ecology*. 87:535-541.
- Sims, D.A. and R.W. Pearcy. 1989. Photosynthetic characteristics of a tropical forest understory herb, *Alocasia macrorrhiza*, and a related crop species, *Colocasia esculenta* grown in contrasting light environments. *Oecologia*. 79:53-59.
- Sims, D.A. and R.W. Pearcy. 1994. Scaling sun and shade photosynthetic acclimation of *Alocasia macrorrhiza* to whole-plant performance. 1. Carbon balance and allocation at different daily photon flux densities. *Plant, Cell and Environment*. 17:881-887.
- Sobrado, M.A. 1991. Cost-benefit relationships in deciduous and evergreen leaves of tropical dry forest species. *Functional Ecology*. 5:608-616.
- Strauss-Debenedetti, S. and F.A. Bazzaz. 1991. Plasticity and acclimation to light in tropical moraceae of different successional positions. *Oecologia*. 87:377-387.
- Strauss-Debenedetti, S. and F.A. Bazzaz 1996. Photosynthetic characteristics of tropical trees along successional gradients. *In Tropical forest ecophysiology*. Eds. S.S. Mulkey, R.L. Chazdon and A.P. Smith. Chapman and Hall, New York, USA., pp. 162-186.
- Sultan, S.E. 1987. Evolutionary implications of phenotypic plasticity in plants. *Evolutionary Biology*. 21:127-178.
- Sultan, S.E. 2000. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in Plant Science*. 5:537-542.
- Swaine, M.D. and T.C. Whitmore. 1988. On the definition of ecological species groups in tropical rain forests. *Vegetatio*. 75:81-86.
- Takashima, T., K. Hikosaka and T. Hirose. 2004. Photosynthesis or persistence: nitrogen allocation in leaves of evergreen and deciduous *Quercus* species. *Plant, Cell and Environment*. 27:1047-1054.

- Ter Steege, H., D. Sabatier, H. Castellanos, T. Andel Van, J. Duivenvoorden, A. Adalardo de Oliveira, R. Ek, R. Lilwah, P. Maas and S. Mori. 2000. An analysis of the floristic composition and diversity of Amazonian forests including those of the guiana shield. *Journal of Tropical Ecology*. 16:801-828.
- Thomas, S.C. and W.E. Winner. 2002. Photosynthetic differences between saplings and adult trees: an integration of field results by meta-analysis. *Tree Physiology*. 22:117–127.
- Turner, I.M. 2001. *The ecology of trees in the tropical rain forest*. Cambridge University Press, Cambridge, U.K., p. 298 p.
- Valladares, F., J.M. Chico, I. Aranda, L. Balaguer, P. Dizengremel, E. Manrique and E. Dreyer. 2002. The greater seedling high-light tolerance of *Quercus robur* over *Fagus sylvatica* is linked to a greater physiological plasticity. *Trees-Structure and Function*. 16:395-403.
- Valladares, F., D. Sanchez-Gomez and M.A. Zavala. 2006. Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of Ecology*. 94:1103-1116.
- Valladares, F., S.J. Wright, E. Lasso, K. Kitajima and R.W. Pearcy. 2000. Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a Panamanian rainforest. *Ecology*. 81:1925-1936.
- Veneklaas, E.J. and L. Poorter 1988. Growth and carbon partitioning of tropical tree seedlings in contrasting light environments. *In Inherent Variation in Plant Growth: Physiological Mechanisms and Ecological Consequences*. Eds. H. Lambers, H. Poorter and M. Van Vuuren. Backhuys publishers, Leiden, The Netherlands, pp. 337-355.
- Vertregt, N. and F.W.T. Penning De Vries. 1987. A rapid method for determining the efficiency of biosynthesis of plant biomass. *Journal of theoretical Biology*. 128:109-119.
- Vile, D. 2005. Signification fonctionnelle et écologique des traits des espèces végétales : exemple dans une succession post-culturale méditerranéenne et généralisations. Thèse de Doctorat Montpellier II : Sciences et techniques du Languedoc, Montpellier, Sherbrooke.
- Villar, R. and J. Merino. 2001. Comparison of leaf construction costs in woody species with differing leaf life-spans in contrasting ecosystems. *New Phytologist*. 151:213-226.
- Villar, R., J.R. Robledo, Y. De Jong and H. Poorter. 2006. Differences in construction costs and chemical composition between deciduous and evergreen woody species are small as compared to differences among families. *Plant, Cell and Environment*. 29:1629-1643.
- Vincent, G. 2006. Leaf life span plasticity in tropical seedlings grown under contrasting light regimes. *Annals of Botany*. 97:245–255.
- Violle, C., M.-L. Navas, D. Vile, E. Kazakou, C. Fortunel, I. Hummel and E. Garnier. 2007. Let the concept of trait be functional! *Oikos*. 116:882-892.
- Von Caemmerer, S. 2000. *Biochemical models of leaf photosynthesis*. CSIRO Publishing, Collingwood.
- Waldhoff, D. and B. Furch. 2002. Leaf morphology and anatomy in eleven tree species from Central Amazonian floodplains (Brazil). *Amazoniana-Limnologia Et Oecologia Regionalis Systemae Fluminis Amazonas*. 17:79-94.

- Walters, M.B., E.L. Kruger and P.B. Reich. 1993. Growth, biomass distribution and CO₂ exchange of northern hardwood seedlings in high and low light - Relationships with successional status and shade tolerance. *Oecologia*. 94:7-16.
- Walters, M.B. and P.B. Reich. 1996. Are shade tolerance, survival and growth linked? Low light and nitrogen effects on hardwood seedlings. *Biology*. 77:841-853.
- Walters, M.B. and P.B. Reich. 1999. Low-light carbon balance and shade tolerance in the seedlings of woody plants: do winter deciduous and broad-leaved evergreen species differ? *New Phytologist*. 143:143-154.
- Walters, M.B. and P.B. Reich. 2000. Seed size, nitrogen supply, and growth rate affect tree seedling survival in deep shade. *Ecology*. 81:1887-1901.
- Warren, C.R. 2006. Estimating the internal conductance to CO₂ movement. *Functional Plant Biology*. 33:431-442.
- Warren, C.R. and M.A. Adams. 2004. Evergreen trees do not maximize instantaneous photosynthesis. *Trends in Plant Science*. 9:270-274.
- Warren, C.R. and M.A. Adams. 2006. Internal conductance does not scale with photosynthetic capacity: implications for carbon isotope discrimination and the economics of water and nitrogen use in photosynthesis. *Plant, Cell and Environment*. 29:192-201.
- Warren, C.R., M.A. Adams and Z. Chen. 2000. Is photosynthesis related to concentrations of nitrogen and Rubisco in leaves of Australian native plants? *Australian Journal of Plant Physiology*. 27:407-416.
- Warren, C.R., E. Dreyer and M.A. Adams. 2003. Photosynthesis-Rubisco relationships in foliage of *Pinus sylvestris* in response to nitrogen supply and the proposed role of Rubisco and amino acids as nitrogen stores. *Trees-Structure and Function*. 17:359-366.
- Weigelt, A. and P. Jolliffe. 2003. Indices of plant competition. *Journal of Ecology*. 91:707-720.
- Westoby, M., D.S. Falster, A.T. Moles, P.A. Vesk and I.J. Wright. 2002. Plant ecological strategies: Some leading dimensions of variation between species. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 33:125-159.
- Williams-Linera, G. 2000. Leaf demography and leaf traits of temperate-deciduous and tropical evergreen-broadleaved trees in a Mexican montane cloud forest. *Plant Ecology*. 149:233-244.
- Williams, K., C.B. Field and H.A. Mooney. 1989. Relationships among leaf construction cost, leaf longevity, and light environment in rain forest plants of the genus *Piper*. *American Naturalist*. 133:198-211.
- Wilson, K.B., D.D. Baldocchi and P.J. Hanson. 2000. Spatial and seasonal variability of photosynthetic parameters and their relationship to leaf nitrogen in a deciduous forest. *Tree Physiology*. 20:565-578.
- Wilson, P.J., K. Thompson and J.G. Hodgson. 1999. Specific leaf area and leaf dry matter content as alternative predictors of plant strategies. *New Phytologist*. 143:155-162.
- Witkowski, E.T.F. and B.B. Lamont. 1991. Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. *Oecologia*. 88:486-493.

- Wohlfahrt, G., M. Bahn and A. Cernusca. 1999. The use of the ratio between the photosynthesis parameters P_{ml} and V_{cmax} for scaling up photosynthesis of C3 plants from leaves to canopies: a critical examination of different modelling approaches. *Journal of theoretical Biology*. 200:163-181.
- Wright, I.J. and K. Cannon. 2001. Relationships between leaf lifespan and structural defences in a low-nutrient, sclerophyll flora. *Functional Ecology*. 15:351-359.
- Wright, I.J., P.B. Reich, J.H.C. Cornelissen, D.S. Falster, E. Garnier, K. Hikosaka, B.B. Lamont, W. Lee, J. Oleksyn, N. Osada, H. Poorter, R. Villar, D.I. Warton and M. Westoby. 2005a. Assessing the generality of global leaf trait relationships. *New Phytologist*. 166:485-496.
- Wright, I.J., P.B. Reich, J.H.C. Cornelissen, D.S. Falster, P.K. Groom, K. Hikosaka, W. Lee, C.H. Lusk, U. Niinemets, J. Oleksyn, N. Osada, H. Poorter, D.I. Warton and M. Westoby. 2005b. Modulation of leaf economic traits and trait relationships by climate. *Global Ecology and Biogeography*. 14:411-421.
- Wright, I.J., P.B. Reich, M. Westoby, D.D. Ackerly, Z. Baruch, F. Bongers, J. Cavender-Bares, T. Chapin, J.H.C. Cornelissen, M. Diemer, J. Flexas, E. Garnier, P.K. Groom, J. Gulias, K. Hikosaka, B.B. Lamont, T. Lee, W. Lee, C. Lusk, J.J. Midgley, M.-L. Navas, Ü. Niinemets, J. Oleksyn, N. Osada, H. Poorter, P. Poot, L. Prior, V.I. Pyankov, C. Roumet, S.C. Thomas, M.G. Tjoelker, E.J. Veneklaas and R. Villar. 2004. The worldwide leaf economics spectrum. *Nature*. 428:821-827.
- Wright, I.J. and M. Westoby. 2001. Understanding seedling growth relationships specific leaf area and leaf nitrogen concentration: generalisations across growth forms and growth irradiance. *Oecologia*. 127:21-29.
- Wright, I.J. and M. Westoby. 2002. Leaves at low versus high rainfall: coordination of structure, lifespan and physiology. *New Phytologist*. 155:403-416.
- Wright, I.J. and M. Westoby. 2003. Nutrient concentration, resorption and lifespan: leaf traits of Australian sclerophyll species. *Functional Ecology*. 17:10-19.
- Wright, S.D. and K.D.M. McConaughay. 2002. Interpreting phenotypic plasticity: the importance of ontogeny. *Plant Species Biology*. 17:119-131.

PROJETS DE PUBLICATION

Irradiance-elicited plasticity of leaf traits is similar in 12 tropical-rainforest tree species irrespective of their successional status.

Sabrina COSTE¹, Jean-Christophe ROGGY¹, Gregory SONNIER¹ and Erwin DREYER^{2*}.

1. AgroParisTech-ENGREF, INRA, Unité Mixte de Recherches CIRAD-ENGREF-INRA-CNRS « Ecologie des Forêts de Guyane », Campus Agronomique de Kourou, 97387 Kourou, Guyane Française

2. INRA, Nancy-Université, UMR 1137 « Ecologie et Ecophysiologie Forestières », IFR 110 "Génomique, Ecophysiologie et Ecologie Fonctionnelle", 54280 Champenoux, France

*Correspondence and reprints: Erwin DREYER, dreyer@nancy.inra.fr; Phone: +33 (0)3 83 39 40 32; fax: +33 (0)3 83 39 40 69;

Short title: PLASTICITY IN LEAVES OF TROPICAL RAINFOREST TREES

Abstract

Inter-specific diversity and irradiance-elicited plasticity of leaf traits were assessed in saplings of 12 tree species from the tropical rain-forest in French Guiana. Saplings were grown under 5, 10 and 20% relative irradiance. Fifteen structural and physiological leaf traits related to photosynthetic capacity were measured. Leaf structure was described by leaf mass-to-area ratio (LMA), leaf dry matter content (LDMC), leaf thickness and density, total leaf nitrogen, carbon and chlorophyll contents. Maximum carboxylation velocity of Rubisco (V_{cmax}) and maximum light-driven electron transport (J_{max}), as well as photosynthetic N use-efficiency (PNUE, estimated from the ratios V_{cmax}/N , J_{max}/N and Chl/N) and intrinsic water use efficiency (WUE_i and $\delta^{13}\text{C}$) were recorded. The degree of plasticity was quantified for each trait with a relative-distance plasticity index (RDPI).

A large interspecific diversity was detected in all leaf traits. A principal component analysis revealed that over 70% of the observed variability was captured by two axes. The main axis opposed species with a large mass-based photosynthesis, respiration, N content and photosynthetic nitrogen use efficiency to species with a large LMA. The two pioneers displayed the largest photosynthetic productivity and were clearly separated from the other ones. Irradiance affected many traits but not mass-based estimates of photosynthetic capacity. This confirmed that the main driver of irradiance-elicited plasticity in photosynthesis was LMA. No interaction was found between species and irradiance and the ranking of species was maintained among irradiance levels for the majority of traits. Despite some variability, RDPI did not display any consistent trend nor contribute to a clear ranking among species. No relationship was detected between the irradiance-elicited plasticity of a combination of leaf traits and the successional status of the species. We concluded that irradiance-elicited phenotypic plasticity was similar among species irrespective of their successional status.

Keywords: functional diversity / light availability / photosynthetic nitrogen-use efficiency / photosynthetic capacity / tropical rain forest.

Abbreviations and symbols.

	definition	units
Structural traits		
LMA	leaf mass per unit leaf area	g m^{-2}
Thickness	leaf thickness	μm
Density	leaf density (LMA/thickness)	g cm^{-3}
LDMC	leaf dry mater content (leaf dry mass/fresh mass)	mg g^{-1}
C_m	total leaf carbon content	mg g^{-1}
$N_m ; N_a$	total leaf nitrogen content *	$\text{mg g}^{-1} ; \text{mg m}^{-2}$
$\text{Chl}_m ; \text{Chl}_a$	total leaf chlorophyll content *	$\mu\text{mol Chl g}^{-1} ; \mu\text{mol Chl m}^{-2}$
Physiological traits		
$V_{\text{cmax}m} ; V_{\text{cmax}a}$	maximal Rubisco activity *	$\text{nmol CO}_2 \text{g}^{-1} \text{s}^{-1} ; \mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$
$J_{\text{max}m} ; J_{\text{max}a}$	maximal electron transport rate *	$\text{nmol e}^- \text{g}^{-1} \text{s}^{-1} ; \mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$
$R_{\text{d}m} ; R_{\text{d}a}$	CO ₂ production by non photorespiratory respiration	$\text{nmol CO}_2 \text{g}^{-1} \text{s}^{-1} ; \mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$
$A_{\text{sat}m} ; A_{\text{sat}a}$	light saturated net assimilation rate *	$\text{nmol CO}_2 \text{g}^{-1} \text{s}^{-1} ; \mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$
V_{cmax}/N	carboxylation rate per unit nitrogen	$\mu\text{mol CO}_2 \text{mmol}^{-1} \text{N s}^{-1}$
J_{max}/N	electron transport capacity per unit nitrogen	$\mu\text{mol CO}_2 \text{mmol}^{-1} \text{N s}^{-1}$
A_{sat}/N	photosynthetic nitrogen-use efficiency (PNUE)	$\mu\text{mol CO}_2 \text{mmol}^{-1} \text{N s}^{-1}$
Chl/N	investment of leaf nitrogen in chlorophyll	$\mu\text{mol Chl mmol}^{-1} \text{N}$
$\delta^{13}\text{C}$	leaf carbon isotope composition	‰
g_s	stomatal conductance for water vapour	$\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$
WUE_i	intrinsic water use efficiency (A_{sat}/g_s)	$\mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1} \text{H}_2\text{O}$
RDPI	relative distance plasticity index	

“m” denotes mass-based and “a” denotes area-based values.

Introduction

Leaves of tropical forest trees display a large variability of structural (such as thickness, density and mass-to-area ratio, LMA) and physiological traits (such as light-saturated net CO₂ assimilation rates, A_{sat} and carbon isotope composition, $\delta^{13}\text{C}$) even among co-occurring species (Popma et al. 1992, Bonal et al. 2000, Poorter et al. 2000, Rozendaal et al. 2006). Simultaneously, leaf traits seem to follow a universal scheme of resource management, and a global “leaf economic spectrum” was evidenced, based on the tight coordination between six leaf traits (LMA; leaf lifespan, LLS; leaf N per unit mass, N_{m} ; mass-based photosynthetic capacity, A_{mass} ; mass-based dark respiration rate, $R_{\text{d, mass}}$ and leaf P concentration per unit mass, Wright et al. 2004). The spectrum ranks species and leaf forms along a gradient ranging from rapid to slow returns of the investment of nutrients and dry mass into leaves. This suggests a trade-off between leaf traits that enable a rapid assimilation of C-resources (N_{m} , photosynthetic capacity, respiration) and traits that favour nutrient conservation (LMA and LLS). Despite the tight correlation observed between leaf N and photosynthetic capacity at a broad scale (Reich and Walters 1994, Reich et al. 1994, Reich et al. 1999) a significant inter-specific variability in the photosynthetic nitrogen-use efficiency, PNUE, still occurs (Pons and Pearcy 1994, Poorter and Evans 1998). Wright et al. (2005) showed that PNUE tended to be lower in species with long LLS. In tropical trees, a covariation was evidenced between leaf-N allocation to photosynthesis and photosynthetic capacity in seedlings of 14 tropical rainforest species (Coste et al. 2005).

Leaf traits are also known to greatly vary with relative irradiance. Shade and sun leaves differ largely within a given species or the canopy of an individual tree. This reveals a large irradiance-elicited phenotypic plasticity, i.e., the capacity for a given genotype to express several phenotypes under various environmental conditions (Bradshaw 1965, Sultan 2000). In general, leaves are thinner, less dense and display lower LMA in the shade than under full sun (Kitajima 1994, Rijkers et al. 2000, Valladares et al. 2000, Rozendaal et al. 2006). Shade leaves display also higher chlorophyll contents on a mass basis (Chl_{m}) (Poorter et al. 1995, Rijkers et al. 2000) together with lower levels of net CO₂ assimilation and dark respiration per leaf area ($A_{\text{sat,a}}$ and $R_{\text{d,a}}$, Givnish 1988, Rijkers et al. 2000). These features are well known and occurred in all species tested so far. Usually, apparent maximal velocity of RuBP carboxylation (V_{cmax}) and maximal light driven electron flux (J_{max}) are also smaller in shade acclimated leaves (Frak et al. 2001, Givnish et al. 2004). In general, the ratio $V_{\text{cmax}}/J_{\text{max}}$ remains almost constant across irradiance levels (Niinemets and Tenhunen 1997, Meir et al. 2002).

It is still a matter of debate whether the magnitude of plastic changes elicited by irradiance differs among leaf traits, and whether, for a given leaf trait, it varies among species or functional groups of species. Portsmouth and Niinemets (2007) found no trade-off between plasticity of structural and of physiological traits, contrary to what was hypothesized earlier (Valladares et al. 2002). The link between phenotypic plasticity and successional stage of species is still a matter of vivid debate: pioneer species have been shown to display a larger plasticity than understorey species in some cases (Popma et al. 1992, Valladares et al. 2000) but not in others (Rozendaal et al. 2006). Similarly, Rozendaal et al. (2006) could not confirm that phenotypic plasticity was larger in pioneer species from early successional habitats. Nevertheless, it remains generally accepted that phenotypic plasticity constitutes an advantage for growth and survival in heterogeneous habitats (Bradshaw 1965, Rice and Bazzaz 1989). One of the reasons for such discrepancies among studies may lie in the selection of species, and the data basis available for discussing plasticity with respect to successional status, remains rather limited.

To contribute to this debate, we examined the plastic responses to irradiance of structural and physiological leaf traits on saplings from 12 tropical-rainforest tree species. Individuals were grown under controlled irradiance levels in a shade-house. Fifteen morphological and physiological leaf traits, linked to photosynthesis, were recorded: mass-per-area ratio (LMA), thickness, dry matter content (LDMC), density, total nitrogen, carbon and chlorophyll contents (N_m and C_m , and Chl_a). Photosynthetic capacity was quantified using the semi-mechanistic leaf-photosynthesis model of Farquhar et al. (1980) and estimated *in vivo* by two key parameters: apparent maximal RuBP carboxylation velocity ($V_{cmax}a$) and electron transport rate ($J_{max}a$). $V_{cmax}a$ and $J_{max}a$ were used to compute the relative allocation of total leaf N to carboxylation (V_{cmax}/N), to bioenergetics (J_{max}/N) and to light interception (Chl/N). Intrinsic water-use efficiency was estimated from WUE_i , (the ratio of light saturated net CO_2 assimilation rate on stomatal conductance for water vapour, A/g) and from the carbon isotope composition $\delta^{13}C$. Phenotypic plasticity was quantified using the relative-distance plasticity index (RDPI, Valladares et al. 2006). This index allowed (1) to test for differences in plasticity among species and (2) to consider leaf plasticity as an additional ecophysiological trait of the tested species.

The main objectives of our study were: (i) to record the interspecific diversity of structural and physiological leaf traits under different irradiance levels; (ii) to identify main covariations among these traits; (iii) to assess and compare irradiance-elicited phenotypic plasticity of leaf traits and (iv) to test whether irradiance-elicited plasticity differed among species.

Material and methods

Plant material

This study was conducted in a greenhouse from January 2005 to May 2006 at Kourou, French Guiana, South America (5°10'N, 52°40'W). Measurements were made on saplings from 12 tropical rainforest tree species. The species were selected to cover a large range of ecological requirements (Table 1). All saplings were grown from seed or from young seedlings collected from March to July 2003 in natural forests around Kourou. They were transferred to the greenhouse under different shading nets during December 2003.

The saplings were grown in 30L pots with a 1/2 (v/v) mix of sand and A-horizon soil from a nearby forest. During July 2004, all pots received 40 g slow-release complete fertiliser (Multicote 4, 17/17/17 N/P/K). The whole population of saplings was treated with a systemic insecticide (Lannate, Du Pont de Nemours, France) and whenever required, with a contact insecticide (Endosulfan, Thionex, Bayer Crop Science, France) and a fungicide (Ortiva, Syngenta, Belgium). The saplings were irrigated daily with drip irrigation in order to maintain volumetric soil humidity between 15 and 32%. Shading nets were used to create 3 contiguous, 5 x 12.5m large plots corresponding to the three irradiance treatments t_5 , t_{10} and t_{20} (Table 2). Potted saplings were distributed to these plots with the following experimental design: 2x3 lines of 25 plants per plot, each line containing at least 1 individual per species at random positions. Distance between individuals was 40 cm on the line and between two adjacent lines. Groups of three successive pairs of lines were separated by 1m wide alleys. Irradiance above the saplings was recorded during two, 3 d-long measurement campaigns with 36 intercalibrated quantum-sensors for photosynthetically active radiation (PAR CBE 80 Solems, Palaiseau, France) placed on a regular grid, and compared to an external quantum-sensor. Cumulated irradiance recorded by each sensor was used to compute the relative irradiance above the saplings in the three treatments (t_5 , t_{10} and t_{20} , Table 2).

Air temperature and relative humidity below the nets were recorded continuously from July 20 to September 8, 2004, from November 9 to January 21, 2005 and from May 26 to November 13, 2005 with 2 HMP45 sensors (Campbell Scientific, UK) located in the middle of plots t_5 and t_{20} . They were very close to ambient values in the open, and did not differ significantly among treatments (daily mean temperature: 29.1°C (min/max: 23.9/33.3 °C), daily mean relative humidity: 72.6 % (min/max 61/92 %)). Soil temperature was recorded with 3 sensors (Campbell

UK) placed in a single pot of each plot. No treatment related difference was found and mean soil temperatures during days and nights were 24.7°C (min/max 21.4/30.6) and 24.4°C (min/max 21.7/28.3), respectively. Five to seven individuals were selected per species and treatment, based on uniformity in height, for photosynthetic measurements.

Leaf photosynthetic capacity

Photosynthetic capacity of leaves was estimated with the photosynthesis model of Farquhar et al. (1980). The basis of the model is the equation relating net CO₂ assimilation (A) to Rubisco activity and respiration:

$$A = V_c - 0.5V_o - R_d$$

where V_c and V_o are RuBP carboxylation and oxygenation rates and R_d is the CO₂ production by non-photorespiratory respiration in the mitochondria. Two parameters were estimated from the response curves of A to the intercellular mole fraction of CO₂ in the leaves (A - C_i curves):

- V_{cmax} , the maximal rate of RuBP carboxylation;
- J_{max} , the maximal light driven electron flux.

A detailed description of the model and equations may be found in Le Roux et al. (1999) and Dreyer et al. (2001). The primary parameter set used to adjust the model was that of Bernacchi et al. (2001, see Table 3). The rate limitation by triose-phosphate availability was not estimated as A - C_i curves did not display the high-CO₂ saturation typical for limitation by triose-phosphate use. Trials to adjust a complete version of the model including internal conductance to CO₂, g_i (Ethier and Livingston 2004, Warren 2006) induced a large uncertainty in the estimated values; the procedure was abandoned and g_i considered to be infinite. The reported values of V_{cmax} (and to a lesser extent J_{max} , which is much less affected by g_i) should therefore be considered as apparent values, including a g_i component. Real values of V_{cmax} were probably significantly larger.

A - C_i curves were recorded on young, fully expanded leaves selected on top of the main axis, usually on the second-last growth unit of the main shoot. A portable leaf photosynthesis chamber (CIRAS-1, PP-System, Hitchin, UK) was used with a 2.5 cm² Parkinson leaf-clamp chamber. Leaf temperature was set at 30°C (extremes were 29 and 32°C), photosynthetic photon flux density ($PPFD$), provided by red LEDs, was set at 700 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, which corresponds to a saturating irradiance in the studied species (data not shown). Vapour pressure deficit in the chamber was 1.6

± 0.04 kPa. Photosynthesis and opening of stomata were induced during at least 20 min. at about $200 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$ in the chamber. Each $A-C_i$ curve consisted of 13 sequential steps at following CO_2 mole fractions (C_a): 50, 100, 200, 300, 380, 500, 600, 700, 900, 1100, 1300, 1500 and $1700 \mu\text{mol mol}^{-1}$. Three sets of values of A and C_i were recorded at 10 s intervals after each CO_2 step. After running a full $A-C_i$ curve, light was shut down and respiration recorded after 10 min stabilisation. A_{sat} , saturating net CO_2 assimilation rate under ambient CO_2 was taken as the value of A recorded at a C_a of 380 (379 ± 3.3) $\mu\text{mol mol}^{-1}$.

Leaf structure and chemistry

After completion of the $A-C_i$ curves, leaves were harvested, and lamina thickness was estimated as the mean of four measurements with a digital micrometer (Digimatic micrometer, Mitutoyo, Japan), care being taken to avoid the main veins. Leaf fresh weight was recorded immediately, followed by leaf area with a portable diode array planimeter LiCor 3000A (LiCor Inc, Lincoln, Nebraska). Leaves were then dried at 60°C during 48h, and mass-to-area ratio (LMA), dry matter content (the ratio of dry mass to fresh mass, LDMC = 1-leaf water content on a fresh mass basis, Garnier et al. 2001, Cornelissen et al. 2003) and leaf density (LMA/thickness) were computed. A portable chlorophyll meter SPAD-502 (Minolta, Osaka, Japan) was used to estimate chlorophyll content (Chl_a , $\mu\text{mol chlorophyll m}^{-2}$). A calibration curve relating SPAD measurements and chlorophyll content was established for each species. Dried leaves were ground and mass-based N (N_m) and C contents (C_m) were measured with an elemental analyser (ThermoQuest NA 1500 NCS, Carlo Erba, Italy) and used to compute area-based N_a . The ^{13}C isotope composition of bulk leaf biomass, expressed as the difference to a PDBElemnite standard ($\delta^{13}\text{C}$, ‰) was recorded for the same samples with an isotope ratio mass spectrometer (ΔS , Finnigan Mat, Bremen, Germany) at INRA Nancy. Carbon isotope composition of the air was $\delta_a = -7.85$ ‰ (Bonafant, pers. com.). Intrinsic water-use efficiency (WUE_i), defined as the ratio of CO_2 assimilation (A_{sat}) to stomatal conductance for water vapour (g_s) was also computed.

Indirect estimates of photosynthetic nitrogen-use efficiency were computed as the ratio between photosynthetic capacity and total N in the leaves (in molar units), as A_{sat}/N , V_{cmax}/N , J_{max}/N and Chl/N .

Plasticity index

Plasticity of the studied traits was assessed with a relative-distance plasticity index (RDPI) as suggested by Valladares et al. (2006). This index, ranging from 0 (no plasticity) to 1 (maximal plasticity), was computed per trait and species as the mean relative distance between phenotypes as:

$$\text{RDPI} = \sum \left(\left| x_{ij} - x_{i'j'} \right| / \left(x_{ij} + x_{i'j'} \right) \right) / n,$$

with x_{ij} , value of the trait for individual i in environment j (3 environments in our study); $|x_{ij} - x_{i'j'}|$ the absolute difference in trait values computed between all pairs of individuals from two different treatments, and n the total number of pairs.

Statistical analysis

All statistical analyses were performed with STATISTICA (Kernel Version 6.0, StatSoft, Tulsa, Oklahoma, USA). Data were \log_{10} - or sqrt-transformed to respect the required data normality and variance homogeneity as indicated in table and figure legends. Because data were available only for seven species in the intermediate light treatment, t_{10} , all analyses presented in the study were applied to the t_5 and t_{20} treatments, except for RDPI that based on the complete data-set. Differences between species, irradiance treatments and their interactions were analyzed by a two-way ANOVA. Results of the ANOVA for the three treatments (for 7 seven species) are given in appendix 1. All regressions as well as the ANCOVA and the final PCA used computed mean values of variables for each species in each treatment. Differences among treatments for the slopes of linear regressions were tested with ANCOVA models. To test whether species rankings obtained for the different light treatments were comparable for all the studied traits, Spearman rank coefficients were computed among light treatments. A one-way ANOVA was used to analyse differences between species for all values of RDPI. All RDPI values were ranked prior to analysis to avoid the assumptions of normality. All statistical relationships were considered significant at $P < 0.05$.

Results

Interspecific diversity of leaf traits under a common irradiance

Structural and physiological leaf traits displayed a large diversity among the 12 species (Figure 1, Table 4). LMA varied almost threefold among species in the highest irradiance treatment (t_{20} , 38 to 107 g m⁻²). F -values were highest for structural leaf traits, and particularly for C_m and leaf density (427 to 489 mg g⁻¹ and 0.18 to 0.50 g cm⁻³). Leaf nitrogen content varied fourfold (from 7.32 to 28.4 mg g⁻¹) when expressed on a mass basis (N_m), but only from 0.59 to 1.40 mg m⁻² when expressed on an area basis (N_a).

Area-based photosynthetic capacity ($V_{\text{cmax}}a$ and $J_{\text{max}}a$) varied almost threefold among the 12 species (from 25 to 73 and from 35 to 120 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectively). Light-saturated net CO₂ assimilation rate ($A_{\text{sat}}a$) varied almost fivefold (from 2.44 to 12.0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). As expected, $A_{\text{sat}}a$ was tightly correlated with $V_{\text{cmax}}a$ and $J_{\text{max}}a$ ($r^2 = 0.95$, $P < 0.001$ and $r^2 = 0.93$, $P < 0.001$, respectively). Differences among species were even larger for mass-based photosynthetic capacity; the highest values were observed in *Cecropia obtusa* and *Bagassa guianensis* (Figure 1). V_{cmax} and J_{max} were tightly intercorrelated ($r^2 = 0.89$; $P < 0.001$) but nevertheless the ratio $J_{\text{max}}/V_{\text{cmax}}$ varied from 1.19 to 1.75 with only a small species effect (Table 4).

V_{cmax}/N and A_{sat}/N , the two estimates of Photosynthetic Nitrogen Use Efficiency (PNUE) displayed the highest values in the two pioneers, *Cecropia obtusa* and *Bagassa guianensis*, and in *Hymenaea courbaril*: these three species invested the largest fraction of leaf N into photosynthesis. The shade-tolerant *Vouacapoua americana* displayed the lowest PNUE. The ratio total chlorophyll/N (Chl/N) differed less between species, very high values being reached in the shade-tolerant *Pradosia cochlearia*.

Carbon isotope composition of bulk leaf matter ($\delta^{13}\text{C}$) displayed a large range of values (from -34.5 to -26.6 ‰, corresponding to discrimination values, Δ , from 18.8 to 24.7). This 6 ‰ range of Δ is equivalent, according to the model of Farquhar and Richards (1984), to a doubling of intrinsic water use efficiency (WUE_i). The lowest values of $\delta^{13}\text{C}$ (lowest WUE_i) were recorded in *Vouacapoua americana* and the highest in *Bagassa guianensis*. The ratio light-saturated photosynthesis/stomatal conductance (A_{sat}/g_s) another estimate of WUE_i, varied between 34.7 and 64.7 $\mu\text{mol mol}^{-1}$. Due to a large intra-specific variability, the F -value observed for A_{sat}/g_s was

very small (Table 4 and Appendix 1) and $\delta^{13}\text{C}$ and A_{sat}/g_s were only poorly intercorrelated (not shown).

Irradiance-elicited plasticity of leaf traits

Although the differences in relative irradiance were rather small among treatment, we found a large effect on all traits with the notable exception of the mass-based photosynthetic capacity ($A_{\text{sat}}\text{m}$, $V_{\text{cmax}}\text{m}$ and $J_{\text{max}}\text{m}$) and A_{sat}/g_s (Table 4). Leaves were thicker, denser and had a larger LMA under t_{20} than under t_5 (Figure 1, Table 4). They also displayed a larger total leaf nitrogen, N_a , combined with a smaller chlorophyll content (whether on a mass or on an area-basis). Irradiance also modified $\delta^{13}\text{C}$, which increased from -32 ± 0.5 to -30 ± 0.5 ‰, i.e., a 25 % increase in modelled WUE_i between t_5 and t_{20} . This contradicts to some extent the lack of effect on A_{sat}/g_s reported above. Parallel to LMA, area-based photosynthetic capacity significantly increased ($P < 0.0001$) with irradiance as well as PNUE estimated from V_{cmax}/N , J_{max}/N and A_{sat}/N . The ratio Chl/N alone significantly decreased with irradiance increase (Table 4, Figure 1).

If we consider the seven species measured under the three relative irradiance levels (Appendix 1) we notice that the increase was not always linear with irradiance and that N_a was not modulated by relative irradiance.

Relationships among leaf traits

Leaf density was tightly correlated to LDMC, with no irradiance-related difference in the slope (Figure 2). Similarly, a significant and unique correlation was observed between LDMC and C_m under the two treatments and between leaf density and C_m only under t_{20} . The other correlations were rather loose and erratic, with even a negative relationship between leaf thickness and (i) density and (ii) LDMC under t_{20} . Consequently, no relationship was observed between LMA and any of its two components (thickness and density) under t_{20} . Under t_5 , leaf thickness and density were not correlated and LMA increased significantly with leaf thickness. Relationships among structural leaf traits were in general only little affected by irradiance.

$V_{\text{cmax}}\text{a}$ and $V_{\text{cmax}}\text{m}$ were loosely and negatively correlated with leaf density and LDMC. $V_{\text{cmax}}\text{m}$ was tightly controlled by LMA, N_m and Chl_m and by V_{cmax}/N (i.e., PNUE) with similar slopes in the two treatments (Table 5). $V_{\text{cmax}}\text{a}$ was independent of N_a (with the exception of a loose relationship at t_{20}) and only controlled by V_{cmax}/N . In the same way, chlorophyll content was only correlated to assimilation when expressed on a mass-basis. Finally, there was a loose but

significant and consistent correlation between V_{cmax} (a or m) and stomatal conductance, but none with $\delta^{13}\text{C}$ or WUE_p .

In order to assess the main components of the interspecific diversity of leaf traits, a principal component analysis was applied to traits recorded in t_{20} : LMA, leaf thickness, LDMC, N_m , C_m , Chl_a , $V_{\text{cmax}m}$, R_{dm} , $\delta^{13}\text{C}$, V_{cmax}/N and Chl/N (Figure 3). The first two axes explained 74 % of the observed variability (46% was explained by the first axis alone). The main contributors to the first axis were N_m , $V_{\text{cmax}m}$, LMA and R_{dm} (coordinates 0.95, 0.95, -0.85 and 0.83 respectively). The main contributors to the second axis were leaf thickness and LDMC (coordinates -0.83 and 0.81 respectively). V_{cmax}/N and Chl/N were as expected completely independent one from the other. The distribution of species on the factor plane (1 x 2) yielded a clear segregation between the two pioneers *C. obtusa* and *B. guianensis* and the other species, the former displaying much higher values on axis 1. Among the remaining species, *T. melinonii* and *H. courbaril* exhibited the highest values on axis 1 and *P. cochlearia* the lowest ones (Figure 3). *V. americana* was at the positive extreme of axis 2, while several species were at the negative end at nevertheless a shorter distance. $\delta^{13}\text{C}$ was only loosely correlated to the two axes, and was not correlated at all to photosynthetic capacity.

Interspecific diversity of plasticity

Three approaches were used to test for differences in plasticity among species: (i) a Spearman rank correlation was computed for the traits to compare irradiance treatments; (ii) interactions among species and irradiance levels were tested in the ANCOVA analysis; (iii) a plasticity index (RDPI) was computed for all traits and compared among species and in a multifactorial analysis (PCA).

In general, interactions between species and irradiance effects remained barely significant particularly for structural traits, and the Spearman's rank coefficient comparing the ranking in the two treatments was very high. The only parameter for which a significant interaction was detected between factors was C_m , but the F value was still much smaller than for species and irradiance effects; this is consistent with the large Spearman's correlation coefficient observed. In general, the lack of interaction was consistent with the observed maintenance of species ranking among irradiance levels for the majority of studied leaf traits (Spearman's coefficients of correlation $r > 0.90$, Table 4). Some physiological leaf traits like $J_{\text{max}a}$, $J_{\text{max}m}$, J_{max}/N , R_{da} and g_s displayed significant interactions but F was much smaller for the interactions than for the main

effects. Except for R_{da} , the ranking of species was not affected by the interaction. The ranking of species significantly differed between t_5 and t_{20} for two traits only, R_{da} and A_{sat}/g_s . R_{da} tended to increase with irradiance but it decreased for *S. globulifera*. A_{sat}/g_s decreased with irradiance in *P. cochlearia*, *P. opacum* and *H. courbaril* while it increased in the other species (Figure 1).

Despite this strong convergence among traits with respect to their plasticity, the relative-distance plasticity index (RDPI) significantly differed among species (Figure 4, $P < 0.001$). RDPI by definition ranges between 0 and 1, and the maximum observed here was 0.56 (*V. americana*, R_{da}). The highest values of RDPI were found respectively for R_{da} , R_{dm} , V_{cmax} and g_s and the smallest for $\delta^{13}C$, C_m , LDMC, density and thickness. The largest inter-specific differences in RDPI were found for C_m ($F = 24.7$) consistently with the above observations on interactions between effects. Nevertheless, the two pioneers *C. obtusa* and *B. guianensis* did not differ from the shade tolerant species with respect to RDPI, except for a large plasticity of C_m in *C. obtusa* (Figure 1, 4). A principal component analysis was applied to RDPI for following traits: LMA, leaf thickness, LDMC, N_m , C_m , Chl_a , A_{sat} , R_{da} , $\delta^{13}C$, A_{sat}/N and Chl/N (Figure 5). The two first axes of the PCA explained 57% of the observed variability (Figure 5). The main contributors to the first principal axis were RDPI of LDMC, LMA and V_{cmax} (coordinates 0.87, 0.78 and 0.71 respectively). The main contributors to the second axis were RDPI of V_{cmax}/N and Chl/N (coordinates -0.83 and 0.80 respectively). We found that RDPI of foliar N allocation to assimilation (A_{sat}/N) and to light interception (Chl/N) were negatively correlated (no relation was observed with RDPI of V_{cmax}/N). In the extreme situation, *S. globulifera* had the highest RDPI for A_{sat}/N and the smallest for Chl/N (Figures 3, 4) which is exactly the opposite of *P. opacum* (Figures 4, 5). For these traits and species, no clear grouping of species seemed possible on the basis of their RDPI.

Discussion

Interspecific diversity of leaf traits

Large differences were detected among the 12 studied tropical rainforest tree species in all structural and physiological leaf traits. Leaf mass-to-area ratio (LMA) and its two components, leaf density and thickness, varied more than threefold across species. Leaf dry matter content, LDMC, displayed a tight correlation with leaf density. Observed values of LDMC ranked within the range of values normally encountered. These large inter-specific differences in leaf structure were paralleled by a significant variability in area-based (about threefold within each treatment) and mass-based (about fivefold) photosynthetic capacity. As expected from earlier findings (Niinemets et al. 1998, Coste et al. 2005), maximal carboxylation rate V_{cmax} and maximal light driven electron flux J_{max} were tightly inter-correlated but surprisingly we found a weak, but significant, difference of $J_{\text{max}}/V_{\text{cmax}}$ among species. This variability may be associated with the method used to estimate the two parameters. We assumed an infinite value of internal leaf conductance (g_i) during the computation of photosynthetic capacity from $A-C_i$ curves. Recent studies have shown that g_i is not negligible and this may result in a significant underestimation of V_{cmax} (Ethier and Livingston 2004). Furthermore, the drop of CO_2 partial pressure from the intercellular spaces to the chloroplastic stroma (i.e., the ratio maximal CO_2 assimilation/ g_i) is not stable among species (Warren and Adams 2006). We were unable to estimate g_i with the required accuracy from our $A-C_i$ curves and consequently we have no idea about the importance and the inter-specific variability of this trait in the tested tropical trees. Large differences in photosynthetic nitrogen use efficiency (PNUE) were evidenced, confirming findings by Coste et al. (2005) that not only N_m , but also PNUE were important drivers for the interspecific diversity of photosynthetic capacity in tropical rainforest tree species.

Finally, large differences were also found for $\delta^{13}\text{C}$. The range of values was 6‰, i.e., an expected doubling of intrinsic water use efficiency (WUE_i). Indeed, species means found for A_{sat}/g_s , another estimator of WUE_i , displayed a two-fold range. Such a large diversity is coherent with the one recorded by Bonal et al. (2007) for saplings of tropical rainforest species grown under moderate shade. Moreover, the values of $\delta^{13}\text{C}$ of the juvenile were also correlated to values recorded in adults from the same species (Bonal et al. 2000, Bonal et al. 2007) revealing a stability of the reported diversity with tree age. There are only few measurements of transpiration efficiency at whole plant scale for tropical tree species. Cernusak et al. (2007) showed that it could

also vary by a factor 2 among a group of species. In the present study, $\delta^{13}\text{C}$ recorded in bulk leaf biomass was poorly correlated with A_{sat}/g_s but this may be due to the measurement strategy, A_{sat}/g_s being derived from measurements under saturating irradiance and therefore being not necessarily representative of the usual environmental conditions under which photosynthesis and stomata operate. Nevertheless, the range of A_{sat}/g_s was around 2 also. The lack of correlation of $\delta^{13}\text{C}$ with any other trait related to photosynthesis and leaf structure as evidenced in the PCA showed that $\delta^{13}\text{C}$ was probably only little influenced by photosynthetic capacity in this set of species, and may be under tight control of stomatal conductance.

Relationships among leaf traits

The almost systematic correlation observed on a broad scale between leaf N and photosynthetic capacity (Reich and Walters 1994, Reich et al. 1994, Reich et al. 1999, Wright et al. 2004) was confirmed among the studied species when expressed on a mass basis. Such results are consistent with the ‘leaf economic spectrum’ proposed by Wright et al. (2004), which at the extreme runs from species with high N_m , high photosynthetic capacity and R_d , short leaf-life-span and low LMA (quick returns on investments of nutrients and dry mass) to species with long leaf life span, expensive leaf (high LMA), low N_m , R_d and rates of photosynthesis (slower potential rate of return). However, as previously observed on co-occurring species, no relationship was found between N_a and area-based photosynthetic capacity (Coste et al. 2005).

Relationships between LMA and its two components, leaf thickness and density, differed among irradiance levels. In the present study, leaf density and thickness were clearly independent, which is consistent with earlier observations. This suggests that the control over leaf density and thickness is exerted by different processes (Nüinemets 1999). However under t_{20} , the highest relative irradiance, a significant negative relationship was found between the two traits (paralleled by a negative correlation between leaf thickness and LDMC). Consequently, for a given species, larger LMA corresponds to larger leaf thickness or leaf density but not to both. No clear covariation was found between LMA and any other structural trait. This lack of covariation confirms earlier results (Coste et al. 2005) but contradicts to some extent current predictions: a covariation between LMA and LDMC was expected, which should reflect a fundamental trade-off in plant function between a rapid production of biomass (low LMA, low LDMC species) and an efficient conservation of nutrients (high LMA, high LDMC species, Poorter and Garnier 1999, Garnier et al. 2001). The strong correlation between C_m and LDMC, supports the hypothesis that differences in leaf density (and LDMC) may be partly associated with differences in lignin

contents reflected by C_m (Niinemets and Kull 1998). This is consistent with the hypothesis that leaves with higher values of C_m are expensive to produce (with higher construction costs, g glucose m^{-2}) and probably display longer leaf life spans. There is a need for further research to confirm this view.

Despite the strong covariation observed between photosynthetic capacity and N_m , the relative allocation of N to photosynthesis strongly varied across species. In an earlier work, we concluded that this large diversity in photosynthetic N use efficiency (PNUE) was probably the main source of variation of the photosynthetic capacity among a similar set of species (Coste et al. 2005). In the present study, the position of PNUE on the first axis of the PCA confirmed the importance of this trait within the leaf economic spectrum as also underlined by Wright et al. (2005).

The two pioneer species, *Bagassa guianensis* and *Cecropia obtusa*, differed significantly from the other ones due to high photosynthetic capacity, large respiration, high N_m and PNUE and low LMA (i.e., quick acquisition of resources) whereas the 11 other species were mainly distributed along the axis opposing LDMC to thickness. This limited discrimination among species rises the question whether plasticity in response to irradiance would be a clue to differentiate species and possibly functional groups, which will be discussed below.

Irradiance-elicited plasticity of leaf traits

The large plasticity elicited by even moderate changes in irradiance that was recorded for many traits, fits perfectly with the frequently described pattern (Rijkers et al. 2000, Valladares et al. 2000, Rozendaal et al. 2006): leaves of seedlings grown under low irradiance are thinner, less dense and display a lower LMA, lower C content and surprisingly a lower N content than under higher irradiance. Photosynthetic capacity followed the expected plasticity: a large increase of area-based values and a lack of response of mass-based values. This latter observation clearly points to LMA as the main driver for the plasticity in photosynthetic capacity under changing irradiance. The decrease of N_m was a surprise, as the usual response is rather a stability of N_m with irradiance. In the present case, it could to some extent be an artefact related to enhanced growth under higher irradiance and limited N supply in the substrate despite fertilisation. Nevertheless, the increase in PNUE under increasing irradiance showed that this potential limitation had only small consequences, and that N availability was not the major cause of small values of photosynthetic capacity under lowest levels of irradiance. Our observations contradict those of Rijkers et al. (2000) for French Guiana rainforest tree species (including a common

species with our study, *Vouacapoua americana*), in which (i) N_m was independent of relative irradiance and (ii) LMA, associated to N_a , increased with light, resulting in an increase of A_{sat} . Leaf chlorophyll content significantly increased from t_5 to t_{20} , whether expressed on a mass or on an area basis, in spite of the net decrease of LMA. This observation contrasts with earlier studies where the negative covariation of LMA and Chl_m with irradiance resulted in similar values of Chl_a among sun and shade leaves and hence similar light harvesting capacities (Poorter et al. 1995, Poorter et al. 2000, Rozendaal et al. 2006).

Interspecific diversity of irradiance-elicited plasticity

Despite the fact that irradiance had a significant effect on the majority of structural and physiological leaf traits, we found only little evidence for a significant interspecific difference in plasticity of these traits. This statement bases on three observations: (i) there were only very minor interactions effects among species and irradiance for all traits (usually below the significance threshold, and always very small compared to the main effects); (ii) for a given trait, the species ranking was largely maintained in the different irradiance levels; (iii) direct computation of a Relative Distance Plasticity Index (RDPI) did not reveal a clear grouping of species. From the series of plasticity indexes analysed by Valladares et al. (2006), RDPI seemed the most useful as it does not base on any implicit assumption about the linearity of reaction norms, and it allows for some statistical analyses. RDPI was until now only seldom used (see Maestre et al. 2007), which made any cross comparison with our data impossible.

A first analysis revealed the occurrence of some diversity among species for some traits, like reported by Bloor and Grubb (2004). Nevertheless, it should be emphasized that inter-trait comparisons are difficult due to computation artefacts. Traits with a small range a variation lead to small values of RDPI, while such small variation may represent a large phenotypic effect. This was in particular the case for C_m . To obtain a broader view of the overall plasticity of the tested species, we preferred to use a PCA with all RDPI values rather than compute a mean plasticity per species as done earlier (Valladares et al. 2000, Rozendaal et al. 2006). Furthermore, contrary to mean plasticity, the PCA allowed to characterise the variability of plasticity among traits and species. No clear difference or trade-off was observed between plasticity of morphological and physiological traits (Rozendaal et al. 2006) and no clear clustering of species was evidenced by the PCA. Our data confirm that the plasticity-ranking of species depended heavily on the trait. The lack of interspecific difference in irradiance-elicited plasticity is in agreement with the results produced by Rozendaal et al. (2006) and contradicts the hypothesis that plasticity in leaf traits

might differ among species and be larger in pioneer species than shade tolerant ones (Valladares et al. 2000). In particular, the two pioneer species *C obtusa* and *B guianensis* did not differ from the other ones in this respect. This lack of difference between gap and understorey species suggests that it is not the plasticity as a trait that might be invoked to explain the tolerance to shade (or *a contrario* the requirement of high irradiance) of some of the species. Shade tolerance and light requirements may be based on whole plant carbon balance rather than on a series of traits and/or their plasticity.

Acknowledgments

S. Coste was supported by a PhD grant from the French Ministry for Higher Education and Research, and by a grant for technical cooperation in overseas regions of France. The authors are indebted to Claude Brechet and Jacqueline Marchand (UMR EEF, INRA Nancy) for carbon, nitrogen and $\delta^{13}\text{C}$ analysis, to Pascal Imbert, Saintano Dufort, Marcel Blaize, Jean-Louis De Kerpeztron and Henry Grootfaam (UMR Ecofog, Kourou) for their help throughout the experiment. Christopher Baraloto (UMR Ecofog, Kourou) contributed to the delicate process of botanical identification and selection of the species while Jean-Yves Goret helped establish and maintain the experiment under the shading nets. Useful discussions with Eric Marcon, Christopher Baraloto and Heidy Schimann (UMR ECOFOG) and with Pierre Montpied (UMR EEF, INRA Nancy) are gratefully acknowledged.

References

- Bernacchi, C.J., E.L. Singaas, C. Pimentel, A.R. Portis JR and S.P. Long. 2001. Improved temperature response functions for models of Rubisco-limited photosynthesis. *Plant Cell Environ.* 24:253-259.
- Bloor, J.M.G. and P.J. Grubb. 2004. Morphological plasticity of shade-tolerant tropical rainforest tree seedlings exposed to light changes. *Funct. Ecol.* 18:337–348.
- Bonal, D., C. Born, C. Brechet, S. Coste, E. Marcon, J.-C. Roggy and J.M. Guehl. 2007. The successional status of tropical rainforest tree species is associated with differences in leaf carbon isotope discrimination and functional traits. *Ann. For. Sci.* 64:169–176.
- Bonal, D., D. Sabatier, P. Montpied, D. Tremeaux and J.M. Guehl. 2000. Interspecific variability of $\Delta^{13}\text{C}$ among trees in rainforests of French Guiana: functional groups and canopy integration. *Oecologia.* 124:454-468.
- Bradshaw, A.D. 1965. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Adv. Genet.* 13:115-155.
- Cernusak, L.A., K. Winter, J. Aranda, B.L. Turner and J.D. Marshall. 2007. Transpiration efficiency of a tropical pioneer tree (*Ficus insipida*) in relation to soil fertility. *J. Exp. Bot.* 58:3549-3566.
- Cornelissen, J.H.C., S. Lavorel, E. Garnier, S. Diaz, N. Buchmann, D.E. Gurvich, P.B. Reich, H. ter Steege, H.D. Morgan, M.G.A. van der Heijden, J.G. Pausas and H. Poorter. 2003. A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Aust. J. Bot.* 51:335-380.
- Coste, S., J.-C. Roggy, P. Imbert, C. Born, D. Bonal and E. Dreyer. 2005. Leaf photosynthetic traits of 14 tropical rain forest species in relation to leaf nitrogen concentration and shade tolerance. *Tree Physiol.* 25:1127-1137.
- Dreyer, E., X. Le Roux, P. Montpied, F.A. Daudet and F. Masson. 2001. Temperature response of leaf photosynthetic capacity in seedlings from seven temperate tree species. *Tree Physiol.* 21:223-232.
- Ethier, G.J. and N. Livingston. 2004. On the need to incorporate sensitivity to CO_2 transfer conductance into the Farquhar–von Caemmerer–Berry leaf photosynthesis model. *Plant Cell Environ.* 27:137–153.

- Farquhar, G.D. and R.A. Richards. 1984. Isotopic composition of plant carbon correlates with water-use efficiency in wheat genotypes. *Aust. J. Plant. Physiol.* 11:539-552.
- Farquhar, G.D., S. von Caemmerer and J.A. Berry. 1980. A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. *Planta.* 149:78-90.
- Frak, E., X. Le Roux, P. Millard, E. Dreyer, G. Jaouen, B. Saint-Joanis and R. Wendler. 2001. Changes in total leaf nitrogen and partitioning of leaf nitrogen drive photosynthetic acclimation to light in fully developed walnut leaves. *Plant Cell Environ.* 24:1279-1288.
- Garnier, E., B. Shipley, C. Roumet and G. Laurent. 2001. A standardized protocol for the determination of specific leaf area and leaf dry matter content. *Funct. Ecol.* 15:688-695.
- Givnish, T.J. 1988. Adaptation to sun and shade: A whole plant perspective. *Aust. J. Plant. Physiol.* 15:63-92.
- Givnish, T.J., R.A. Montgomery and G. Goldstein. 2004. Adaptive radiation of photosynthetic physiology in the Hawaiian lobeliads: Light regimes, static light responses, and whole-plant compensation points. *Am. J. Bot.* 91:228-246.
- Kitajima, K. 1994. Relative importance of photosynthetic traits and allocation patterns as correlates of seedling shade tolerance of 13 tropical trees. *Oecologia.* 98:419-428.
- Le Roux, X., S. Grand, E. Dreyer and F.A. Daudet. 1999. Parameterization and testing of a biochemically based photosynthesis model for walnut trees (*Juglans regia*) and seedlings. *Tree Physiol.* 19:481-492.
- Maestre, F.T., J.L. Quero, F. Valladares and J.F. Reynolds. 2007. Individual *vs.* population plastic responses to elevated CO₂, nutrient availability, and heterogeneity: a microcosm experiment with co-occurring species. *Plant Soil.* 296:53-64.
- Meir, P., B. Kruijt, M. Broadmeadow, E. Barbosa, O. Kull, F. Carswell, A. Nobre and P.G. Jarvis. 2002. Acclimation of photosynthetic capacity to irradiance in tree canopies in relation to leaf nitrogen concentration and leaf mass per unit area. *Plant Cell Environ.* 25:343-357.
- Molino, J.-F. and D. Sabatier. 2001. Tree diversity in tropical rain forests: A validation of the intermediate disturbance hypothesis. *Science.* 294:1702-1704.
- Niinemets, Ü. 1999. Components of leaf dry mass per area - thickness and density - alter leaf photosynthetic capacity in reverse directions in woody plants. *New Phytol.* 144:35-47.

- Niinemets, Ü. and O. Kull. 1998. Stoichiometry of foliar carbon constituents varies along light gradients in temperate woody canopies: implications for foliage morphological plasticity. *Tree Physiol.* 18:467-479.
- Niinemets, Ü., O. Kull and J.D. Tenhunen. 1998. An analysis of light effects on foliar morphology, physiology, interception in temperate deciduous woody species shade tolerance. *Tree Physiol.* 18:681-696.
- Niinemets, Ü. and J.D. Tenhunen. 1997. A model separating leaf structural and physiological effects on carbon gain along light gradients for the shade tolerant species *Acer saccharum*. *Plant Cell Environ.* 20:845-866.
- Pons, T.L. and R.W. Pearcy. 1994. Nitrogen reallocation and photosynthetic acclimation in response to partial shading in soybean plants. *Physiol. Plantarum.* 92:636–644.
- Poorter, H. and J.R. Evans. 1998. Photosynthetic nitrogen-use efficiency of species that differ inherently in specific leaf area. *Oecologia.* 116:26-37.
- Poorter, H. and E. Garnier 1999. Ecological significance of inherent variation in relative growth rate and its components. *In Handbook of Functional Plant Ecology*, pp. 81-120.
- Poorter, L. 2007. Are species adapted to their regeneration niche, adult niche, or both? *Am. Nat.* 169:433-442.
- Poorter, L., R. Kwant, R. Hernandez, E. Medina and M.J.A. Werger. 2000. Leaf optical properties in Venezuelan cloud forest trees. *Tree Physiol.* 20:519-526.
- Poorter, L., S.F. Oberbauer and D.B. Clark. 1995. Leaf optical properties along a vertical gradient in a tropical rain forest canopy in Costa Rica. *Am. J. Bot.* 82:1257–1263.
- Popma, J., F. Bongers and M.J.A. Werger. 1992. Gap-dependence and leaf characteristics of trees in a tropical lowland rain forest in Mexico. *Oikos.* 63:207-214.
- Portsmouth, A. and U. Niinemets. 2007. Structural and physiological plasticity in response to light and nutrients in five temperate deciduous woody species of contrasting shade tolerance. *Funct. Ecol.* 21:61-77.
- Reich, P.B., D.S. Ellsworth, M.B. Walters, J.M. Vose, C. Gresham, J.C. Volin and W.D. Bowman. 1999. Generality of leaf trait relationships: a test across six biomes. *Ecology.* 80:1955-1969.

- Reich, P.B. and M.B. Walters. 1994. Photosynthesis-nitrogen relations in Amazonian tree species. II: Variation in nitrogen vis-a-vis specific leaf area influences mass and area-based expressions. *Oecologia*. 97:73-80.
- Reich, P.B., M.B. Walters, D.S. Ellsworth and C. Uhl. 1994. Photosynthesis-nitrogen relations in Amazonian tree species. I: Patterns among species and communities. *Oecologia*. 97:62-72.
- Rice, S.A. and F.A. Bazzaz. 1989. Growth consequences of plasticity of plant traits in response to light conditions. *Oecologia*. 78:508-512.
- Rijkers, T., T.L. Pons and F. Bongers. 2000. The effect of tree height and light availability on photosynthetic leaf traits of four neotropical species differing in shade tolerance. *Funct. Ecol.* 14:77-86.
- Rozendaal, D.M.A., V.H. Hurtado and L. Poorter. 2006. Plasticity in leaf traits of 38 tropical tree species in response to light; relationships with light demand and adult stature. *Funct. Ecol.* 20:207-216.
- Sultan, S.E. 2000. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends Plant Sci.* 5:537-542.
- Valladares, F., J.M. Chico, I. Aranda, L. Balaguer, P. Dizengremel, E. Manrique and E. Dreyer. 2002. The greater seedling high-light tolerance of *Quercus robur* over *Fagus sylvatica* is linked to a greater physiological plasticity. *Trees*. 16:395-403.
- Valladares, F., D. Sanchez-Gomez and M.A. Zavala. 2006. Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *J. Ecol.* 94:1103-1116.
- Valladares, F., S.J. Wright, E. Lasso, K. Kitajima and R.W. Pearcy. 2000. Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a Panamanian rainforest. *Ecology*. 81:1925-1936.
- Warren, C.R. 2006. Estimating the internal conductance to CO₂ movement. *Funct. Plant Biol.* 33:431-442.
- Warren, C.R. and M.A. Adams. 2006. Internal conductance does not scale with photosynthetic capacity: implications for carbon isotope discrimination and the economics of water and nitrogen use in photosynthesis. *Plant, Cell and Environment*. 29:192-201.

- Wright, I.J., P.B. Reich, J.H.C. Cornelissen, D.S. Falster, E. Garnier, K. Hikosaka, B.B. Lamont, W. Lee, J. Oleksyn, N. Osada, H. Poorter, R. Villar, D.I. Warton and M. Westoby. 2005. Assessing the generality of global leaf trait relationships. *New Phytol.* 166:485-496.
- Wright, I.J., P.B. Reich, M. Westoby, D.D. Ackerly, Z. Baruch, F. Bongers, J. Cavender-Bares, T. Chapin, J.H.C. Cornelissen, M. Diemer, J. Flexas, E. Garnier, P.K. Groom, J. Gulias, K. Hikosaka, B.B. Lamont, T. Lee, W. Lee, C. Lusk, J.J. Midgley, M.-L. Navas, Ü. Niinemets, J. Oleksyn, N. Osada, H. Poorter, P. Poot, L. Prior, V.I. Pyankov, C. Roumet, S.C. Thomas, M.G. Tjoelker, E.J. Veneklaas and R. Villar. 2004. The worldwide leaf economics spectrum. *Nature.* 428:821-827.

Tables

Table 1. List of the studied tree species, with the abbreviations used in the figures, as well as their systematic position and ecological status according to Molino and Sabatier (2001): Pioneers are strictly gap-dependent, heliophilic species are those that reach the canopy and are seldom found in the understorey, and shade tolerant are understorey species.

Species name	Codes	Family name	Ecological status
<i>Bagassa guianensis</i> J.B. Aublet	Bg	Moraceae	Pioneer
<i>Cecropia obtusa</i> Trécul.	Co	Cecropiaceae	Pioneer
<i>Tachigali melinonii</i> (Harms) Barneby	Tm	Caesalpiniaceae	Heliophilic/Non Pioneer
<i>Amanoa guianensis</i> J.B. Aublet	Ag	Euphorbiaceae	Shade tolerant
<i>Eperua falcata</i> J.B. Aublet	Ef	Caesalpiniaceae	Shade tolerant
<i>Hymenaea courbaril</i> Linnaeus	Hc	Caesalpiniaceae	Shade tolerant*
<i>Ponteria</i> sp.	Ps	Sapotaceae	Shade tolerant
<i>Pradosia cochlearia</i> (Lecomte) Pennington	Pc	Sapotaceae	Shade tolerant
<i>Protium opacum</i> Swart	Po	Burseraceae	Shade tolerant
<i>Sextonia rubra</i> (Mez) van der Weff	Sr	Lauraceae	Shade tolerant
<i>Symphonia globulifera</i> Linnaeus f.	Sg	Clusiaceae	Shade tolerant
<i>Vouacapoua americana</i> J.B. Aublet	Va	Caesalpiniaceae	Shade tolerant

*from the appendix of Poorter (2007).

Table 2. Mean (\pm standard deviation), minimum and maximum transmitted irradiance as recorded above the saplings in the three shaded plots of the greenhouse (t_5 , t_{10} and t_{20}). Measurements were done during three successive days of November 2003 and of September 2004 with PAR-quantum sensors. Transmittance expressed as % of external irradiance.

Treatment	November 2003			September 2004		
	Mean \pm SD	Min	Max	Mean \pm SD	Min	Max
t_5	4.64 \pm 0.9	3.31	6.33	4.66 \pm 0.6	3.68	6.11
t_{10}	8.77 \pm 1.8	6.22	13.2	9.26 \pm 0.8	8.04	11.61
t_{20}	18.72 \pm 1.2	17.15	21.3	20.3 \pm 1.1	18.4	22.6

Table 3. List of parameters used to adjust the leaf photosynthesis model of Farquhar (1980) to $A-C_i$ curves. For details, see Bernacchi et al. (2001)

Parameter	Symbol	Value	Unit
Quantum yield	α	0.24	Mol e^- mol $^{-1}$ photons
Rubisco affinity for CO $_2$ at 25°C	K_c	40.49	Pa
Activation energy of K_c	$\Delta H_a (K_c)$	79430	J mole $^{-1}$
Rubisco affinity for O $_2$ at 25°C	K_o	27840	Pa
Activation energy of K_o	$\Delta H_a (K_o)$	36380	J mole $^{-1}$
Compensation point for photorespiration at 25°C	Γ^*	4.275	Pa
Activation energy of Γ^*	$\Delta H_a (\Gamma^*)$	37830	J mole $^{-1}$
Equivalent O $_2$ concentration in the chloroplast	O	21000	Pa

Table 4. Results from a two-way ANOVA for the effects of two factors: Species (12 levels) and relative irradiance (2 levels, t_5 and t_{20}) and their interaction, on structural and functional leaf traits. $n=5$ to 7 individuals per species x irradiance treatments. F values and probability are displayed. With the exception of $\delta^{13}\text{C}$ (‰), C_m (mg g^{-1}) and WUE_i ($\mu\text{mol mol}^{-1}$), all variables were square root (R_{da} and R_{dm}) or \log_{10} -transformed. Mean values (\pm 95% confidence interval) are displayed for the two irradiance levels. For each trait, results of a Spearman rank test for mean species values between the two levels of irradiance, are displayed. Probabilities are indicated as: ns, $P>0.05$; *, $P\leq 0.05$; **, $P\leq 0.01$ and ***, $P\leq 0.001$.

	Species	Irradiance	Sp x L	t_5	t_{20}	Spearman's r
	F	F	F	means	means	
Structural traits						
LMA (g m^{-2})	53.0***	153***	1.30 ns	47.3 \pm 4.1	65.7 \pm 5.4	0.94***
Thickness (μm)	71.1***	88.6***	1.51 ns	166 \pm 16	203 \pm 17	0.95***
Density (g cm^{-3})	96.1***	52.1***	0.63 ns	0.30 \pm 0.02	0.34 \pm 0.03	0.99***
LDMC (mg g^{-1})	58.5***	27.8***	1.62 ns	343 \pm 19	376 \pm 22	0.92***
C_m (mg g^{-1})	116***	36.9***	7.46***	451 \pm 6.8	459 \pm 5.6	0.92***
N_a (mg m^{-2})	11.3***	14.5***	1.30 ns	0.90 \pm 0.05	1.03 \pm 0.07	0.71**
N_m (mg g^{-1})	53.6***	39.4***	1.09 ns	21.6 \pm 2.3	17.6 \pm 1.8	0.97***
Chl _a ($\mu\text{mol m}^{-2}$)	17.5***	18.6***	1.47 ns	602 \pm 39	537 \pm 52	0.91***
Chl _m ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	14.7***	128***	1.75 ns	14.2 \pm 1.3	8.70 \pm 0.9	0.83***
Physiological traits						
$V_{\text{cmax}a}$ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	15.6***	63.8***	1.02 ns	30.4 \pm 3.2	46.7 \pm 4.9	0.76**
$J_{\text{max}a}$ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	18.4***	69.2***	2.48**	43.9 \pm 3.5	69.3 \pm 8.2	0.80*
R_{da} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	5.25***	34.4***	2.76**	0.43 \pm 0.07	0.87 \pm 0.16	0.42 ns
$V_{\text{cmax}m}$ ($\text{nmol g}^{-1} \text{s}^{-1}$)	38.4***	1.57 ns	1.02 ns	797 \pm 154	839 \pm 142	0.76*
$J_{\text{max}m}$ ($\text{nmol g}^{-1} \text{s}^{-1}$)	49.3***	0.47 ns	2.09*	1122 \pm 176	1276 \pm 246	0.70*
R_{dm} ($\text{nmol g}^{-1} \text{s}^{-1}$)	9.16***	8.81**	1.88 ns	10.3 \pm 2.1	16.1 \pm 3.9	0.64*
$J_{\text{max}}/V_{\text{cmax}}$	2.59**	2.18 ns	3.11**	1.53 \pm 0.1	1.48 \pm 0.1	0.07 ns
$A_{\text{sat}a}$ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	18.3***	76.9***	1.24 ns	4.48 \pm 0.4	6.87 \pm 0.7	0.89***
$A_{\text{sat}m}$ ($\text{nmol g}^{-1} \text{s}^{-1}$)	42.8***	0.83 ns	1.29 ns	116 \pm 20	124 \pm 22	0.71*
V_{cmax}/N ($\mu\text{mol mmol}^{-1} \text{s}^{-1}$)	15.3***	37.2***	0.56 ns	0.48 \pm 0.05	0.63 \pm 0.05	0.80**
J_{max}/N ($\mu\text{mol mmol}^{-1} \text{s}^{-1}$)	16.7***	38.3***	2.40**	0.70 \pm 0.05	0.93 \pm 0.09	0.59*
A_{sat}/N ($\mu\text{mol mmol}^{-1} \text{s}^{-1}$)	13.0***	35.0***	0.9 ns	0.07 \pm 0.01	0.09 \pm 0.01	0.90***
Chl/ N ($\mu\text{mol mmol}^{-1}$)	24.5***	64.3***	1.24 ns	9.98 \pm 0.9	7.69 \pm 0.9	0.92***
$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	21.1***	89.0***	1.00 ns	-32 \pm 0.5	-30 \pm 0.5	0.76**
g_s ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	15.6***	55.4***	2.05*	91.8 \pm 11	150 \pm 29	0.76**
WUE_i ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)	5.81***	1.07 ns	1.62 ns	53.1 \pm 3.4	50.9 \pm 3.8	0.52 ns

Table 5. Pearson's correlation coefficients between photosynthetic capacity expressed on a mass (V_{cmaxm} , $\text{nmol g}^{-1} \text{s}^{-1}$) or area basis (V_{cmaxa} , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and leaf traits. Simple linear regressions with species means. Differences in slopes (i.e., interaction effects between light and covariables) were tested with ANCOVA models, for which the probability values are shown. Prior to ANCOVA, V_{cmaxm} was \log_{10} -transformed. Significance levels: ns, $P > 0.05$; *, $P \leq 0.05$; **, $P \leq 0.01$ and ***, $P \leq 0.001$.

	V_{cmaxm} ($\text{nmol g}^{-1} \text{s}^{-1}$)			V_{cmaxa} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)		
	t_5	t_{20}	Slope comparison	t_5	t_{20}	Slope comparison
LMA (g m^{-2})	-0.80**	-0.72**	$P=0.17$	-0.53 ns	-0.30 ns	—
Thickness (μm)	-0.25 ns	-0.08 ns	—	≤ 0.001 ns	0.23 ns	—
Density (g cm^{-3})	-0.65*	-0.67*	$P=0.72$	-0.67*	-0.65*	$P=0.62$
LDMC (mg g^{-1})	-0.65*	-0.59*	$P=0.65$	-0.70*	-0.66 *	$P=0.63$
C_m (mg g^{-1})	-0.50 ns	-0.46 ns	—	-0.48 ns	-0.53 ns	—
N_m (mg g^{-1})	0.89***	0.91***	$P=0.19$	—	—	—
Chl_m ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	0.89***	0.76**	$P=0.39$	—	—	—
N_a (mg m^{-2})	—	—	—	0.42 ns	0.69 *	—
Chl_a ($\mu\text{mol m}^{-2}$)	—	—	—	0.10 ns	0.20 ns	—
V_{cmax}/N ($\mu\text{mol mmol}^{-1} \text{s}^{-1}$)	0.82***	0.85***	$P=0.60$	0.85***	0.84***	$P=0.27$
Chl/N ($\mu\text{mol mmol}^{-1}$)	-0.32 ns	-0.38 ns	—	-0.23 ns	-0.27 ns	—
$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	0.36 ns	0.33 ns	—	0.19 ns	0.37 ns	—
g_s ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	0.59*	0.69*	$P=0.91$	0.76**	0.66*	$P=0.75$
WUE_i ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)	0.09 ns	-0.11 ns	—	0.01 ns	0.05 ns	—

Figure Captions

Figure 1. Effects of relative irradiance (expressed as a fraction of external irradiance) on 18 structural and functional leaf traits. Mean values (\pm 95% confidence intervals) are given for the 12 studied species (See Table 1 for the list of abbreviations) and for two levels of irradiance, t_5 and t_{20} . Species ranked according to increasing LMA under t_{20} .

Figure 2. Relationships between structural leaf traits: Leaf mass-per-area ratio (LMA, g m^{-2}), leaf thickness (μm), density (g cm^{-3}), dry-matter content (LDMC, mg g^{-1}) and carbon content (C_m , mg g^{-1}) under 2 irradiance regimes (t_5 , black dots and t_{20} , white dots). Linear regressions with mean values of the 12 species. Equations and r^2 are indicated for statistically significant regressions ($P < 0.05$) (grey and italic for t_{20}). Differences in slopes (i.e., interaction effects between irradiance and covariables) were tested with ANCOVA models, for which the probability values are shown. Significance levels: ns, $P > 0.05$; *, $P \leq 0.05$; **, $P \leq 0.01$; *** and $P \leq 0.001$.

Figure 3. Principal component analysis of the 12 studied species, ordinated according to the mean value of 10 traits recorded under the highest relative irradiance level, t_{20} . The leaf traits were: leaf mass-to-area ratio, LMA; leaf thickness; leaf dry matter content, LDMC; mass-based maximum rate of carboxylation, $V_{\text{cmax}m}$; mass-based dark respiration, $R_{\text{d}m}$; leaf carbon isotope composition, $\delta^{13}\text{C}$; mass-based total nitrogen content, N_m ; total chlorophyll content per unit leaf area, Chl_a ; V_{cmax}/N and Chl/N . Projections of the traits and of the species on the factor-planes (1 x 2) are shown. The 2 pioneer species are indicated by white dots. Abbreviations indicate species (see Table 1).

Figure 4. Mean value (\pm 95% confidence intervals) of Relative Distance Plasticity Index (RDPI), for 12 structural and functional leaf traits. (See Table 1, for list of abbreviations). This index ranging from 0 (no plasticity) to 1 (maximal plasticity) was computed per trait and species. Differences between species were tested by a one way ANOVA. F values were displayed. Species within were ranked according to increasing mean RDPI values of LMA. Significance levels: ns, $P > 0.05$; *, $P \leq 0.05$; **, $P \leq 0.01$ and ***, $P \leq 0.001$.

Figure 5. Principal component analysis of the 12 studied species, ordinated according to the phenotypic plasticity for 9 traits. The 9 traits were: RDPI of LMA, leaf thickness, LDMC, $V_{\text{cmax}m}$, $R_{\text{d}m}$, leaf carbon isotope composition $\delta^{13}\text{C}$, N_m , Chl_a , V_{cmax}/N and Chl/N ratio. Projection of the variables of the species on the factor-planes (1 x 2) are shown. Pioneer species are indicated by white dots. Abbreviations indicate species (see Table 1).

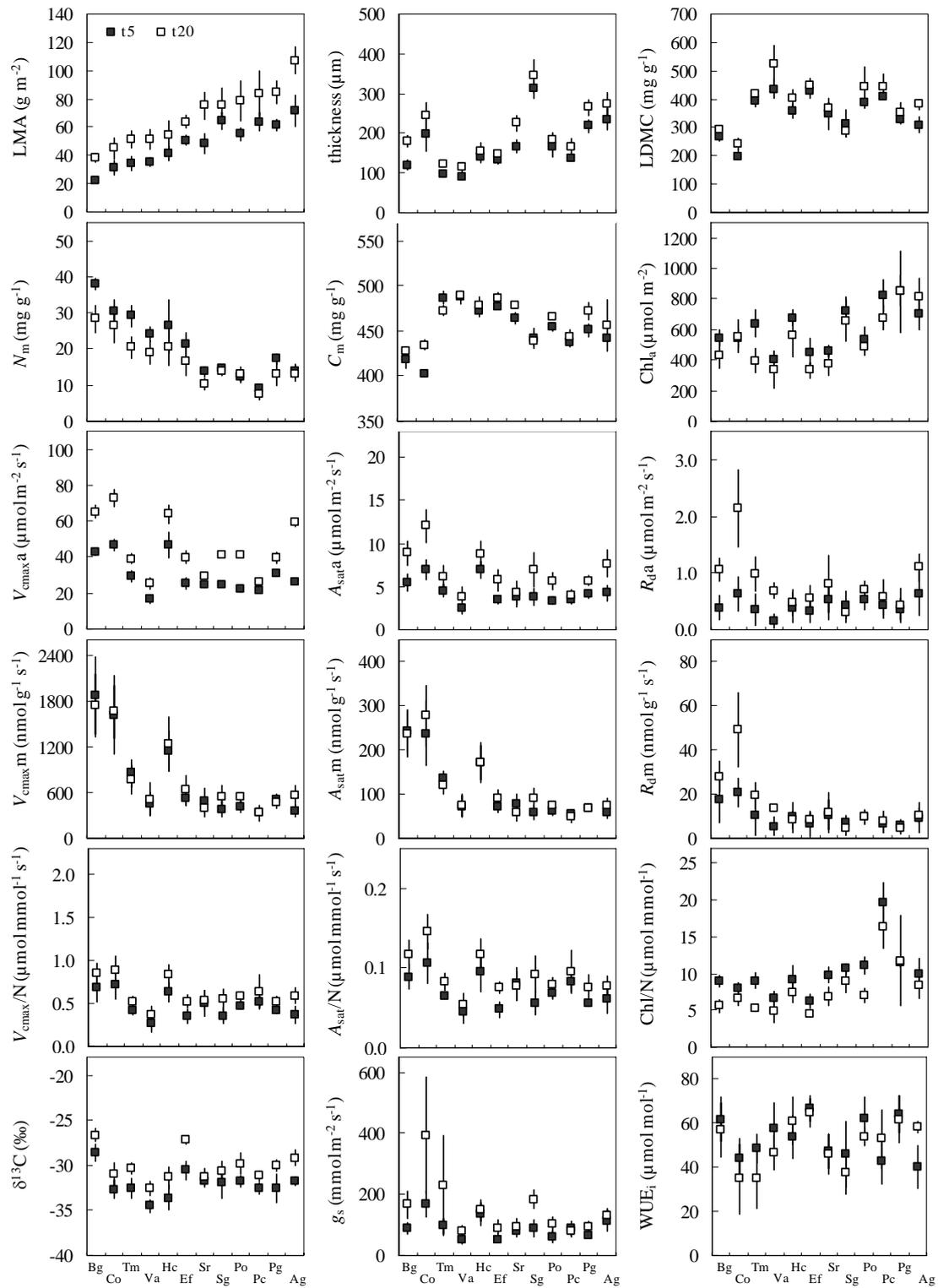


Figure 1.

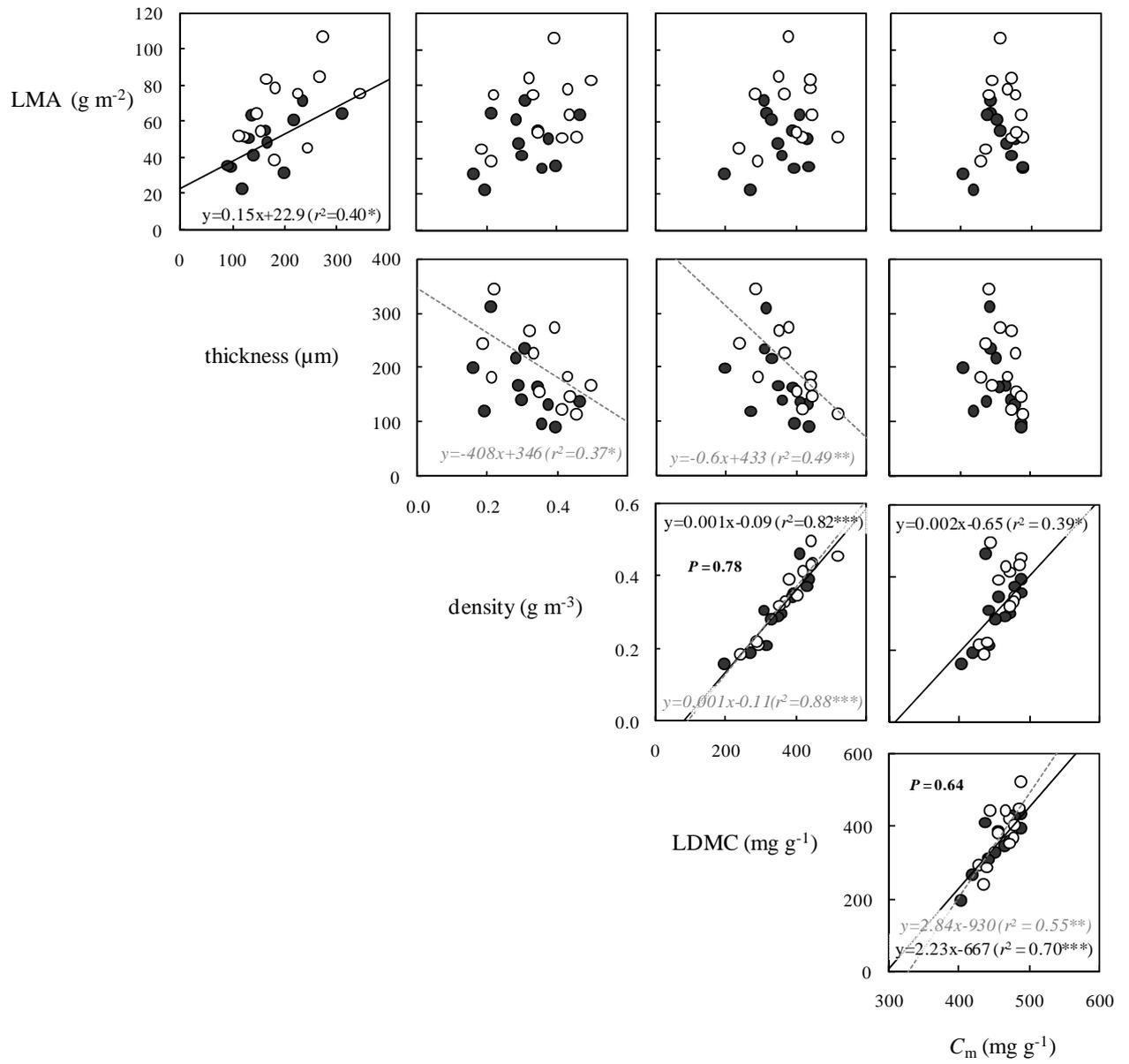


Figure 2.

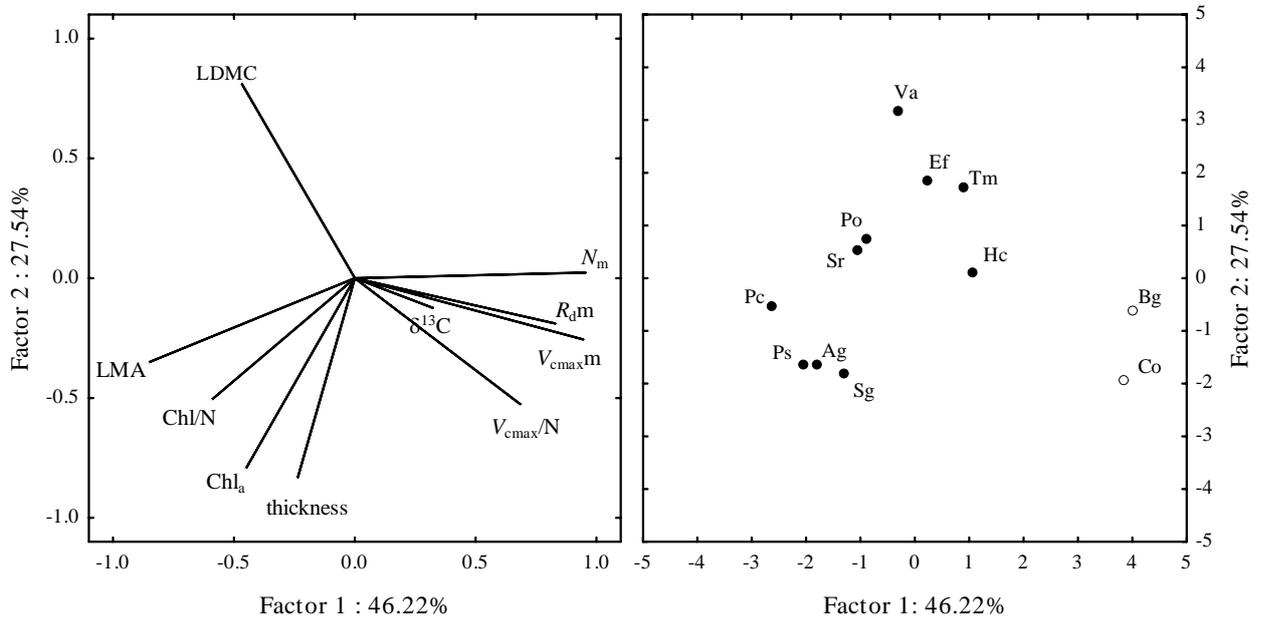


Figure 3.

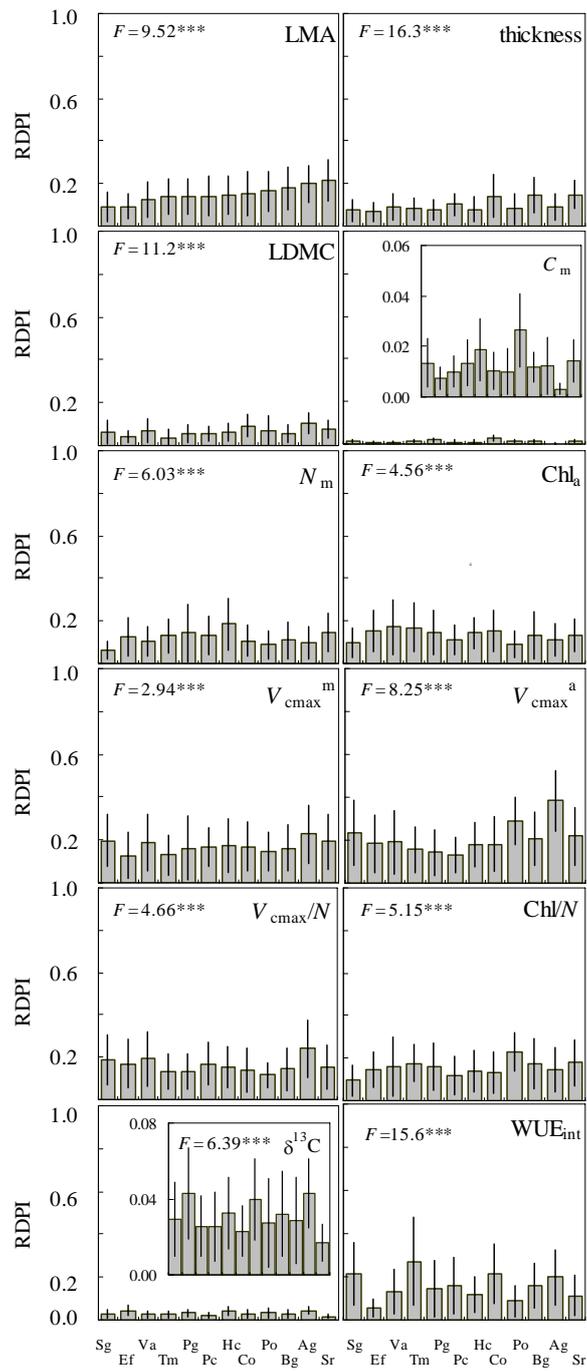


Figure 4.

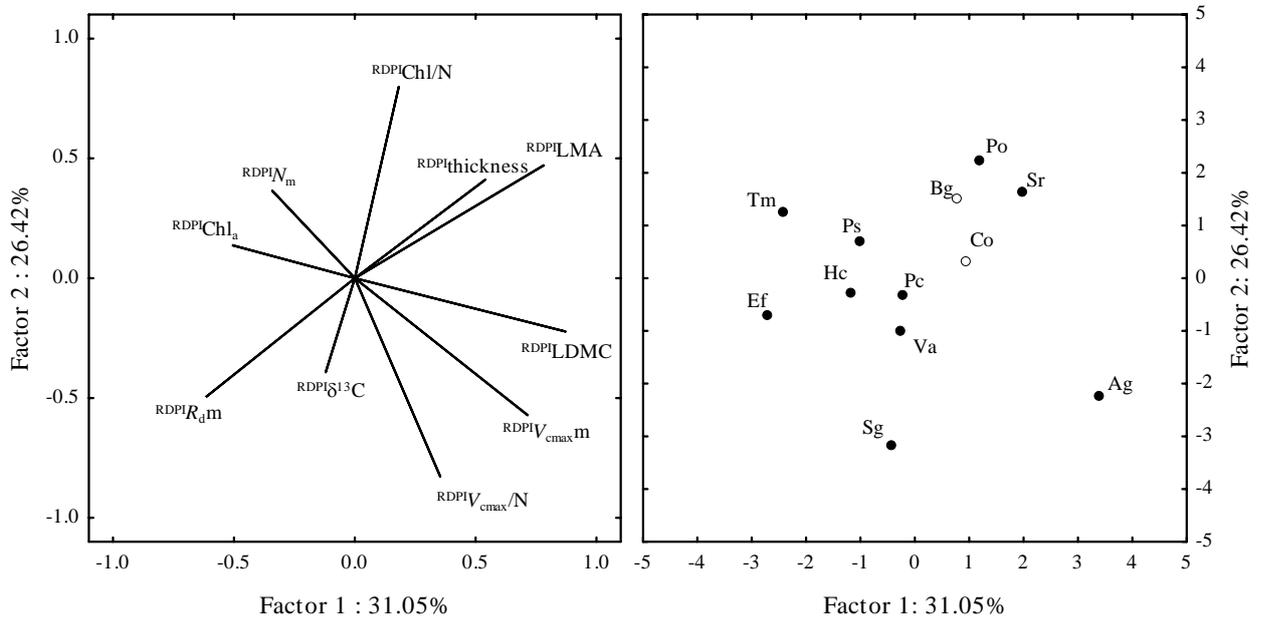


Figure 5.

Appendix

Appendix 1. Results from an ANOVA test for the effects of two factors: Species (12 levels) and Light (relative irradiance, 3 levels, t_5 , t_{10} and t_{20}) and their interaction, on leaf structure and photosynthetic traits. $n=5$ to 7 individuals per specie x irradiance regime. F values and probability are displayed. With the exception of $\delta^{13}\text{C}$ (‰), N_a (g m^{-2}), N_m (mg g^{-1}), C_m (mg g^{-1}), LDMC (mg g^{-1}), $J_{\text{max}}/V_{\text{cmax}}$ and WUE_i ($\mu\text{mol mol}^{-1}$), all variables were transformed as square roots for R_{da} or \log_{10} for all other traits. Mean values ($\pm 95\%$ confidence interval) are displayed for each irradiance level. For each trait, a Spearman rank coefficient is displayed for mean species values between the two extreme levels of irradiance (t_5 and t_{20}). Probabilities are indicated as: ns, $P>0.05$; *, $P<0.05$; **, $P<0.01$ and ***, $P<0.001$.

	Species	Light	Sp x L	t_5	t_{10}	t_{20}	Spearman's r
	F	F	F	means	means	means	
Structural traits							
LMA (g m^{-2})	98.8***	52.2***	2.67 **	41.5 \pm 5.1a	51.1 \pm 6.6b	56.8 \pm 5.6c	0.96***
Thickness (μm)	169***	24.3***	1.9*	164 \pm 23a	186 \pm 22b	204 \pm 25c	0.96***
Density (g cm^{-3})	227***	25.4***	0.86 ns	0.27 \pm 0.03a	0.30 \pm 0.03b	0.31 \pm 0.04b	1***
LDMC (mg g^{-1})	122***	6.17**	1.89*	331 \pm 28a	348 \pm 28ab	355 \pm 32b	0.96***
C_m (mg g^{-1})	210***	15.4***	5.5***	449 \pm 11a	460 \pm 8.9b	457 \pm 8.0	0.93**
N_a (mg m^{-2})	2.80*	2.97 ns	0.89 ns	0.96 \pm 0.05	1.02 \pm 0.07	1.07 \pm 0.06	0.21 ns
N_m (mg g^{-1})	72.6***	21.3***	1.49 ns	25.9 \pm 2.6a	22.3 \pm 2.5b	20.6 \pm 2.2b	0.96***
Chl_a ($\mu\text{mol m}^{-2}$)	23.9***	10.3***	1.18 ns	581 \pm 51a	617 \pm 66a	507 \pm 70b	0.82*
Chl_m ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	22.9***	51.7***	2.14*	15.7 \pm 1.8a	13.2 \pm 1.4b	9.29 \pm 1.2c	0.64 ns
Physiological traits							
$V_{\text{cmax}a}$ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	29.8***	17.9***	0.29 ns	31.7 \pm 4.4a	37.5 \pm 5.0b	48.5 \pm 6.4c	0.68 ns
$J_{\text{max}a}$ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	30.9***	26.7***	0.99 ns	45.2 \pm 4.8a	52.2 \pm 7.6a	77.4 \pm 12b	0.82*
R_{da} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	10.1***	19.7***	2.46**	0.39 \pm 0.09a	0.45 \pm 0.10a	0.95 \pm 0.24b	0.21 ns
$V_{\text{cmax}m}$ ($\text{nmol g}^{-1} \text{s}^{-1}$)	75.1***	1.65 ns	0.9 ns	959 \pm 227	874 \pm 210	985 \pm 200	0.86*
$J_{\text{max}m}$ ($\text{nmol g}^{-1} \text{s}^{-1}$)	94.2***	8.76***	1.25 ns	1326 \pm 253a	1158 \pm 282b	1593 \pm 354a	0.82*
R_{dm} ($\text{nmol g}^{-1} \text{s}^{-1}$)	22.1***	6.05**	1.54 ns	11.0 \pm 3.1a	10.6 \pm 3.2a	20.3 \pm 5.9b	0.68 ns
$J_{\text{max}}/V_{\text{cmax}}$	1.57 ns	5.09**	1.86*	1.50 \pm 0.09ab	1.40 \pm 0.06a	1.58 \pm 0.08b	-0.29 ns
$A_{\text{sat}a}$ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	33.4 ***	28.7***	0.4 ns	4.55 \pm 0.5a	5.39 \pm 0.7b	7.38 \pm 1.0	0.82*
$A_{\text{sat}m}$ ($\text{nmol g}^{-1} \text{s}^{-1}$)	84.4 ***	5.48**	1.12 ns	136 \pm 29a	120 \pm 27b	150 \pm 31a	0.71 ns
V_{cmax}/N ($\mu\text{mol mmol}^{-1} \text{s}^{-1}$)	39.6***	15.6***	0.64 ns	0.48 \pm 0.07a	0.50 \pm 0.07a	0.63 \pm 0.07b	0.68 ns
J_{max}/N ($\mu\text{mol mmol}^{-1} \text{s}^{-1}$)	42.7***	31.0***	1.23 ns	0.67 \pm 0.07a	0.67 \pm 0.10a	1 \pm 0.13b	0.79*
A_{sat}/N ($\mu\text{mol mmol}^{-1} \text{s}^{-1}$)	36.1***	24.6***	0.58 ns	0.07 \pm 0.01a	0.07 \pm 0.01a	0.10 \pm 0.01b	0.93**
Chl/N ($\mu\text{mol mmol}^{-1}$)	27.5***	29.6***	1.41 ns	8.69 \pm 0.6a	8.75 \pm 0.8a	6.72 \pm 1.1b	0.86**
$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	50.1***	33.2***	1.04 ns	-31.8 \pm 0.7a	-31.2 \pm 0.7a	-29.7 \pm 0.7b	0.86**
g_s ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	25.4***	228***	0.59 ns	89.8 \pm 15a	108 \pm 27a	177 \pm 46b	0.96***
WUE_i ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)	8.52***	7.33***	0.56 ns	55.4 \pm 4.3ab	60 \pm 4.9a	48.6 \pm 5.6b	0.89**

A cost/benefit analysis of functional leaf traits of tropical rain-forest tree species under different irradiance levels

Sabrina Coste¹, Jean-Christophe Roggy¹, Heidy Schimann¹, Gregory Sonnier¹, Daniel Epron² and Erwin Dreyer².

1. AgroParisTech-ENGREF, INRA, UMR CIRAD-ENGREF-INRA-CNRS « Ecologie des Forêts de Guyane », Campus Agronomique de Kourou, 97387 Kourou, Guyane Française

2. INRA, Nancy-Université, UMR1137 « Ecologie et Ecophysiologie Forestières », 54280 Champenoux, and Faculté des Sciences, 54500 Vandoeuvre France

*Correspondence and reprints: Erwin DREYER, dreyer@nancy.inra.fr; Phone: +33 (0)3 83 39 40 32; fax: +33 (0)3 83 39 40 69;

Short title: Cost/benefit analysis of leaf traits in tropical trees.

Abstract

- Interspecific diversity and irradiance-elicited plasticity of functional leaf traits were investigated in 13 tropical rain-forest tree species from French Guiana grown in a glasshouse under three levels of irradiance (5, 10 and 20% of full sunlight). Traits included construction costs of the metamer (leaf, petiole and stem), payback time of carbon investment into leaves and leaf life span (*LLS*).
- We tested the hypotheses that: (i) leaves with large construction costs displaying either large photosynthesis or large *LLS*; (ii) payback time and *LLS* were larger in shade understory than in pioneer species, and (iii) these traits displayed a large and coordinated plasticity in response to changing irradiance.
- Specific construction costs (CC_m) of stems, petioles and leaf lamina were computed based on C, N and ash content in the organs, and scaled to leaf area at metamer level (CC_a). Specific construction costs were larger in leaves than in petioles and stems. They displayed a significant inter-specific diversity. CC_m displayed a moderate plasticity with no clear-cut response to irradiance. CC_a displayed a larger inter-specific diversity and plasticity than CC_m , mainly due to the strong correlation with the metamer-mass to leaf-area ratio (*MLA*).
- Payback time (*PBT*) ranged from 11 to 50 days for leaf lamina and from 23 to 110 days for the whole metamer, with highly significant species and irradiance effects, and was much smaller than *LLS*. Variability of *PBT* was mainly explained by metamer structure.
- Leaf life span ranged from 4 up to more than 24 months and decreased with increasing irradiance. No correlation was detected between *LLS* and *CC* of the metamer.
- All these traits displayed a large irradiance-related plasticity, only limited species-irradiance interactions were detected, the species ranking was rather stable.
- A clear trade-off were evidenced between leaf life span, structure and payback time on one hand, and photosynthetic capacity on the other, while specific construction costs varied independently; the trade-off applied at leaf and at metamer level.

- The two pioneer species displayed concurrently the smallest values of *LLS* and *PBT* (and low value of *CC*) whatever irradiance level. They display similar plasticity than non pioneer species. No clear ranking could be established for the non pioneer species.

Keywords: construction costs / leaf life span / payback-time / functional diversity / irradiance-elicited plasticity / tropical rainforest / shade tolerance / photosynthesis / carbon balance.

List of abbreviations and symbols.

	Definition	Units
RGR	Relative height growth rate	cm cm ⁻¹ years ⁻¹
Construction costs (CC)		
CC _{Lm}	Specific construction cost of leaf lamina	g glucose g ⁻¹ DW
CC _{Pm}	Specific construction cost of petiole and main vein (or rachis)	g glucose g ⁻¹ DW
CC _{Sm}	Specific construction cost of stem	g glucose g ⁻¹ DW
CC _{La}	Construction cost of leaf lamina scaled to leaf area	g glucose m ⁻²
CC _{metm}	Construction cost of the metamer	g glucose g ⁻¹ DW
CC _{meta}	Construction cost of the metamer scaled to leaf area	g glucose m ⁻²
Structural traits		
LMA	Leaf mass per unit leaf area	g m ⁻²
PMA	Petiole mass to leaf area ratio	g m ⁻²
SMA	Stem (internode) mass to leaf area ratio	g m ⁻²
MMA	Metamer mass to leaf area ratio	g m ⁻²
thickness	leaf thickness	µm
density	leaf density (<i>LMA</i> /thickness)	g cm ⁻³
Chl _a	leaf chlorophyll content	µmol Chl m ⁻²
N _a	area-based leaf nitrogen	mg N m ⁻²
N	nitrogen content	%
C	carbon content	%
Ash	total ash content	%
Functional traits		
A _{satm}	mass based light saturated net assimilation rate	nmol CO ₂ g ⁻¹ s ⁻¹
A _{sat}	light saturated net CO ₂ assimilation rate	µmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹
A _{est}	daily carbon gain of the young leaf	µmol CO ₂ g ⁻¹ day ⁻¹
R _{atm}	CO ₂ production by non photorespiratory respiration	nmol CO ₂ g ⁻¹ s ⁻¹
LLS	leaf life span	days
PBT	payback time for the construction cost of the leaf	days
PBT _{met}	payback time taking for the construction cost of the whole metamer	days
<i>b</i>	leaf age at which photosynthesis rates approach nil values	days
L _{opt}	optimum leaf longevity	days
L _{optmet}	optimum leaf longevity based on the construction cost of the metamer	days

Introduction

Shade tolerance in trees is frequently defined as the ability to survive under low irradiance (Givnish 1988; Messier et al. 1999; Walters and Reich 1999). This is thought to be achieved by the maintenance of a positive carbon balance between assimilation (through photosynthesis) and losses (through respiration) for construction and maintenance of assimilating organs even under low levels of irradiance. Cost/benefit analyses may be very useful to quantitatively test this hypothesis. Shade tolerant species should:

- (i) display adaptations allowing them to maximise the benefit/cost ratio despite the low irradiance available for photosynthesis; this may be reached either by limiting the costs for the deployment of leaf area, or by maximising the life span of the assimilating leaf area;
- (ii) display a large phenotypic plasticity of these traits that could allow to reduce the costs and/or increase life span of the assimilating organs when the individuals are grown under low irradiance.

Such hypotheses have been formulated a number of times but only little experimental evidence has yet been provided despite the wealth of literature on the subject.

Cost/benefits analyses have been used implicitly to drive a global scale analysis of leaf traits among species (Wright et al. 2004). This analysis revealed a fundamental trade-off between leaf life span and photosynthetic capacity in leaves. Species with long lived leaves usually display also low photosynthetic capacities, and therefore a limited investment of N in photosynthesis (Reich et al. 1992; Wright et al. 2005). This interesting framework nevertheless did not take into account the plasticity of leaf traits. Leaves in particular may acclimate to low levels of irradiance which could possibly lead to a larger intrinsic level of shade tolerance in shade- than in sun-acclimated phenotypes. A large plasticity has been evidenced for many leaf traits related to carbon assimilation (Coste et al. *in prep*; Givnish 1988; Rozendaal et al. 2006; Valladares et al. 2000), and it is therefore very important to assess to what extent a similar plasticity could affect the cost/benefit relationships of trees under low irradiance. The plasticity of traits like construction costs or leaf life span is much less documented than in the case of traits related to photosynthesis (Barthod and Epron 2005; Barthod and Epron *in prep.*; Poorter et al. 2006; Reich et al. 2004; Vincent 2006).

The cost/benefit approach is based on: (i) the estimation of the carbon (glucose) spent to build up a leaf (construction cost, CC); (ii) the estimation of the time required for the leaf to become a net producer of carbon for the rest of the plant (payback time, PBT) (Poorter 1994; Poorter et al. 2006; Williams et al. 1989). PBT may be compared to the actual leaf life span (LLS) to infer the potential carbon gain over leaf life and test the hypothesis that enhanced CC and/or long PBT are paralleled by longer LLS (Chabot and Hicks 1982; Kikuzawa 1991; Mooney and Gulmon 1982; Sobrado 1991; Williams et al. 1989). Leaf life span and in general leaf demography are severely constrained by seasonality (Reich et al. 2004 and references therein), while in forests exposed to a very small seasonal changes like in French Guiana, a large span of values may be expected among species. LLS of tropical rain forest trees is known to greatly vary among species and irradiance levels, being larger in shade grown individuals and in species from nutrient-poor habitats (Reich et al. 2004; Vincent 2006).

Leaf tissues require a variable amount of energy for their deployment depending on composition and structure (Penning De Vries et al. 1974; Poorter 1994). Carbohydrates usually display a lower cost than reduced compounds like lipids, lignins and soluble phenols (Poorter and Villar 1997). As a consequence, CC_m is expected to be larger in sclerophyllous than mesophyllous leaves. CC_m is often lower in shade than in sun-exposed leaves (Niinemets 1999; Williams et al. 1989) but an opposite trend was sometimes reported (Baruch et al. 2000; Sims and Pearcy 1994). Poorter et al. (2006) found 1 to 5% smaller CC_m in shade leaves of 23 species, due mainly to decreased level of soluble phenols. Nevertheless, the response of CC_m to irradiance may vary among species (Barthod and Epron 2005; Niinemets 1999).

The cost/benefit should not solely base on leaf lamina with photosynthetic tissues, but also integrate the cost of support tissues (petioles, branches) that are required to allow the full expansion of leaf area and its exposure to irradiance (Barthod and Epron 2005). Small differences in CC_m may lead to large differences of CC reported to leaf area (CC_{1a}), as a consequence of large differences in leaf mass-to-area ratio. Such structural effects may even be larger for CC at twig level, because of changes in the ratio leaf area/supporting tissues. Only few studies addressed this question with quantitative data (but see, Barthod and Epron 2005; Barthod and Epron *in prep.*).

A quantitative cost/benefit analysis consists of estimating PBT of leaf and support tissues. PBT estimates are necessarily approximate due to uncertainties in estimating carbon assimilation over long periods (Poorter et al. 2006). Nevertheless, this approach demonstrated that usually PBT is largely smaller than LLS . Williams et al. (1989) mentioned an exception in a *Piper* shrub where

PBT was over 3000 d, and *LLS* only 800 d. *PBT* is usually less than half the values reached by *LLS* even at the lowest irradiance (Poorter et al. 2006).

A long *LLS* requires robust construction of leaves, efficient defense against herbivory and usually a large leaf mass-to-area ratio, *LMA* (Coley 1983; Reich et al. 1997; Westoby et al. 2002; Wright et al. 2004; Wright and Westoby 2002) but see (Vincent 2006). The negative relationship between net photosynthesis and *LLS* observed on a wide range of species from different ecosystems (Kikuzawa 1991; Reich et al. 1997) suggests that *LLS* is more closely contended by C gain than by CC_m (Villar and Merino 2001). Kikuzawa (1991; 1995) proposed a cost/benefit model in which an optimum leaf life span (L_{opt}) is computed not only from *PBT* (A_{sat} and CC) of the leaf but also from the decline in leaf photosynthesis with age. In Kikuzawa's model, a tree replaces leaves as to maximize its net carbon gain assuming that it can only retain a fixed number of leaves and that replacing an old leaf with a new one becomes justified when the current return of the old leaf falls below the expected rate of return of the new one (Westoby et al. 2002). This model is widely cited but, to our knowledge, quantitative applications to tropical evergreen trees are scarce. This may be due to the lack of data on the time-course of photosynthetic capacity with leaf age (Kitajima et al. 2002; Kitajima et al. 1997).

LLS not only widely differ among species in forests with a limited climatic seasonality, but it may also be subject to some degree of plasticity. Individuals or leaves growing in shade were found to often to display longer *LLS* (Miyaji et al. 1997; Reich et al. 2004; Vincent 2006).

Our aim was to document these aspects in saplings of a series of tropical rainforest species growing under different levels of irradiance, in order to produce an improved view of shade tolerance among these species. Tested species included pioneer species growing only in forest gaps, as well as species displaying a range of shade tolerance levels according to current phytoecological observations.

Following working hypotheses were tested:

1. CC of leaves and supporting tissues, scaled to leaf area, are smaller in pioneer species with short-lived leaves than in shade tolerant species;
2. CC of leaves and supporting tissues, scaled to leaf area, are smaller in individuals grown under shade and all species exhibit a similar plasticity;

3. there is a tight correlation between CC of leaves and supporting tissues, scaled to leaf area and payback time and between payback time and leaf life span;
4. specific CC play only a minor role in PBT of leaves and supporting tissues, that is mainly controlled by the relationships between the mass of leaves and supporting organs and the expanded leaf area;
5. leaf life span differs among species and acclimates to shade.

We tested these hypotheses by growing seedlings from 13 species of the Tropical Rainforest of French Guiana under three levels of shade (5, 10 and 20% of full irradiance) and by recording CC of leaves and estimating PBT with a simple photosynthesis model based on measured net CO_2 assimilation rates under saturating irradiance. Leaf life span (LLS) was recorded by monitoring leaf formation and shedding over 26 months in cohorts of leaves on several saplings per species and treatment.

Material and methods

Plant material

Saplings of 13 tree species from the tropical rainforest of French Guiana were grown from December 2003 to July 2006 in Kourou French Guiana, South America (5°10'N, 52°40'W) in an open greenhouse under three different irradiance regimes provided by shading nets. The range of species encompassed light requiring pioneers and species with varying levels of shade tolerance (Table 1). Saplings were grown from seed or from young seedlings collected from March to July 2003 in forests around Kourou, and planted in 30L pots with a 1/2, v/v, mix of sand and A horizon soil from a nearby forest. All saplings were fertilized during July 2004, with 40 g slow release Multicote 4 (N/P/K, 17/17/17), and sprayed with a systemic insecticide (Lannate, Du Pont de Nemours, France) and whenever required, with a contact insecticide (Endosulfan) and a fungicide (Ortiva, Syngenta, Belgium). The saplings were irrigated daily with drip irrigation to maintain volumetric soil humidity between 20 and 32%. Three contiguous 5 x 12.5m large plots corresponded to the three irradiance treatments t_5 , t_{10} and t_{20} . The saplings were distributed over 2x3 lines of 25 plants per plot, each line containing at least 1 individual per species at random positions. Distances were 40 cm on the lines and between two adjacent lines, three successive pairs of lines being separated by a 1m alley.

Irradiance above the saplings was recorded during two, 3 d long measurement campaigns with 36 intercalibrated quantum sensors (PAR CBE 80 Solems, Palaiseau, France) distributed on a regular grid, and compared to an external quantum sensor. Transmittance below the nets was mapped and a slight gradient was detected parallel to the lines (see Table 2 for extreme values). Mean transmittance values were 5, 9 and 20% in the PAR for treatments t_5 , t_{10} and t_{20} , respectively (Table 2). Air temperature and relative humidity of the air below the nets were recorded continuously during three periods of several weeks with 2 HMP 45 sensors (Campbell Scientific, UK) located in the middle of plots t_5 and t_{20} . Values below the nets were very close to values in the open and among treatments (daily mean temperature: 29.1°C (min/max: 23.9/33.3 °C), daily mean RF: 72.6 % (min/max 61/92 %). Soil temperature recorded with 3 sensors (Campbell Scientific, UK) placed in a single pot of each plot displayed mean values of 24.7°C (min/max 21.4/30.6 °C) during days and 24.4°C (min/max 21.7/28.3 °C) during nights.

The relative growth rate (RGR, $\text{cm cm}^{-1} \text{ years}^{-1}$) of each individual was calculated from main stem length as

$$RGR = [(\ln H_{t2} - \ln H_{t1}) / (t2 - t1)] \times 12 \quad (1)$$

where H_{t1} and H_{t2} are the height (cm) at start ($t1$) and end ($t2$) of experiment and time is measured in months.

All functional traits were estimated on 10 individuals per species and treatment.

Estimation of Construction costs

Metamers were harvested on the primary growth axis, each including a stem internode, a single mature leaves and petioles (or rachis for compound leaves). In *Bagassa guianensis* and *Symphonia globulifera* the two leaves attached to each node were harvested. The number of harvested metamers depended on their size and species (between 1 to 6 metamer according to species, up to 20 for *H. courbaril*). Leaf lamina thickness (μm) was estimated as the mean of six measurements with a digital micrometer (Digimatic micrometer, Mitutoyo, Japan), care being taken to avoid the main veins. Leaf lamina area (cm^2) was recorded with a portable diode-array planimeter LiCor 3000A (LiCor Inc, Lincoln, Nebraska). Samples were dried at 60°C (48h for leaf lamina and variable durations for stem and petiole) and we computed leaf mass-to-area ratio (LMA , $\text{g}_{\text{DW}} \text{m}^{-2}$), leaf density ($LMA/\text{thickness}$, g cm^{-3}), petiole mass scaled to leaf area (PM_A , $\text{g}_{\text{DW}} \text{m}^{-2}$), stem mass scaled to leaf area (SM_A , $\text{g}_{\text{DW}} \text{m}^{-2}$) and whole metamer mass scaled to leaf area (MM_A , $\text{g}_{\text{DW}} \text{m}^{-2}$). Total nitrogen (N_m , $\text{mg}_N \text{g}^{-1}$) and carbon content (C_m , $\text{mg}_C \text{g}^{-1}$) were measured with an elemental analyser (ThermoQuest NA 1500 NCS, Carlo Erba, Italy) on homogenized powder from each compartment. Ash content was measured after combustion in a muffle furnace at 550°C for 3H.

Specific construction costs were calculated from carbon content following (Vertregt and Penning de Vries (1987) modified by Poorter (1994)):

$$CC_m = [-1.04 + 5.077C_m / (1 - Min)] \times (1 - Min) + 5.325 \times N_{\text{org}} \quad (2)$$

where CC_m is the specific construction cost ($\text{g}_{\text{glucose}} \text{g}^{-1}_{\text{DW}}$), C_m is the total carbon content ($\text{g g}^{-1}_{\text{DW}}$), Min is the mineral concentration and N_{org} is the organic nitrogen content ($\text{g g}^{-1}_{\text{DW}}$). An additional cost for nitrate reduction in non-photosynthetic tissues was taken into account ($5.325 \times N_{\text{org}}$). Min

and N_{org} were approximated respectively by ash (Ash , g g^{-1}) and total nitrogen content (N_m , g g^{-1}) leading to equation 3:

$$CC_m = [-1.04 + 5.077C_m/(1 - Ash)] \times (1 - Ash) + 5.325 \times N_m \quad (3)$$

This computation assumes all nitrogen is absorbed as nitrate. Specific construction cost was estimated for leaves, petioles and stems (respectively CC_{Lm} , CC_{Pm} and CC_{Sm} , $\text{g}_{\text{glucose}} \text{g}^{-1}$); a leaf-area-specific CC was also computed (CC_{La} , $\text{g}_{\text{glucose}} \text{m}^{-2}$).

Construction cost of the metamer, scaled to leaf area, was computed as:

$$CC_{\text{met a}} = (SMA \times CC_{Sm}) + (PMA \times CC_{Pm}) + (LMA \times CC_{Lm}) \quad (4)$$

$$CC_{\text{met m}} = (bm_S \times CC_{Sm}) + (bm_P \times CC_{Pm}) + (bm_L \times CC_{Lm}) / (bm_S + bm_P + bm_L) \quad (5)$$

where CC_{Sm} , CC_{Pm} and CC_{Lm} are respectively the specific construction costs of stem, petiole (or rachis) and leaf lamina ($\text{g}_{\text{glucose}} \text{g}_{\text{DW}}^{-1}$); SMA , PMA and LMA are the ratio of stem, petiole and leaf mass reported to the leaf area of the metamer ($\text{g}_{\text{DWorgan}} \text{m}^{-2}$ expanded leaf) and bm_S , bm_P and bm_L are respectively the biomass of stem, petiole and lamina ($\text{g}_{\text{DWorgan}}$).

Estimation of leaf life span

LLS was estimated from the mean time between development and shedding of a cohort of leaves on the main axis. The youngest leaf on the main axis was labelled on March 11, 2004 and leaf production was monitored every second week till July 28, 2004, when the latest developed leaf was marked. The fate of the cohort of leaves defined within this interval was recorded during 21 months (18 censuses). LLS was computed as the area between leaf-production and leaf-shedding curves divided by the number of leaves (Figure 1, for details see also Navas et al. 2003). Unfortunately, leaf shedding was not complete on several species at the end of the experiment, and LLS was estimated using following procedures:

- (1) when less than half of the leaf the cohort was shed at the end of the experiment, LLS of the individual was estimated to be >780 days;
- (2) when more than the half the cohort was shed, LLS was computed only for the shed leaves with the assumption “first developed – first shed”.

LLS was derived from the median value and not the mean for the different treatment x species combinations.

Light-saturated net CO₂ assimilation rates

Light saturated net CO₂ assimilation rate (A_{sat} , $\mu\text{mol}_{\text{CO}_2} \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) was measured at regular intervals on the leaves marked on March 11, 2004. A portable photosynthesis chamber (CIRAS-1, PP-System, Hitchin, UK with a 2.5 cm² Parkinson leaf-clamp chamber) was used. Measurements were made under the following environmental conditions: CO₂ = $380 \pm 3.7 \mu\text{mol mol}^{-1}$, PPFD $700 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, air temperature, $31 \pm 1.7 \text{ }^\circ\text{C}$ and vapour pressure deficit in the chamber, $1.5 \pm 0.4 \text{ kPa}$. A_{sat} measurements were repeated 3 or 4 times depending on species during May 2004; September-November 2004, January-March 2005 (only for *Cecropia obtusa* and *Bagassa guianensis*), April-June 2005 and May 2006 (for 6 species: *Eperua falcata*, *Pradosia cochlearia*, *Protium opacum*, *Symphonia globulifera*, *Sextonia rubra* and *Voucapoua americana*).

Daily CO₂ gain

To estimate daily net CO₂ gain, we used a simple model based on irradiance responses of gross CO₂ assimilation:

$$A = \left(\frac{\phi I + (A_{\text{sat}} + R_d) - \sqrt{\{(\phi I + (A_{\text{sat}} + R_d))^2 - 4\theta\phi(A_{\text{sat}} + R_d)I\}}}{2\theta} \right) - R_d \quad (6)$$

with ϕ , the apparent quantum yield; I , the irradiance; A_{sat} , the light-saturated net CO₂ assimilation rate; θ , the curvature of the non rectangular hyperbola; R_d , respiration, assumed to be $0.07A_{\text{sat}}$.

Light response curves (data not shown) were used to compute a mean values (\pm CI) of $0.048 \pm 0.003 \text{ mol}_C \text{ mol}^{-1}_{\text{photons}}$ for ϕ and 0.797 ± 0.033 for θ . We used common values of ϕ ($0.05 \text{ mol}_C \text{ mol}^{-1}_{\text{photons}}$) and θ (0.80) for all species.

Irradiance measured in the different treatments during 3 days of September 2004 (12 sensors per treatment) was used to computed a mean daily irradiance curve at a 15 mn pace in the different treatments. Due to the remarkable seasonal stability of circadian rhythms of temperature irradiance at Kourou, a typical day was reconstructed form this mean irradiance curve, with a

constant temperature of 30°C and a 12/12 h/h day/night alternation. Equation 6 was therefore used with the common parameters ϕ and θ , and individual values of A_{sat} , to compute net CO₂ assimilation over 15 min steps (A_{15}).

The daily carbon gain for young, fully expanded leaves (A_{est} , $\mu\text{mol g}^{-1} \text{day}^{-1}$) was estimated for each individual as the sum of all A_{15} values minus the night time respiration assumed to be 0.07 A_{sat} . A_{est} was reported to leaf mass, or to metamer mass depending on the calculation.

Estimation of Payback time

Payback time (*PBT*, days) was computed as the ratio of *CC* vs. daily carbon gain (Poorter et al. 2006) as:

$$PBT = [CC \times (72 / 180)] / (A_{\text{est}} \times 12) \quad (7)$$

where 72/180 is the ratio of molar weight of glucose and carbon in glucose and 12 is the molar weight of carbon.

Estimation of optimal leaf longevity

We computed the “optimum leaf longevity” (L_{opt} , Kikuzawa 1991; Kikuzawa 1995; Kikuzawa and Ackerly 1999) that maximizes average carbon gain by a tree under the assumption that a leaves are replaced when their marginal carbon gain begins to decline as:

$$L_{\text{opt}} = [(2b \times (CC \times 72/180)) / A_{\text{est}} \times 12]^{0.5} \quad (8)$$

with: A_{est} , the daily net CO₂ assimilation of young leaves; b , time when A_{est} declines to nil.

To estimate b , we used the time course of A_{sat} that displayed as expected a severe decline with time (see Figure 2 for an example). We assumed that the decline was linear and that A_{sat} was a stable fraction of A_{est} , i.e., their time courses were homothetic and displayed the same intercept b .

PBT and L_{opt} were computed for the leaf lamina, but also for the whole metamer (PBT_{met} and $L_{\text{opt}_{\text{met}}}$).

Statistical analysis

All statistical analyses were performed with STATISTICA (Kernel Version 7.0, StatSoft, Tulsa, OK, USA). Data were log-transformed when required to respect the conditions for data normality and variance homogeneity. Differences among species, irradiance levels and their interactions were analyzed by a two-way ANOVA using a full factorial design. All regressions and PCA were applied on the computed mean values of variables for each species in each irradiance level. To test whether species rankings obtained for the different irradiance treatments were comparable for all studied traits, Spearman's rank coefficients were computed. A sensibility analysis was used to identify the main source of variation of PBT , PBT_{met} , $Lopt$ and $Lopt_{met}$ at a given irradiance level (t_{20}) and among treatments: a variance analysis was used with log-transformed variables, and allowed to express the cumulative influence of each component on the final variable. The total variability was decomposed into inter- and intraspecific variance. Each component of the total variance was calculated, and its relative contribution to the total variance was examined (Jaouen et al. 2007). LLS was assessed by the median and not by the mean, and a value ">780d." was attributed to species for which LLS exceeded experimentation duration. Consequently linear regression and PCA were only applied to median value of LLS of the 10 species at t_{20} which was the only irradiance that allowed compute median values of LLS for almost all species. Differences were considered significant at $P < 0.05$.

Results

Variability of construction costs and structural traits

There were significant differences in C, N and ash contents among organs (leaf lamina, petioles and stems, Figure 3). Stems and petioles displayed smaller N and C contents than leaf lamina, and stems smaller ash contents than leaf lamina and petioles. As a result, specific construction cost (CC_m) was larger in leaf lamina (mean \pm C.I.: $1.48 \pm 0.01 \text{ g}_{\text{glucose}} \text{ g}^{-1}$), followed by petioles (1.33 ± 0.01) and stems (1.29 ± 0.01). We tested the impact of secondary growth on CC_m of stems in *Cecropia obtusa* and *Bagassa guianensis* and found that older stem segments displayed slightly larger values than the distal ones (Suppl. Figure 1).

CC_m varied largely among the 13 species in the three compartments due to large differences in C, N and ash contents (Table 3, Suppl. Figure 2). $CC_{L,m}$ (for leaf lamina) ranged from 1.36 ± 0.03 to $1.63 \pm 0.03 \text{ g}_{\text{glucose}} \text{ g}^{-1}$ among species under the highest relative irradiance (t_{20}). Lowest values (in particular for petioles) were exhibited by the two pioneers *C. obtusa* and *B. guianensis* (Figure 4). As a consequence, construction cost of the metamer ($CC_{\text{met},m}$) also differed significantly among the species, ranging from 1.25 to $1.55 \text{ g}_{\text{glucose}} \text{ g}^{-1}$. As expected from the large diversity in leaf forms among species, structural traits differed also to a large extent among species. Leaf mass-to-area ratio (LMA) varied three-fold in t_{20} (38.2 to 119.3 g m^{-2} , Table 3 and Figure 4). The largest interspecific difference was observed for individual leaf area which ranged from 27 to 1447 cm^2 across species (Table 3). A large diversity was also observed for petiole mass-to-leaf area ratio (PMA) and for stem (internode) mass-to-leaf area ratio (SMA), despite a high intraspecific variability (Figure 4). No relationship could be detected between $CC_{L,m}$ and CC of support structure (except a weak correlation at t_5 between $CC_{L,m}$ and $CC_{S,m}$, Table 4.) whereas $CC_{S,m}$ and $CC_{L,m}$ were strongly and positively correlated (Table 4). Despite its large variability, mean leaf area was not correlated to other morphological characteristics (except a slight correlation with PMA at t_{20}). When scaled to the leaf area, construction costs displayed a large inter-specific variability with values ranging from $52.5 \pm 5.3 \text{ g}_{\text{glucose}} \text{ m}^{-2}$ (*B. guianensis*) to 183.1 ± 28.4 (*Pouteria sp.*) for the leaf lamina ($CC_{L,a}$), and from 127.5 ± 25.9 (*B. guianensis*) to $416.4 \pm 93.4 \text{ g}_{\text{glucose}} \text{ g}^{-1}$ (*P. cochlearia*) for the whole metamer ($CC_{\text{met},a}$, Figure 5). $CC_{L,a}$ was mainly influenced by LMA as confirmed by the lack of correlation with $CC_{L,m}$. In the same way, $CC_{\text{met},a}$ was strongly correlated to LMA and SMA but not to $CC_{\text{met},m}$ (Table 4).

We found a significant effect of relative irradiance on all variables. As indicated by their F values, the variability induced on structural parameters by the rather small differences in relative irradiance (grossly from 5 to 20%) was larger than the interspecific diversity for MMA , LMA , SMA and Chl_a . MMA , PMA , SMA , LMA and the two components of the latter (thickness and density) increased significantly with irradiance. $CC_{L,m}$, $CC_{P,m}$ and $CC_{S,m}$ increased slightly with relative irradiance (Table 3) but with large differences among species that make it difficult to identify a clear pattern in irradiance elicited-plasticity; for instance, in *B. guianensis*, $CC_{L,m}$ was 1.45 ± 5.3 in t_5 and $1.37 \pm 0.08 \text{ g}_{\text{glucose}} \text{ g}^{-1}$ in t_{20} ; in *V. americana* it was 1.63 ± 0.06 under both levels of irradiance. Combining structural parameters and specific construction costs resulted in large increases of $CC_{L,a}$, $CC_{met,a}$ (and $CC_{met,m}$) with irradiance in all species (Table 3 and Figure 5).

The degree of plasticity differed to a large extent among species and depended on the considered variable. Excepted for $CC_{met,m}$, Spearman's rank correlation between t_5 and t_{20} was always highly significant (Table 4); the lowest values were reached for stems; nevertheless, significant interactions were detected for many variables, which indicates that the degree of plasticity varied significantly among species.

Variability of photosynthetic capacity

Species means for area-based or mass-based net CO_2 assimilation rate under saturating irradiance ($A_{\text{sat},a}$ and $A_{\text{sat},m}$) ranged from 3.8 to $10.9 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ and from 72.9 to $184 \text{ nmol g}^{-1} \text{ s}^{-1}$ across species under the highest irradiance level. Highest values for the latter were found in *H. courbaril*, *B. guianensis* and *C. obtusa* and lowest in *Pouteria sp.* and *P. cochlearia*. $A_{\text{sat},a}$ increased significantly with irradiance (Table 5, Figure 6) while $A_{\text{sat},m}$ was only little affected and slightly decreased with irradiance (Table 5). The effect of relative irradiance on photosynthetic capacities was not linear and even if the ranking of species was maintained between t_5 and t_{20} , the degree of plasticity differed significantly among species.

$A_{\text{sat},m}$ was negatively correlated to LMA in each treatment, but not to leaf thickness or density (Table 6). Leaf density and thickness were negatively correlated and the relationship was not affected by irradiance level: as a matter of fact, LMA was largely independent of leaf thickness and leaf density (Suppl. Figure 3). No correlation was found between $A_{\text{sat},m}$ and CC , except a negative relationship with $CC_{P,m}$ at t_{10} and $CC_{S,m}$ at t_5 . Mass-based photosynthetic capacities increased with N_m whatever the irradiance level (Table 6).

A_{sat} declined with time, and dropped rapidly to almost nil at a pace that was severely depending on species and irradiance level (see example in Figure 2). As a result, the estimated time when A_{sat} was expected to decline to nil (b) varied significantly with species and irradiance. Extreme values were 186 and 233 days for *B. guianensis* and 850 and 916 for *V. americana* under t_{20} and t_5 , respectively (Figure 6). These values clearly demonstrate the large plasticity of this parameter. As a direct consequence of the variability in $A_{\text{sat}}m$, the estimated initial daily photosynthetic rate of young leaves A_{est} ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ d}^{-1}$) was severely affected by irradiance levels and displayed an important inter-specific diversity (Table 5).

Variability of payback time

The estimate of the payback time for leaf lamina (PBT) and for metamers (PBT_{met} , days) displayed a large interspecific diversity and an even larger plasticity with relative irradiance. As expected, PBT and PBT_{met} declined severely with increasing irradiance (Table 5) and displayed a large inter-specific diversity whatever the irradiance treatment (Figure 6): in t_{20} , smallest values were found for PBT_{met} in *B. guianensis* (26.2 ± 9.4 days) and largest in *P. cochlearia* (81.5 ± 14.7 days). Significant interactions between species and relative irradiance were found for PBT and PBT_{met} and Spearman' r was significant only for the latter, showing that the ranking of species was not fully maintained when comparing the highest and lowest relative irradiance treatments. A sensitivity analysis showed that around 90% of the variance observed in t_{20} and among irradiance for PBT and PBT_{met} was explained by LMA (Table 7).

Estimation of $Lopt$

The ‘‘optimal leaf longevity’’ computed from construction costs of the leaf lamina, $Lopt$, greatly varied across species (Table 5, Figure 6) and ranged from 64 (*B. guianensis*) to 208 days (*V. americana*) under t_{20} . $Lopt$, was as expected much longer than PBT . $Lopt$, also displayed a large plasticity with irradiance, being much smaller under highest irradiance (Table 5 and Figure 6). Positive correlations were found between PBT and $Lopt$ whatever the irradiance level (Table 6). Similar observations apply to $Lopt_{\text{met}}$ (computed from CC of the whole metamer) with the difference that as expected, values taken by the latter were larger; ranging from 97 (*B. guianensis*) to 257 days (*Ponteria sp*) in t_{20} . $Lopt_{\text{met}}$ increased with LMA , whatever irradiance level, and was negatively correlated to $A_{\text{sat}}m$ and to $CC_{\text{met}}a$ whereas no correlation was detected with $A_{\text{sat}}m$ and $CC_{\text{met}}m$ (Table 6). The main contributor of the variability of $Lopt$ and $Lopt_{\text{met}}$ was b (and LMA to a lesser extent), both at t_{20} and among irradiance levels (Table 7).

Variability in leaf life span (LLS)

In many of the monitored leaf cohorts, only a small fraction of the leaves were shed at the end of the experiment, which complicated the estimation of leaf life span (LLS), and made us use median values rather than means for treatment x species, as displayed in Figure 6. Under the lowest relative irradiance, LLS was longer than 800 days in 10 of the species, and exceeded largely the duration of our experiment. LLS significantly decreased when relative irradiance increased. In the two pioneers (*Bagassa guianensis* and *Cecropia obtusa*) LLS remained below 200 days whatever the relative irradiance level. In the meanwhile, none of the leaves of the heliophilic *C. procer*, of the shade-tolerant *Pouteria* sp. and *V. americana* were shed after 780 days. Among the 13 species, 3 did not shed any leaf in t_{20} , 7 in t_{10} and 10 in t_5 . This observation, added to the decrease of LLS with increasing irradiance in *B. guianensis*, *C. obtusa* and *T. melinonii* supports the hypothesis that LLS decreased when irradiance increased. As expected, L_{opt} and LLS were tightly correlated (Table 6). L_{opt} was largely smaller than LLS (Figure 6). No relationship was detected between LLS and CC_{met} although it increased with CC of support structure at t_{20} .

For the ten species for which LLS was completely estimated, a principal component analysis was applied to the variables LMA, leaf thickness, leaf density, N_m , $A_{sat,m}$, $CC_{L,m}$ and LLS in t_{20} , with PBT, L_{opt} and RGR as supplementary variables (Figure 7). The first two axes explained 81 % (49% with the first axe) of the observed variability. The main contributors to the first principal axis were N_m , LMA and $A_{sat,m}$ (with factor coordinates -0.95, 0.92 and -0.88 respectively). The main contributors to the second axis were leaf thickness, leaf density and $CC_{L,m}$ (with factor coordinates 0.89, -0.80 and -0.72 respectively). This PCA confirmed the lack of relationship between $A_{sat,m}$ and $CC_{L,m}$ (Table 6) and the negative correlation observed between leaf density and thickness (Suppl. Figure 3). A second PCA was applied to the same variables scaled to metamer level: MMA, total N content of the metamer ($N_{met,m}$; $g_N g^{-1}$), $CC_{met,m}$, LLS and $A_{sat,m}$ with PBT_{met} , $L_{opt,met}$ and RGR as supplementary variables. The first two axes explained 72 % (45% with the first axe) of the observed variability. The main contributors to the first principal axis were LLS and $A_{sat,m}$ (with factor coordinates -0.95 and 0.83 respectively). The main contributors to the second axis were $CC_{met,m}$ and MMA (with factor coordinates -0.81 and 0.70 respectively). This second PCA confirmed the general trends pointed by variables at leaf level. The distribution of species on the factor plane (1 x 2) did not yield clear clusters, although the two pioneer species were clearly distinguished from the others species (Figure 7) by low LLS, L_{opt} and PBT associated to high $A_{sat,m}$ and relatively low CC_m , LMA and MMA.

Discussion

Variability of construction cost of a metamer

The cost for deploying a given leaf area depends: (i) on the specific construction cost of the leaf, (ii) on the cost of the support structure, and (iii) on dimensional properties like leaf mass-to-area ratio or supporting biomass to leaf area ratio.

- Specific construction costs (CC_m) were computed assuming all N in the organs to originate from nitrate assimilation and reduction in non photosynthetic tissues. The very simple procedure we used here based on C, N and ash content, was validated several times in a large range of species (Barthod and Epron 2005; Barthod and Epron *in prep.*; Navas et al. 2003; Niinemets 1999; Poorter et al. 2006). The values produced are therefore probably at the higher range of likely values. These species are known to rely both on soil nitrate and ammonium, and were fertilized with a balance of the two N forms. CC_m was highest in leaf lamina as compared to petioles and stems, which confirms earlier results (Poorter 1994; Poorter and Villar 1997). In general, the values estimated here were close to those reported by Poorter and Villar (1997) in a compilation of data.

Interspecific diversity: CC_m for leaf lamina varied $\pm 9\%$ around the mean among species under a given level of irradiance. In the case of petioles, the large diversity observed for $CC_{p,m}$ was mainly due to the very low values recorded for the two pioneers *C. obtusa* and *B. gnianensis*. Petioles of these species were characterized by very low C content (<40%) associated to high mineral content (Ash >10%). Interspecific diversity of $CC_{s,m}$ was the less pronounced. Anyway, the large variation in CC suggests a large variation in the biochemical composition and several compound probably induced observed difference (Poorter and Villar 1997). Amounts of lignin and minerals were frequently evoked as the main factors influencing leaf CC (Barthod and Epron 2005; Gary et al. 1998; Niinemets 1997a). CC_m of support structures (petiole and stem) were positively correlated whereas no clear relationship was detected with CC_m of leaf lamina and CC of the whole metamer ($CC_{met,m}$).

Phenotypic Plasticity: Irradiance elicited-plasticity was much smaller than interspecific diversity and effects of relative irradiance on CC_m differed among species. The general trend was a moderate increase with irradiance, or stability depending on species. These observations contradict partly earlier findings evidencing slight increases of construction cost with increasing irradiance

reported by Poorter et al. (2006), the reported increases were usually small (less than 10% between extreme values) but consistent. The discrepancy with earlier data was possibly due to 2 factors: (i). we used a much smaller irradiance gradient than earlier authors; (ii) our computation integrated leaf N content (a supplementary cost for nitrate reduction) which strongly decreased with increasing irradiance. However, leaf N content was reported to poorly contribute to the variability of CC_m (Villar and Merino 2001). Furthermore, if earlier works reported relatively little variation of N_m along light gradients (Ellsworth and Reich 1993; Niinemets 1997b; Niinemets and Kull 1998) our results confirm observations with co-occurring species in French Guiana rain forest (Roggy et al. 2005). Many studies suggest that irradiance does not affect CC_m of all species (Barthod and Epron 2005; Niinemets 1999; Williams et al. 1989). Different leaf compounds are responsible for the changes in CC_m along the irradiance gradients. Lignin concentrations increase with increasing irradiance at the expense of cellulose and hemicelluloses (Niinemets and Kull 1998), given that lignin is carbon-rich in comparison with cell-wall polysaccharides (Niinemets 1999), enhanced lignin could increase CC_m . Non-structural carbohydrates might also contribute to the variability of leaf CC_m (Griffin et al. 1996; Poorter and Villar 1997). Thus, different chemical composition might result in similar leaf CC , making leaf CC insensitive to differences in relative irradiance, as was observed in our study for some species (Chapin III 1989; Poorter and Villar 1997). This effect of relative irradiance on CC_m of the whole metamer ($CC_{met,m}$), on the other hand, was more pronounced and $CC_{met,m}$ significantly increased with relative irradiance.

- Construction costs scaled to leaf area. When scaled to leaf area, CC of leaf lamina indeed displayed a large diversity and plasticity; they increased dramatically with relative irradiance. This effect was expected due to the large plasticity in leaf mass-to-area ratio that occurs in response to changing irradiance (Barthod and Epron 2005; Givnish 1988; Kitajima 1994; Rozendaal et al. 2006; Valladares et al. 2000). As expected, LMA and its two components, leaf thickness and density, strongly varied among species. There has been some debate about the best way to estimate the cost to develop a given assimilating leaf area. The real cost indeed should incorporate the supporting structure. However such estimations remain uncomplete due to the lack of information about costs associated to production of a metamer at whole plant scale, like secondary growth or root elongation. The energy requirement to produce a metamer strongly varied among the 13 species of tropical trees. Such differences could be imputed to either biochemical differences (organs construction costs, $CC_{l,m}$, $CC_{p,m}$ and $CC_{s,m}$) or morphological (LMA , PMA and SMA) as we discuss it below.

Interspecific diversity: As for *LMA*, morphological traits like petiole-mass to leaf-area (*PMA*) and stem-mass to leaf-area (*SMA*) widely varied among our species. The largest differences were observed for *PMA* which varied between 3.4 and 41.2 g m⁻² among species under t_{20} , independently of leaf form (simple or compound). Similarly, there was a large interspecific variability in *SMA* (from 12.1 to 211 g m⁻²). Estimates of *SMA* may heavily vary depending on the scale considered. One relevant scale would be to compare whole shoot leaf area with total stem and branch biomass. We chose a simpler approach based on the structure of a metamer comprising the leaf (or a pair of leaves) and the stem or branch section supporting it. No clear relationship was identified between *LMA*, *PMA* and *SMA*. Particularly we noted that leaf size was not related to other structural traits or to CC_m whereas many authors have suggested relationships between leaf size and the biomass invested to deploy the leaf area (Pickup et al. 2005, and references therein).

Barthod and Epron (*in prep.*) found that there was no correlation between *CC* of the current-year shoot and CC_{1a} despite a large interspecific variation in leaf *CC* and despite that leaves accounted for more than 70% of the biomass of current-year shoot. In the present study, leaves only represented 51 % (± 14 SD) of metamer biomass but $CC_{met a}$ and CC_{1a} were strongly correlated. In reality this strong relationship reflected that the two variables scaled positively with *LMA* (and *MMA* for $CC_{met a}$). In other words, variation of energetic requirement for leaf area deployment is controlled by variation of *LMA* (and *MMA*) confirming that leaf structure is more important than leaf CC_m for the plant C balance (Poorter et al. 2006; Villar and Merino 2001; Wright et al. 2004).

Phenotypic Plasticity: $CC_{met a}$ clearly increased with irradiance in all species, but this was mainly due to the high phenotypic plasticity observed for *LMA*, *PMA* and *SMA* (and thus for *MMA*) confirming the observations of Barthod and Epron (2005). Amplitude of response to irradiance significantly differed among species and if mean values observed at t_{20} were clearly higher than those observed at t_5 , the relationships between $CC_{met a}$ and irradiance level was not linear. The two pioneer species, *C. obtusa* and *B. guianensis*, displayed the lowest value of $CC_{met a}$ at t_5 and t_{10} but in t_{20} the shade tolerant *V. americana* displayed value than *C. obtusa*. Furthermore the two species exhibited a similar plasticity than shade tolerant ones.

Variability of Payback time for leaves and metamers (PBT)

The time required to assimilate the amount of C necessary for leaf construction, called the “Payback time” (Poorter 1994; Poorter et al. 2006; Williams et al. 1989), strongly differed between species and relative irradiance levels.

-Estimation of the payback-time. Our computation of the payback time relies on a number of approximations which is probably at the origin of an underestimation of leaf *PBT*. However, although *PBT* significantly increased when taking into account *CC* of the metamer (between 2 and 3-fold), it never exceeded 110 days and the ranking of species was not modified. However, computation of PBT_{met} was clearly incomplete due to the lack of data about assimilation and respiration of the support structure. Computation of PBT_{met} depends on estimates of CC_{met} and daily assimilation rate. The estimation of CC_{met} was largely discussed above. Daily photosynthetic rate (A_{est}) depends on daily irradiance, light saturated photosynthetic rate (A_{sat}), leaf respiration and parameters of the light response-curves. In the present study, many approximations were made. First, values of daily irradiance (I) was considered to be homogenous within a given irradiance level (t_5 , t_{10} or t_{20}) and over-shading was not taken into account, leading to a probable overestimation of A_{est} , particularly as leaves aged. Secondly, as we had not a complete data set of light-response curves for all the species x irradiance levels, we used similar values of ϕ (the apparent quantum yield) and θ (the curvature of the non rectangular hyperbola) for all species whatever the irradiance levels. Third, we decided to not use our R_d measurements (not precise enough) and estimated R_d as being 7% of A_{sat} . However we know that R_d displays a significant diversity among species and such approximation could lead to an over or an underestimation of the real respiration according to the species concerned. And finally, to consider that daily assimilation rates, assessed from mean irradiance of a sunny reference day, is similar each day should lead to an overestimation of the *PBT*.

Interspecific diversity. *PBT* significantly differed among tested species, ranging from 11 to 34 days at t_{20} . When *CC* of support structure is integrated into the computation (PBT_{met}), payback-time consistently increased for all species, whereas it never exceeded 110 days (*Amanoa guianensis* at t_5), and the ranking of species was not modified. In the two pioneer species, *PBT* never exceeded 40 days. Photosynthetic assimilation rates significantly differed among species, whether expressed on a mass or an area-basis as observed earlier (Coste et al. 2005) and scale with leaf N (Reich and Walters 1994; Reich et al. 1994; Wright et al. 2004). A strong and negative correlation was found between A_{sat} and *PBT* and to a lesser extent PBT_{met} , whereas no clear relationship was detected

between PBT and leaf CC , suggesting that, assimilation rate most strongly influenced PBT . A sensitivity analysis confirmed the limited impact of $CC_{L,m}$ on PBT while LMA and not the area-daily assimilation rate was the main source of variation. However, at metamer level, $CC_{met,m}$ and LMA explained proportionally the variability observed for PBT_{met} . The strong and negative correlation between $A_{sat,m}$ and LMA , observed on a broad scale (Wright et al. 2004) could explain partially the positive covariation observed between PBT and LMA .

Phenotypic Plasticity. PBT and PBT_{met} significantly increased at low irradiance. A sensitivity analysis revealed that the most important difference in PBT between leaves of low and high irradiance levels was the difference in LMA and that $CC_{L,m}$ had only marginal effects (Poorter et al. 2006) which was confirmed by our results. However, even under 5% of relative irradiance, PBT_{met} never exceeded 110 days. Phenotypic plasticity for PBT significantly differed among species, whereas the ranking of species remained stable. Pioneer species displayed similar levels of plasticity than understorey ones.

Variability of optimal (L_{opt}) and actual (LLS) leaf life span

- Leaf optimization theory. Kikuzawa (1991) constructed a model in which leaf longevity is set to maximize the net gain of a tree per unit time. The model is based on the assumption that a tree can only retain a limited number of leaves at a time (Kikuzawa 1991; Kikuzawa 1995). The model proposed that optimal leaf life span (L_{opt}) not only depends on PBT but also on the time when daily assimilation rates decline to nil (b). As for PBT , even when CC of support structure was included, $L_{opt,met}$ remained largely below LLS (ranging from 98 to 441 days). This model is widely cited but Givnish (2002) underlined several shortcomings, he believes that the investments in leaf biomass should not be abandoned until net marginal return drops to zero; moreover the model ignores the impact of the rate of production of new leaves (source of over-shading) on A_{sat} and b .

Interspecific diversity. As expected, L_{opt} significantly differed among species, ranging from 64 to 208 days and from 98 to 260 days when $CC_{met,m}$ were considered ($L_{opt,met}$). A tight and positive correlation was found between $L_{opt,met}$ and PBT_{met} and between $L_{opt,met}$ and b . A sensitivity analysis confirmed that b was the main source of variation of PBT and PBT_{met} among species. Values of b ranged from 186 to 850 days at t_{20} and the lowest values were recorded in the two pioneer species.

Phenotypic plasticity. L_{opt} and $L_{opt_{met}}$ were much larger under high than low irradiance. Time when the photosynthetic assimilation rate becomes nil, b strongly increased with irradiance, which mostly explained variability of the two parameters. Despite significant differences of phenotypic plasticity; the ranking of species was conserved among treatments. However, we noted that pioneer species displayed a lower plasticity for this trait and had the lowest value of L_{opt} and $L_{opt_{met}}$ whatever the irradiance level.

- Measured leaf life span. LLS represents the duration over which photosynthetic revenue is returned and consequently a long LLS is necessary to payback leaf CC where only low rates of photosynthesis are possible (Kikuzawa 1995; Williams et al. 1989). However, LLS is not always an easy trait to measure, particularly in the case of tropical trees species as was illustrated by the lack of data in comparison with literature on herbaceous plants or temperate trees (Diemer 1998; Ryser and Urbas 2000).

Interspecific diversity. In the present study we found that for many species, LLS was longer than the 26 months of experimentation. Despite the fact that we were not able to assess the mean LLS for all species, data clearly illustrated interspecific diversity of LLS . LLS never exceeded 200 days in the pioneers (*B. guianensis* and *C. obtusa*) while it ranged from 300 to more than 800 days in all other species. Reich et al. (2004) surveyed found median LLS ranged from 76 days (*Cecropia ficifolia*) to 1693 days (*Protium* spp.) in the range of 23 Amazonian adult tree species. Such a variability could be related to interspecific variability of rate of leaf production and growth rate; fast growing trees being expected to display smaller LLS . However we found no correlation between RGR and LLS . Anyway, leaf phenology and demography were essentially aseasonal in this tropical forest environment (Reich et al. 2004).

Despite the large variability of LLS among species and biomes (Chabot and Hicks 1982) a general trade-off exists between leaf traits that favour nutrient conservation (LLS and LMA) and those that favour a quick acquisition of resources (N_m , photosynthesis rate, respiration). Thus, high LMA species have been shown to achieve greater average LLS in a variety of habitats (Reich et al. 1997; Ryser and Urbas 2000; Westoby et al. 2002; Williams-Linera 2000). However, among the studied species, LLS was correlated neither to LMA nor to its two components leaf thickness and leaf density and, no element allowed us to establish a relation between a high LMA or a long LLS and a larger investment in leaf CC_m (which is supposed to enhance resistance to herbivory). However we found that LLS was longer for species exhibiting expensive support structure (i.e. high $CC_{p,m}$ and $CC_{s,m}$), suggesting that LLS should be long to pay back not only

the leaf but all the cost necessary to deploy the leaf. A slight negative correlation between A_{sat} and LLS was observed at t_{20} , confirming the hypothesis of a trade-off between high photosynthetic rates and maintenance of rates for a long period (Chabot and Hicks 1982; Kikuzawa 1991; Reich et al. 1991). Moreover, species for which LLS was estimated to be above 780 days were not systematically species which displayed lowest photosynthetic capacities.

Surprisingly, no correlation has been detected between the relative growth rate and assimilation rate under high irradiance. However, at t_5 , species displaying low LMA , short LLS and high A_{sat} had also a high relative growth rate confirming previous observations (Reich et al. 1997). Leaf longevity was considered primarily as a function of “payback time” for the cost of construction and maintenance of leaves (Chabot and Hicks 1982; Sobrado 1991; Williams et al. 1989) and leaf-support tissues (Kitajima et al. 1997) which was supported by the positive correlation between LLS and PBT . However such relationships between LLS and PBT are not systematic for the wide spectrum of species (Navas et al. 2003). LLS and PBT were not proportional to leaf CC , and the positive relationship between LLS and PBT was mainly due to differences in C gain (Villar and Merino 2001). Values of PBT_{met} were systematically largely smaller to LLS confirming that for all species the complete investment necessary to produce a new leaf is largely amortized. Anyway, all the sapling of species, including the two pioneer species, largely pay-back metamer investment, even under very low irradiance levels. In other words all the saplings seemed to be able to maintain a positive C gain over their life span and this trait did not allow to discriminate pioneer from shade tolerant species.

Phenotypic Plasticity: During the experiment, 23% of species did not lose leaves at t_{20} , 54% at t_{10} and 77% at t_5 confirming that LLS decreased with increasing irradiance (Niinemets 1997a; Reich et al. 2004; Vincent 2006). Longer LLS under low light is likely to be a consequence of slower ageing as a result of a slower photosynthetic metabolism (Vincent 2006). The plasticity of LLS was supposed to contribute to carbon gain efficiency under low light (Vincent 2006) as confirmed by the strong relationships observed between LLS et PBT . The pioneer species were not particularly different from other species by their phenotypic plasticity but rather by their position in the leaf economic spectrum as illustrated by the PCA.

- Comparison between $Lopt$ and LLS : Whatever the irradiance level, $Lopt_{\text{met}}$ (and $Lopt$) was largely smaller than LLS . From the computation of $Lopt$, it is predicted that leaf longevity should decrease with: (i) higher initial daily photosynthetic rate; (ii) lower CC and (iii) shorter b . Such predictions are in agreement with observed data in the literature survey.

We found that LLS was significantly increased when b increased as predicted by the model. This is consistent with previous study where the decline in leaf photosynthesis with age has been shown to be faster in species with short LLS (Kitajima et al. 2002; Kitajima et al. 1997). The relationships between A_{est} , CC and LLS have often been and a PCA confirm the general trade off between A_{est} and LLS , whereas CC_m varied independently. The predictions of the model were partially confirmed, and despite the strong correlation observed between LLS and $L_{opt,met}$, low values of $L_{opt,met}$ by comparison with measured LLS remains to explain. Why does a tree maintain its leaves even after C gain is no longer maximized? Indeed, the main assumption of the model is that an individual can only retain a finite number of leaves at time, but the long LLS (in comparison to computed L_{opt}) suggested that leaves are maintained until daily net photosynthetic rates drop to zero. In the present study, values of b were closer to those of LLS than those of L_{opt} .

Conclusions

Traits relative to leaf C economy strongly varied among studied species and irradiance levels. No clear trade-off was detected between construction cost of the metamer, leaf assimilation rate and measured leaf life span whereas this latter strongly differed among species and irradiance level. LLS and PBT_{met} were positively correlated, and all species largely payed back the cost to deployed leaf area whatever the irradiance level. A negative trade off was detected between LMA or LLS in one hand and photosynthetic capacities and leaf N content on the other. Construction costs, despite a significant variability, varied independently of this axis when expressed on a mass basis. The variability observed for CC , scaled to leaf area, was mainly due to structural adjustments and changes in the ratio biomass or organs over leaf area. All these traits displayed a large irradiance-elicited plasticity, but the species ranking was rather stable and only limited species-irradiance interactions could be detected. Differences observed between measured LLS and computed “optimal leaf longevity” suggested that leaves were maintained even after their marginal gain was no longer maximal and probably even after their daily assimilation rate dropped to zero. The pioneer species were not particularly different from other species with respect to their phenotypic plasticity but with respect to lower values of PBT and LLS than all other species. No clear ranking could be established for the non pioneer species.

Acknowledgments

S. Coste was supported by a PhD grant from the French government. Jacqueline Marchand (UMR EEF) made all carbon, nitrogen and ash analyses. Pascal Imbert, Saintano Dufort, Marcel Blaize, Jean-Louis De Kerpeztron and Henry Grootfaam helped throughout the experiment at Kourou. Jean-Yves Goret and Christopher Baraloto provided a precious help in the botanical identification of trees in the forest, for the choice and the growth of species. Useful discussions with Eric Marcon, Christopher Baraloto, Tancrède Alméras and François Morneau (UMR ECOFOG, Kourou) and with Pierre Montpied (UMR EEF, Nancy) are gratefully acknowledged.

References

- Barthod, S. and D. Epron 2005. Variations of construction cost associated to leaf area renewal in saplings of two co-occurring temperate tree species (*Acer platanoides* L. and *Fraxinus excelsior* L.) along a light gradient. *Annals of Forest Science*. 62:545-551.
- Barthod, S. and D. Epron *in prep.* Interspecific variations in construction cost associated to the leaf area renewal in understorey saplings of temperate tree species.
- Baruch, Z., R.R. Pattison and G. Goldstein 2000. Responses to light and water availability of four invasive Melastomataceae in the Hawaiian islands. *International Journal of Plant Sciences*. 161:107-118.
- Chabot, B.F. and D.J. Hicks 1982. The Ecology of Leaf Life Spans. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 13:229-259.
- Chapin III, F.S. 1989. The cost of tundra plant structures: evaluation of concepts and currencies. *American Naturalist*. 133:1-19.
- Coley, P.D. 1983. Herbivory and defensive characteristics of tree species in a lowland tropical forest. *Ecological monograph*. 53:209–233.
- Coste, S., J.-C. Roggy, P. Imbert, C. Born, D. Bonal and E. Dreyer 2005. Leaf photosynthetic traits of 14 tropical rain forest species in relation to leaf nitrogen concentration and shade tolerance. *Tree Physiology*. 25:1127-1137.
- Coste, S., J.-C. Roggy, G. Sonnier and E. Dreyer *in prep.* Irradiance-elicited phenotypic plasticity of leaf traits is similar in 12 tropical-rainforest tree species irrespective of their successional status.
- Diemer, M. 1998. Life span and dynamics of leaves of herbaceous perennials in high-elevation environments: 'news from the elephant's leg'. *Functional Ecology*. 12:413-425.
- Ellsworth, D.S. and P.B. Reich 1993. Canopy structure and vertical patterns of photosynthesis and related leaf traits in a deciduous forest. *Oecologia*. 96:169-178.
- Gary, C., N. Bertin, J.S. Frossard and J. Le Bot 1998. High mineral contents explain the low construction cost of leaves, stems and fruits of tomato plants. *Journal of Experimental Botany*. 49:49-57.
- Givnish, T.J. 1988. Adaptation to sun and shade: A whole plant perspective. *Australian Journal of Plant Physiology*. 15:63-92.

- Givnish, T.J. 2002. Adaptive significance of evergreen vs. deciduous leaves: Solving the triple paradox. *Silva Fennica*. 36:703-743.
- Griffin, K.L., W.E. Winner and B.R. Strain 1996. Construction cost of loblolly and ponderosa pine leaves grown with varying carbon and nitrogen availability. *Plant Cell and Environment*. 19:729-739.
- Jaouen, G., T. Almeras, C. Coutand and M. Fournier 2007. How to determine sapling buckling risk with only a few measurements. *American Journal of Botany*. 94:1583-1593.
- Kikuzawa, K. 1991. A cost-benefit analysis of leaf habit and leaf longevity of trees and their geographical pattern. *American Naturalist*. 138:1250- 1263.
- Kikuzawa, K. 1995. The basis for variation in leaf longevity of plants. *Vegetatio*. 121:89-100.
- Kikuzawa, K. and D. Ackerly 1999. Significance of leaf longevity in plant. *Plant Species Biology*. 14:39-45.
- Kitajima, K. 1994. Relative importance of photosynthetic traits and allocation patterns as correlates of seedling shade tolerance of 13 tropical trees. *Oecologia*. 98:419-428.
- Kitajima, K., S.S. Mulkey, M. Samaniego and S.J. Wright 2002. Decline of photosynthetic capacity with leaf age and position in two tropical pioneer tree species. *American Journal of Botany*. 89:1925–1932.
- Kitajima, K., S.S. Mulkey and S.J. Wright 1997. Decline of photosynthetic capacity with leaf age in relation to leaf longevities for five tropical canopy tree species. *American Journal of Botany*. 84:702–708.
- Messier, C., R. Doucet, J.-C. Ruel, Y. Claveau, C. Kelly and M.J. Lechowicz 1999. Functional ecology of advance regeneration in relation to light in boreal forests. *Canadian Journal of Forest Research*. 29:812-823.
- Miyaji, K.-I., W.S. Da Silva and P.D.T. Alvim 1997. Longevity of leaves of a tropical tree, *Theobroma cacao*, grown under shading, in relation to position within the canopy and time of emergence. *New Phytologist*. 135:445-454.
- Molino, J.-F. and D. Sabatier 2001. Tree diversity in tropical rain forests: A validation of the intermediate disturbance hypothesis. *Science*. 294:1702-1704.
- Mooney, H.A. and S.L. Gulmon 1982. Constraints on leaf structure and function in reference to herbivory. *BioScience*. 32:198-206.

- Navas, M.-L., B. Ducout, C. Roumet, J. Richarte, J. Garnier and E. Garnier 2003. Leaf life span, dynamics and construction cost of species from Mediterranean old-fields differing in successional status. *New Phytologist*. 159:213-228.
- Niinemets, Ü. 1997a. Acclimation to low irradiance in *Picea abies*: influences of past and present light climate on foliage structure and function. *Tree Physiology*. 17:723-732.
- Niinemets, Ü. 1997b. Role of foliar nitrogen in light harvesting and shade tolerance of four temperate deciduous woody species. *Functional Ecology*. 11:518-531.
- Niinemets, Ü. 1999. Energy requirement for foliage formation is not constant along canopy light gradients in temperate deciduous trees. *New Phytologist*. 141:459-470.
- Niinemets, Ü. and O. Kull 1998. Stoichiometry of foliar carbon constituents varies along light gradients in temperate woody canopies: implications for foliage morphological plasticity. *Tree Physiology*. 18:467-479.
- Penning De Vries, F.W.T., A.H.M. Brunsting and H.H. Van Laar 1974. Products, requirements and efficiency of biosynthesis: a quantitative approach. *Journal of Theoretical Biology*. 45:339-377.
- Pickup, M., M. Westoby and A. Basden 2005. Dry mass costs of deploying leaf area in relation to leaf size. *Functional Ecology*. 19:88-97.
- Poorter, H. 1994. Construction costs and payback time of biomass: a whole plant approach. *In A whole plant perspective on carbon-nitrogen interactions* Eds. J. Roy and E. Garnier. Backhuys Publishers, The Hague, The Netherlands, pp. 111-127.
- Poorter, H., S. Pepin, T. Rijkers, Y. de Jong, J.R. Evans and C. Körner 2006. Construction costs, chemical composition and payback time of high- and low-irradiance leaves. *Journal of Experimental Botany*. 57:355-371.
- Poorter, H. and R. Villar 1997. The fate of acquired carbon in plants: chemical composition and construction costs. *In Plant resource allocation* Eds. F.A. Bazzaz and J. Grace. Academic Press, San Diego, CA, USA, pp. 39-72.
- Reich, P.B., C. Uhl, M.B. Walters and D.S. Ellsworth 1991. Leaf life-span as a determinant of leaf structure and function among 23 amazonian tree species. *Oecologia*. 86:16-24.
- Reich, P.B., C. Uhl, M.B. Walters, L. Prugh and D.S. Ellsworth 2004. Leaf demography and phenology in amazonian rain Forest : A census of 40000 leaves of 23 trees species. *Ecological Monographs*. 74:3-23.

- Reich, P.B. and M.B. Walters 1994. Photosynthesis-nitrogen relations in Amazonian tree species. II: Variation in nitrogen vis-à-vis specific leaf area influences mass and area-based expressions. *Oecologia*. 97:73-80.
- Reich, P.B., M.B. Walters and D.S. Ellsworth 1992. Leaf life-span in relation to leaf, plant and stand characteristics among diverse ecosystems. *Ecological Monographs*. 62:365-392.
- Reich, P.B., M.B. Walters and D.S. Ellsworth 1997. From tropics to tundra: global convergence in plant functioning. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*. 94:13730-13734.
- Reich, P.B., M.B. Walters, D.S. Ellsworth and C. Uhl 1994. Photosynthesis-nitrogen relations in Amazonian tree species. I: Patterns among species and communities. *Oecologia*. 97:62-72.
- Roggy, J.-C., E. Nicolini, P. Imbert, Y. Caraglio, A. Bosc and P. Heuret 2005. Links between tree structure and functional leaf traits in the tropical forest tree *Dicorynia guianensis* Amshoff (Caesalpinaceae). *Annals of Forest Science*. 62:553-564.
- Rozendaal, D.M.A., V.H. Hurtado and L. Poorter 2006. Plasticity in leaf traits of 38 tropical tree species in response to light; relationships with light demand and adult stature. *Functional Ecology*. 20:207-216.
- Ryser, P. and P. Urbas 2000. Ecological significance of leaf life span among Central European grass species. *Oikos*. 91:41-50.
- Sims, D.A. and R.W. Pearcy 1994. Scaling sun and shade photosynthetic acclimation of *Alocasia macrorrhiza* to whole-plant performance. 1. Carbon balance and allocation at different daily photon flux densities. *Plant, Cell and Environment*. 17:881-887.
- Sobrado, M.A. 1991. Cost-benefit relationships in deciduous and evergreen leaves of tropical dry forest species. *Functional Ecology*. 5:608-616.
- Valladares, F., S.J. Wright, E. Lasso, K. Kitajima and R.W. Pearcy 2000. Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a Panamanian rainforest. *Ecology*. 81:1925-1936.
- Vertregt, N. and F.W.T. Penning De Vries 1987. A rapid method for determining the efficiency of biosynthesis of plant biomass. *Journal of Theoretical Biology*. 128:109-119.
- Villar, R. and J. Merino 2001. Comparison of leaf construction costs in woody species with differing leaf life-spans in contrasting ecosystems. *New Phytologist*. 151:213-226.

- Vincent, G. 2006. Leaf life span plasticity in tropical seedlings grown under contrasting light regimes. *Annals of Botany*. 97:245–255.
- Walters, M.B. and P.B. Reich 1999. Low-light carbon balance and shade tolerance in the seedlings of woody plants: do winter deciduous and broad-leaved evergreen species differ? *New Phytologist*. 143:143-154.
- Westoby, M., D.S. Falster, A.T. Moles, P.A. Vesk and I.J. Wright 2002. Plant ecological strategies: Some leading dimensions of variation between species. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 33:125-159.
- Williams-Linera, G. 2000. Leaf demography and leaf traits of temperate-deciduous and tropical evergreen-broadleaved trees in a Mexican montane cloud forest. *Plant Ecology*. 149:233-244.
- Williams, K., C.B. Field and H.A. Mooney 1989. Relationships among leaf construction cost, leaf longevity, and light environment in rain forest plants of the genus *Piper*. *American Naturalist*. 133:198-211.
- Wright, I.J., P.B. Reich, J.H.C. Cornelissen, D.S. Falster, E. Garnier, K. Hikosaka, B.B. Lamont, W. Lee, J. Oleksyn, N. Osada, H. Poorter, R. Villar, D.I. Warton and M. Westoby 2005. Assessing the generality of global leaf trait relationships. *New Phytologist*. 166:485-496.
- Wright, I.J., P.B. Reich, M. Westoby, D.D. Ackerly, Z. Baruch, F. Bongers, J. Cavender-Bares, T. Chapin, J.H.C. Cornelissen, M. Diemer, J. Flexas, E. Garnier, P.K. Groom, J. Gulias, K. Hikosaka, B.B. Lamont, T. Lee, W. Lee, C. Lusk, J.J. Midgley, M.-L. Navas, Ü. Niinemets, J. Oleksyn, N. Osada, H. Poorter, P. Poot, L. Prior, V.I. Pyankov, C. Roumet, S.C. Thomas, M.G. Tjoelker, E.J. Veneklaas and R. Villar 2004. The worldwide leaf economics spectrum. *Nature*. 428:821-827.
- Wright, I.J. and M. Westoby 2002. Leaves at low versus high rainfall: coordination of structure, lifespan and physiology. *New Phytologist*. 155:403–416.

Tables

Table 1. List of the studied species, with the abbreviations used in the figures, the phylogenetic position, the ecological status and the form of leaves (simple or compound).

Species name	Codes	Family name	Ecological status	Leaf type
<i>Bagassa guianensis</i> J.B. Aublet	Bg	Moraceae	Pioneer ¹	Simple
<i>Cecropia obtusa</i> Trécul.	Co	Cecropiaceae	Pioneer ¹	Simple
<i>Carapa procera</i> A.P. De Candolle	Cp	Meliaceae	Heliophilic/Non Pioneer ¹	Compound
<i>Tachigali melinonii</i> (Harms) Barneby	Tm	Caesalpiniaceae	Heliophilic/Non Pioneer ¹	Compound
<i>Amanoa guianensis</i> J.B. Aublet	Ag	Euphorbiaceae	Shade tolerant	Simple
<i>Eperua falcata</i> J.B. Aublet	Ef	Caesalpiniaceae	Shade tolerant	Compound
<i>Hymenaea courbaril</i> Linnaeus	Hc	Caesalpiniaceae	Shade tolerant	Compound
<i>Pouteria</i> sp. J.B. Aublet	Ps	Sapotaceae	Shade tolerant	Simple
<i>Pradosia cochlearia</i> (Lecomte) Pennington	Pc	Sapotaceae	Shade tolerant	Simple
<i>Protium opacum</i> Swart	Po	Burseraceae	Shade tolerant	Compound
<i>Sextonia rubra</i> (Mez) van der Weff	Sr	Lauraceae	Shade tolerant	Simple
<i>Symphonia globulifera</i> Linnaeus f.	Sg	Clusiaceae	Shade tolerant	Simple
<i>Vouacapoua americana</i> J.B. Aublet	Va	Caesalpiniaceae	Shade tolerant	Compound

¹ according to Molino and Sabatier (2001)

Table 2. Mean (\pm standard deviation), minimum and maximum values of the fraction of transmitted irradiance (% external irradiance) as recorded in the three shaded plots of the greenhouse (treatments t_5 , t_{10} and t_{20}). Measurements were made continuously during three successive days of November 2003 and of September 2004 with 12 PAR quantum sensors per treatment. Local transmittance was averaged over the whole duration of measurements for each sensor. Min and Max refer to spatial variability among sensors in a given treatment. Means (\pm SD) of daily photosynthetic photon flux densities (*DPPF*, mol photon $m^{-2} d^{-1}$) are also indicated.

Treatment	November 2003			September 2004			<i>DPPF</i> (mol $m^{-2} d^{-1}$)
	Mean \pm SD	Min	Max	Mean \pm SD	Min	Max	Mean \pm SD
t_5	4.64 \pm 0.9	3.31	6.33	4.66 \pm 0.6	3.68	6.11	2.32 \pm 0.32
t_{10}	8.77 \pm 1.8	6.22	13.2	9.26 \pm 0.8	8.04	11.6	4.60 \pm 0.54
t_{20}	18.72 \pm 1.2	17.15	21.3	20.3 \pm 21.1	18.4	22.6	9.98 \pm 0.73

Table 3. Results from a two-way ANOVA for the effects of two factors: species (13 levels) and relative irradiance (3 levels) and their interaction, on: specific construction costs (CC_m); organ mass-to-leaf area ratio for leaves (LMA), petioles (PMA), stems (SMA) and whole metamers (MMA); construction costs scaled to leaf area for metamer ($CC_{met,a}$) or leaf lamina ($CC_{l,a}$); structural leaf traits like N, C and ash content of the different organs. $n=8$ to 10 individuals per species x irradiance. F values and probability are displayed (*, $P \leq 0.05$; **, $P \leq 0.01$ and ***, $P \leq 0.001$). With the exception of mass-based CC_m , LMA , leaf thickness, Chl_a , C content and ash of stems, all variables were \log_{10} transformed. Mean values (\pm 95% confidence interval) are displayed for the three irradiance levels. A Spearman's rank coefficient is provided for mean species values between t_5 and t_{20} .

	Species	Irradiance	Sp x I	t_5	t_{10}	t_{20}	Spearman's r (t_{20} vs. t_5)
$CC_{l,m}$ (g g ⁻¹)	98.6***	16.5***	3.42***	1.47±0.02a	1.50±0.02b	1.46±0.02a	0.83***
$CC_{p,m}$ (g g ⁻¹)	173***	25.2***	4.01***	1.31±0.02a	1.34±0.02b	1.34±0.02b	0.90***
$CC_{s,m}$ (g g ⁻¹)	37.6***	4.48***	1.56 ns	1.29±0.02a	1.29±0.02a	1.31±0.02b	0.81***
$CC_{met,a}$ (g g ⁻¹)	111***	5.57***	2.98***	1.39±0.02ab	1.48±0.04a	1.38±0.02b	0.91***
LMA (g m ⁻²)	86.6***	271***	6.61***	45.8±2.3a	56.4±3.2b	73±4.2c	0.95***
PMA (g m ⁻²)	296***	168***	3.08***	13.2±1.1a	17.3±1.5b	22.6±2.4c	0.96***
SMA (g m ⁻²)	29.3***	74.5***	4.52***	23.7±5.4a	39.0±9.4b	75.5±15c	0.82***
MMA (g m ⁻²)	38.7***	150***	4.23***	80.0±8.0a	108±12b	166±18c	0.76***
$CC_{l,a}$ (g m ⁻²)	93.0***	231***	3.51***	67.1±3.2a	84.3±4.7b	106±6.2c	0.82***
$CC_{met,a}$ (g m ⁻²)	50.4***	162***	4.07***	107±9.8a	143±15b	210±22c	0.86***
mean leaf area (cm ²)	354***	6.70***	2.35***	432±80a	468±87a	412±81b	0.98***
leaf thickness (µm)	140***	69.8***	3.15***	167±11a	182±11b	206±13c	0.90***
leaf density (g cm ⁻³)	148***	90.4***	3.20***	0.29±0.02a	0.33±0.02b	0.38±0.02c	0.87***
Chl_a (µmol m ⁻²)	57.9***	107***	1.07 ns	598±28a	658±32b	469±32c	0.96***
<i>Leaf lamina</i>							
N_m (%)	160***	228***	2.34***	1.88±0.13a	1.74±0.11b	1.27±0.10c	0.98***
C_m (%)	114***	9.44***	3.79***	46.0±0.4a	46.6±0.5b	46.4±0.4b	0.83***
Ash (%)	78.2***	6.11**	3.66***	7.34±0.4a	7.85±0.4b	7.77±0.4ab	0.80***
<i>Leaf petiole+vein</i>							
N_m (%)	77.4***	104***	11.9***	0.94±0.13a	0.83±0.08a	0.56±0.03b	0.87***
C_m (%)	244***	39.3***	6.12***	43.6±0.7a	44.5±0.6b	44.8±0.5c	0.90***
Ash (%)	115***	1.38 ns	3.28***	8.05±0.8a	7.74±0.6a	7.46±0.6a	0.80***
<i>Stem (internodes)</i>							
N_m (%)	60.7***	31.1***	4.66***	0.78±0.15a	0.63±0.11a	0.39±0.04b	0.67**
C_m (%)	61.6***	13.8***	3.01***	43.6±0.6a	44.1±0.5b	44.8±0.4c	0.70**
Ash (%)	28.2***	11.7***	3.83***	6.71±0.8a	5.56±0.6b	4.83±0.5b	0.38 ns

Table 4. Pearson's correlation coefficients between construction cost scaled to leaf area of metamers (CC_{meta} , $g_{glucose} m^{-2}$) and leaf lamina (CC_{La} , $g_{glucose} m^{-2}$), specific construction cost of leaf lamina (CC_{Lm} , $g_{glucose} g^{-1}$), petiole (CC_{pm} , $g_{glucose} g^{-1}$), and stem (CC_{sm} , $g_{glucose} g^{-1}$); mass-to-leaf-area ratio of meristem (MMA), leaf lamina (LMA , $g m^{-2}$), petiole (PMA) and stem (SMA); leaf lamina thickness (thick), density (dens.) and area (L_{area}). Simple linear regressions were applied using species means for each variable. Probabilities are indicated as: *, $P \leq 0.05$; **, $P \leq 0.01$ and ***, $P \leq 0.001$.

		t5											
t20	CC_{meta}	0.85***	–	–	–	0.59*	–	0.91***	–	0.75**	0.58*	–	–
	0.65*	CC_{La}	–	–	0.69*	0.79***	0.91***	0.96***	–	–	–	–	–
	–	–	CC_{metm}	0.92**	0.79**	0.71**	–	–	-0.56*	–	–	0.68**	–
	–	–	0.74**	CC_{Lm}	–	–	–	–	-0.65*	–	-0.59*	–	–
	–	–	0.75**	–	CC_{pm}	0.87***	–	–	–	–	–	0.76**	–
	–	–	0.81***	0.58*	0.83***	CC_{sm}	–	0.63*	–	–	–	0.57*	–
	0.89***	0.56*	–	–	–	–	MMA	0.79***	–	0.92***	0.73**	–	–
	0.74**	0.98***	–	–	–	–	0.65*	LMA	–	–	–	–	–
	–	0.57*	–	–	0.62*	–	–	0.62*	PMA	–	0.56*	–	–
	0.79***	–	–	-0.60*	–	–	0.86***	–	–	SMA	0.68*	–	–
	–	0.56*	–	–	–	–	0.62*	0.62*	0.59*	–	thick.	-0.63*	–
	–	–	–	–	0.57*	–	–	–	–	–	-0.62*	dens.	–
	–	–	–	–	–	–	–	–	0.56*	–	–	–	L_{area}

Table 5. Results from a two way ANOVA for the effects of the two factors: species (13 levels) and relative irradiance (3 levels) and their interaction, on net CO₂ assimilation, leaf and metamer payback time (PBT and PBT_{met}) and optimal leaf longevity (L_{opt} and $L_{opt_{met}}$) and on relative growth rate (RGR). $n=8$ to 10 individuals per species x irradiance treatments. F values and probability are displayed (*, $P \leq 0.05$; **, $P \leq 0.01$ and ***, $P \leq 0.001$). All variables were \log_{10} transformed prior to the analysis, with the exception of RGR . Mean values ($\pm 95\%$ confidence interval) are displayed for the three irradiance level. Significant differences at $p < 0.05$ are indicated with different letters.

	Species	Irradiance	Sp x I	t ₅	t ₁₀	t ₂₀	Spearman's r (t ₂₀ vs. t ₅)
A_{sata} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	26.9***	49.6***	2.56***	5.36 \pm 0.4a	6.14 \pm 0.4b	7.53 \pm 0.3c	0.63*
A_{sam} ($\text{nmol g}^{-1} \text{s}^{-1}$)	37.8***	6.51**	2.39***	124 \pm 9.3a	119 \pm 10ab	111 \pm 9.4b	0.75**
$A_{est m}$ ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{d}^{-1}$)	57.6***	249***	4.67***	1.46 \pm 0.1a	2.08 \pm 0.1b	2.62 \pm 0.2c	0.79**
LLS (days)*	–	–	–	>780	>780	443	0.74**
PBT (days)	54.4***	237***	4.44***	37.6 \pm 2a	27.0 \pm 2b	21.3 \pm 2c	0.37 ns
L_{opt} (days)	321***	544***	15.4***	223 \pm 12a	182 \pm 10b	141 \pm 7.5c	0.53 ns
PBT_{met} (days)	36.2***	37.5***	4.29***	60.0 \pm 5.5a	45.8 \pm 5.0b	41.0 \pm 4.7c	0.63*
$L_{opt_{met}}$ (days)	190***	120***	6.28***	265 \pm 23a	225 \pm 21b	186 \pm 15c	0.57*
RGR ($\text{cm cm}^{-1}\text{year}^{-1}$)	101***	48.7***	3.73***	1.18 \pm 0.12a	1.26 \pm 0.11a	1.55 \pm 0.11b	0.62*

* median value of LLS for each irradiance level instead of mean values.

Table 6. Pearson's correlation coefficients between photosynthetic capacity of young leaves expressed on a mass basis ($A_{\text{sat}m}$, $\text{nmol g}^{-1} \text{s}^{-1}$); leaf lifespan (LLS , days) and other leaf traits. For the three relative irradiances (t_5 , t_{10} and t_{20}), simple linear regressions were applied using species means for each variable. For LLS the regression were only applied on the ten species at t_{20} for which LLS was estimated precisely. Probabilities are indicated as: ns, $P > 0.05$; *, $P \leq 0.05$; **, $P \leq 0.01$ and ***, $P \leq 0.001$.

	$A_{\text{sat}m}$			LLS ($n=10$)	$L_{\text{opt}met}$		
	t_5	t_{10}	t_{20}	t_{20}	t_5	t_{10}	t_{20}
LMA (g m^{-2})	-0.81***	-0.74**	-0.62*	0.55ns	0.80***	0.75**	0.59*
thickness (μm)	-0.29ns	-0.09ns	-0.17ns	-0.03ns	0.30ns	0.42ns	0.09ns
density (g cm^{-3})	-0.41ns	-0.53ns	-0.36ns	0.52ns	0.46ns	0.59*	0.47ns
MMA (g m^{-2})	-0.52ns	-0.39ns	-0.35ns	0.48ns	0.73**	0.45ns	0.40ns
CC_{1m} (g g^{-1})	0.11ns	-0.13ns	-0.14ns	0.30ns	-0.01ns	-0.09ns	0.30ns
CC_{pm} (g g^{-1})	-0.47ns	-0.59*	-0.40ns	0.82**	0.75**	0.52ns	0.64*
CC_{sm} (g g^{-1})	-0.63*	-0.41ns	-0.42ns	0.81**	0.72**	0.27ns	0.62*
CC_{metm} (g g^{-1})	-0.14ns	-0.21ns	-0.32ns	0.58ns	0.30ns	0.38ns	0.44ns
CC_{meta} (g m^{-2})	–	–	–	0.61ns	0.77**	0.67*	0.60*
$A_{\text{sat}m}$ ($\text{nmol g}^{-1} \text{s}^{-1}$)	–	–	–	-0.65*	-0.73**	-0.71**	-0.89***
N_m (mg g^{-1})	0.73**	0.60*	0.65*	-0.78**	-0.80***	-0.78**	-0.76**
$A_{\text{sat}a}$ ($\text{nmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	–	–	–	-0.24ns	0.07ns	-0.38ns	-0.44ns
PBT (days)	-0.70**	-0.84***	-0.87***	0.67*	0.77**	0.90***	0.87***
PBT_{met} (days)	-0.60*	-0.64*	-0.76**	0.61ns	0.71**	0.86***	0.78***
b (days)	-0.59*	-0.61*	-0.54*	0.83**	0.87***	0.87***	0.71**
L_{opt} (days)	-0.72**	-0.75**	-0.80***	0.85*	–	–	–
$L_{\text{opt}met}$ (days)	-0.73**	-0.71**	-0.89***	0.87***	–	–	–
RGR ($\text{cm cm}^{-1} \text{year}^{-1}$)	0.77**	0.51ns	0.46 ns	-0.61ns	-0.81***	-0.52ns	-0.59*

Table 7. Percentages of the total variance of payback-time (PBT and PBT_{met}) and optimal leaf longevity ($Lopt$ and $Lopt_{met}$) explained by each component in a given irradiance level (t_{20}) and within all the treatments. Interspecific and intraspecific components are separated, and the total contribution for each factor appears in the last row.

% of the total variance							
t_{20}	<u>Leaf lamina</u>						
	$PBT(t_{20})$			$Lopt(t_{20})$			
	$CC_{l,m}$	$A_{est}a$	LMA	$CC_{l,m}$	$A_{est}a$	LMA	b
Intersp. component	3.23	0.60	79.2	1.34	0.25	32.7	58.7
Intrasp. component	1.36	0.62	15.0	0.56	0.26	6.20	–
total	4.59	1.22	94.2	1.90	0.51	38.9	58.7
	<u>Metamer</u>						
	$PBT_{met}(t_{20})$			$Lopt_{met}(t_{20})$			
	CC_{metm}	$A_{est}a$	LMA	CC_{metm}	$A_{est}a$	LMA	b
Intersp. component	3.59	0.61	79.4	1.48	0.25	32.8	58.8
Intrasp. component	0.71	0.62	15.1	0.29	0.26	6.21	–
total	4.30	1.24	94.5	1.77	0.51	39	58.8

<u>All treatments</u>							
	<u>Leaf lamina</u>						
	PBT			$Lopt$			
	$CC_{l,m}$	$A_{est}a$	LMA	$CC_{l,m}$	$A_{est}a$	LMA	b
Intersp. component	0.16	0.27	3.12	0.01	0.02	0.24	0.54
Intrasp. component	8.62	7.36	80.5	0.67	0.57	6.22	91.7
total	8.77	7.63	83.6	0.68	0.59	6.46	92.3
	<u>Metamer</u>						
	PBT_{met}			$Lopt_{met}$			
	CC_{metm}	$A_{est}a$	LMA	CC_{metm}	$A_{est}a$	LMA	b
Intersp. component	0.18	0.29	3.42	0.01	0.02	0.24	0.54
Intrasp. component	0.04	8.05	88.0	0.003	0.57	6.26	92.3
total	0.21	8.34	91.4	0.02	0.59	6.50	92.9

Figure Captions

Figure 1. Cumulated production (white dots) and shedding (black dots) in the leaf cohorts used to compute leaf-life-span (*LLS*) for an individual of *Cecropia obtusa* (115 days) and of *Sextonia rubra* (518 days).

Figure 2. Time course of light-saturated net CO₂ assimilation rate (A_{sat} , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) with leaf age (days) as exemplified for *Amanoa guianensis* grown under three irradiance levels (t_5 , t_{10} , t_{20}). Values correspond to repeated measurements of A_{sat} (5 to 10 individuals) as a function of time (2 to 4 measurements). Linear regressions were used and yielded values of the time when A_{sat} declines to nil (b , days) of 549, 489 and 455 days for treatments t_5 , t_{10} and t_{20} , respectively.

Figure 3. Means (and 95% CI) of N content (N, %), C content (C, %), ash content (%) and specific construction cost (CC_m , g glucose g^{-1}) of leaf- lamina (La); petiole and main vein (or rachis) (Pt) and stem (internodes, St). Significant differences ($P < 0.05$, Post Hoc Tukey) are indicated by different letters.

Figure 4. Effect of relative irradiance (expressed as a fraction of external irradiance) on specific construction costs ($\text{g}_{\text{glucose}} \text{ g}^{-1}$) of leaf lamina (CC_{Lm}), petiole and main vein (CC_{Pm}), stem (CC_{Sm}) and whole metamer (CC_{metm}) and on organ mass to leaf-area ratio for leaves (LM_A , g m^{-2}), petioles (PM_A), stems (SM_A) and whole metamers (MM_A). Means ($\pm 95\%$ CI) for the 13 studied species (See Table 1, for a list of abbreviations) and for three levels of irradiance, t_5 (black dots), t_{10} (grey) and t_{20} (white).

Figure 5. Effect of relative irradiance (expressed as fraction of external irradiance) on construction costs scaled to leaf area ($\text{g}_{\text{glucose}} \text{ m}^{-2}$) of leaf lamina (CC_{La}) and of metamer ($CC_{met a}$). Means ($\pm 95\%$ CI) for the 13 studied species (See Table 1, for list of abbreviations) and for three levels of irradiance: t_5 (black dots) t_{10} (grey) and t_{20} (white).

Figure 6. Effect of relative irradiance (expressed as a fraction of external irradiance) on area-based light saturated net CO₂ assimilation rate (A_{sat} , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), the time when the photosynthesis rate become nil, b (days), metamer payback time (PBT_{met} , days) and optimal leaf longevity for the metamer ($Lopt_{\text{met}}$, days) and leaf life span (*LLS*, days). Values are given for the 13 studied species (See Table 1, for list of abbreviations) and for three levels of irradiance, t_5 , t_{10} and t_{20} . Medians are displayed for *LLS* (the end of the experiment is indicated by a line at 780 days and mean values ($\pm 95\%$ CI) for the other parameters.

Figure 7. Principal component analysis of species of 7 traits for 10 studied species, in the highest relative irradiance level, t_{20} . Traits were expressed at leaf lamina level (top) or metamer level (bottom). Traits were: leaf mass to area ratio (LMA), metamer mass to leaf area ratio (MMA), leaf thickness, leaf density, mass-based light saturating assimilation rate ($A_{\text{sat},m}$), total N content per unit dry mass of leaves (N_m) or metamers ($N_{\text{met},m}$), specific construction costs of leaf lamina ($CC_{L,m}$) or metamers ($CC_{\text{met},m}$) and leaf life span (LLS). Additional variables (with asterisks) were payback-time (PBT or PBT_{met}), optimal leaf longevity (L_{opt} or $L_{\text{opt},\text{met}}$) and the relative growth rate (RGR). Projection of the variables on the factor-planes (1 x 2, left) and of the species on the same plane (right). Pioneer species are indicated by white dots. For species abbreviations see Table 1.

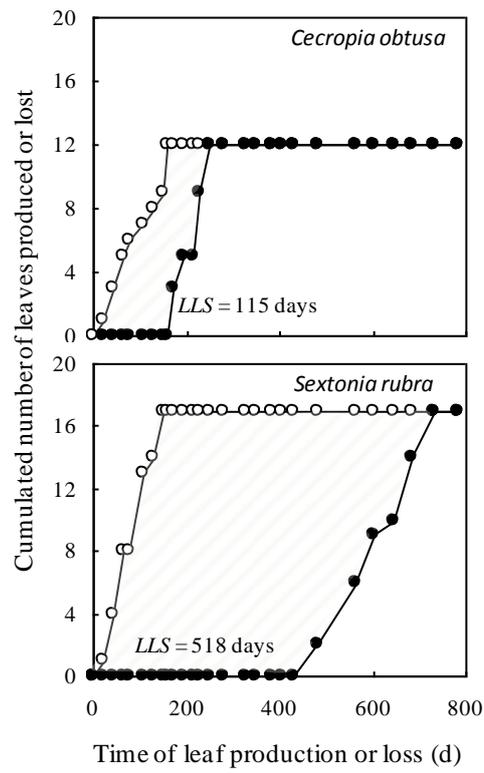


Figure 1.

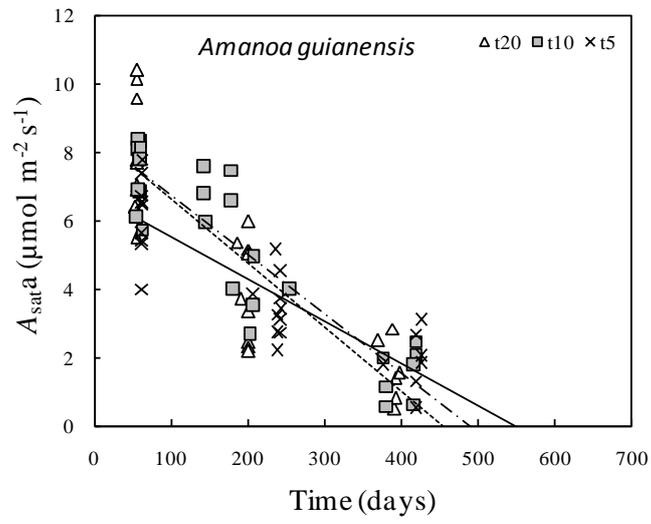


Figure 2.

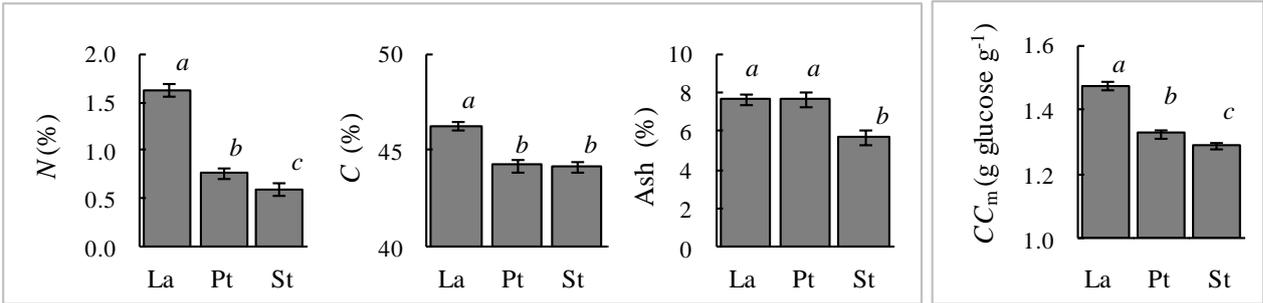


Figure 3.

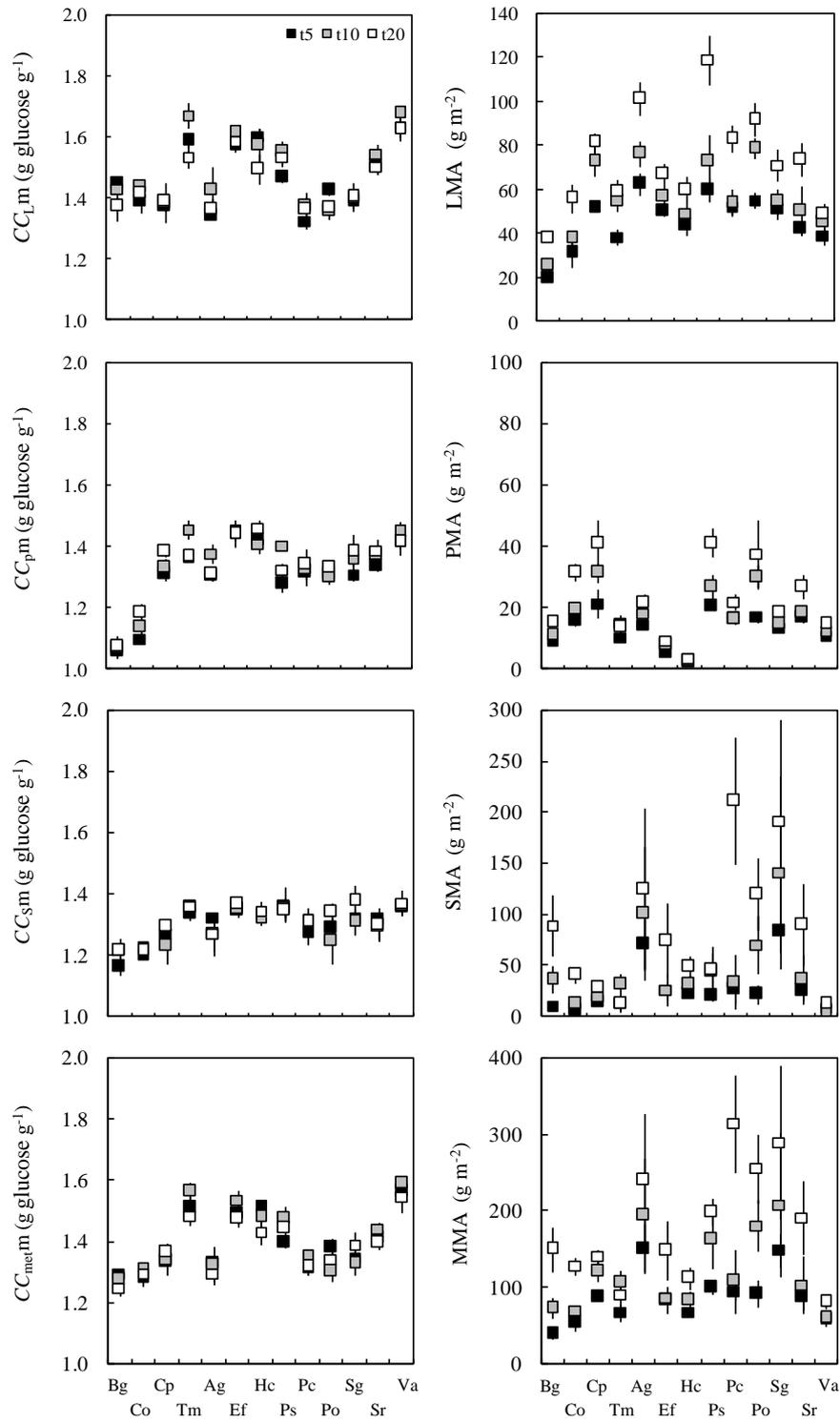


Figure 4.

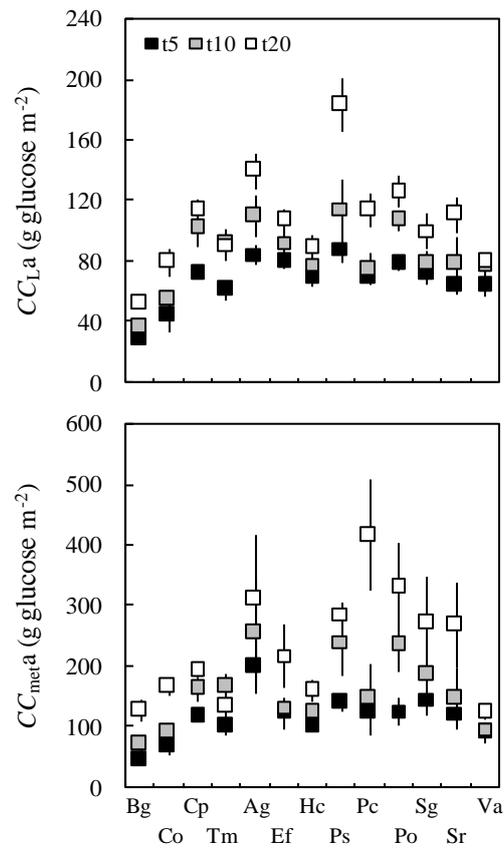


Figure 5.

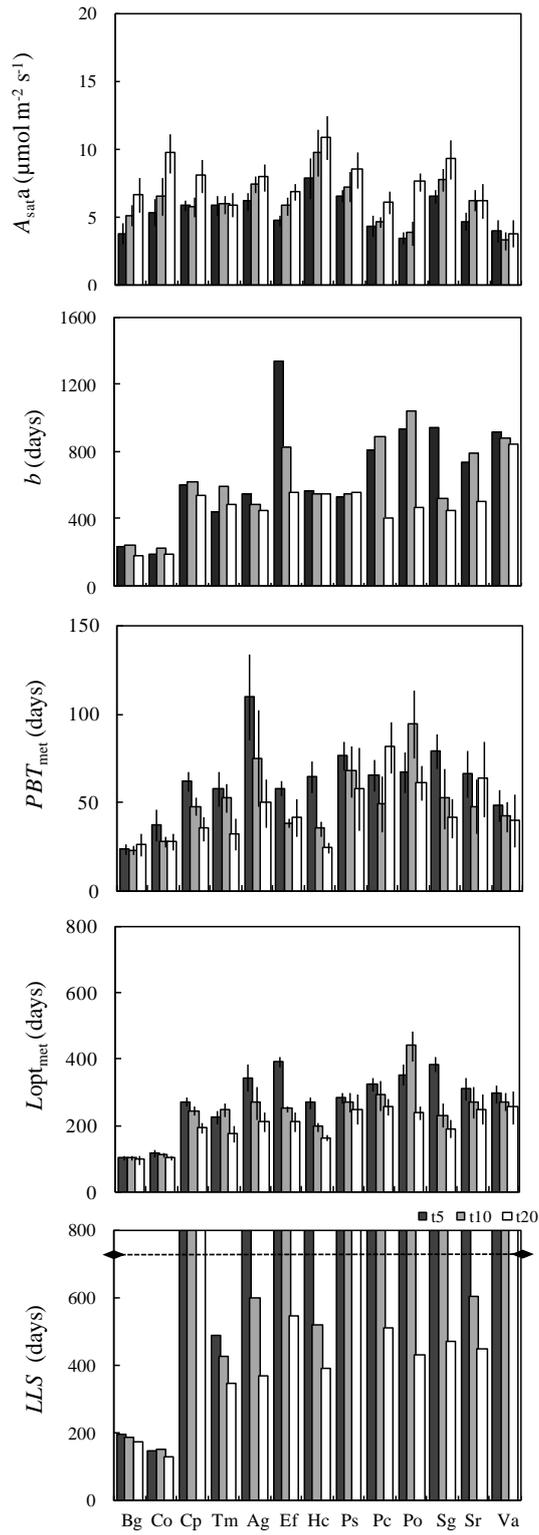


Figure 6.

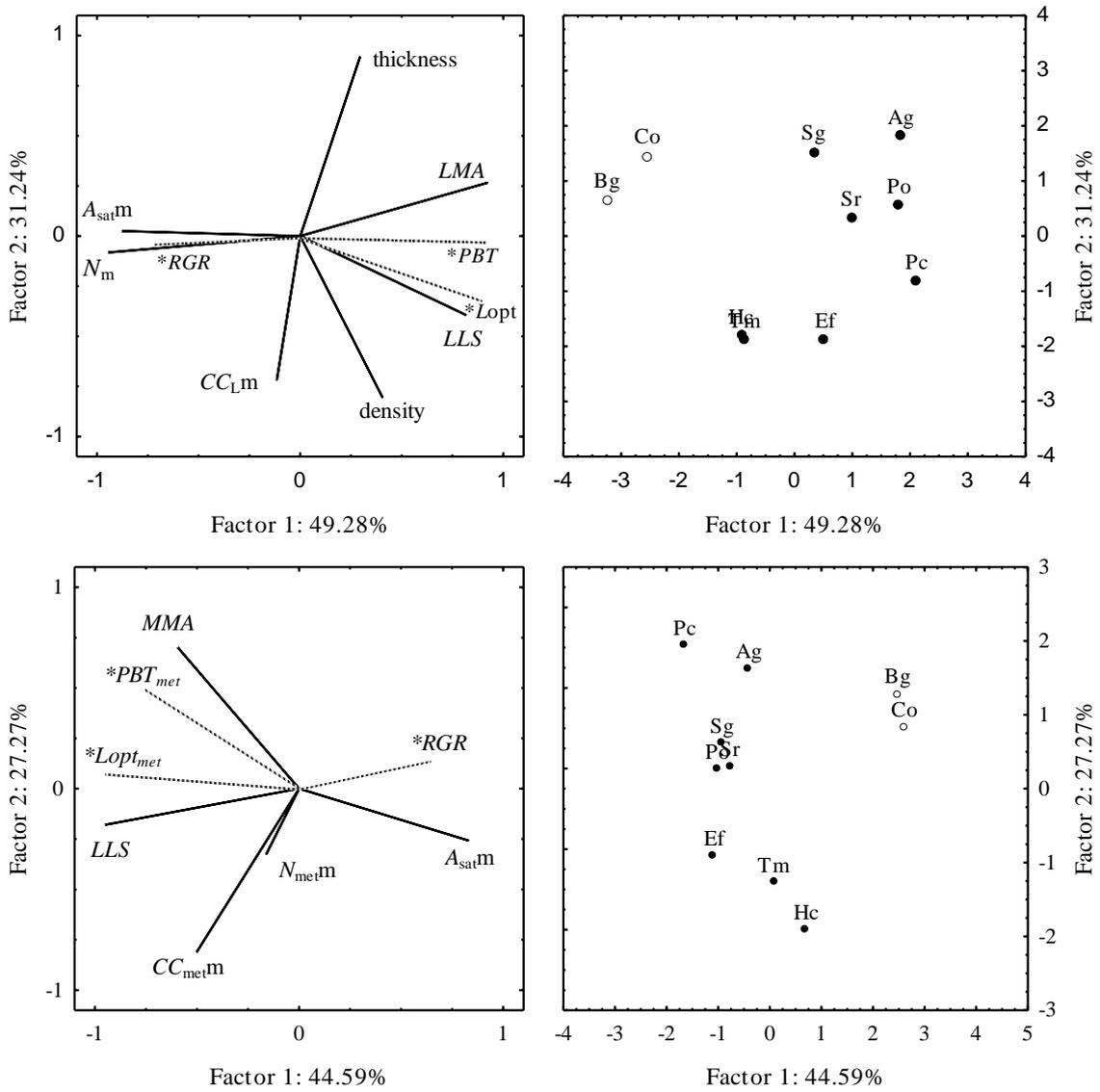


Figure 7.

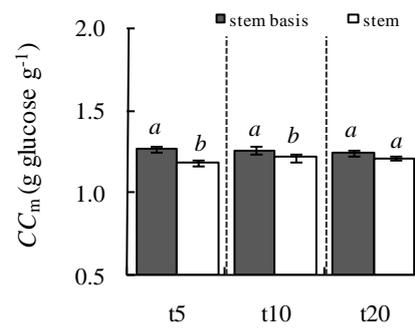
Supplementary figures

Supplementary Figure 1. Effect of secondary growth on construction cost (CC_m , g glucose g⁻¹) in a stem of pioneer species *Cecropia obtusa* and *Bagassa guianensis*. Means (\pm 95% CI) of the CC_m of the basis of the main axis (stem basis) and of the studied internodes (stem) are given. A significant difference ($P < 0.05$) of means values, according to a statistical Post Hoc test of Tuckey, is indicated by different letters.

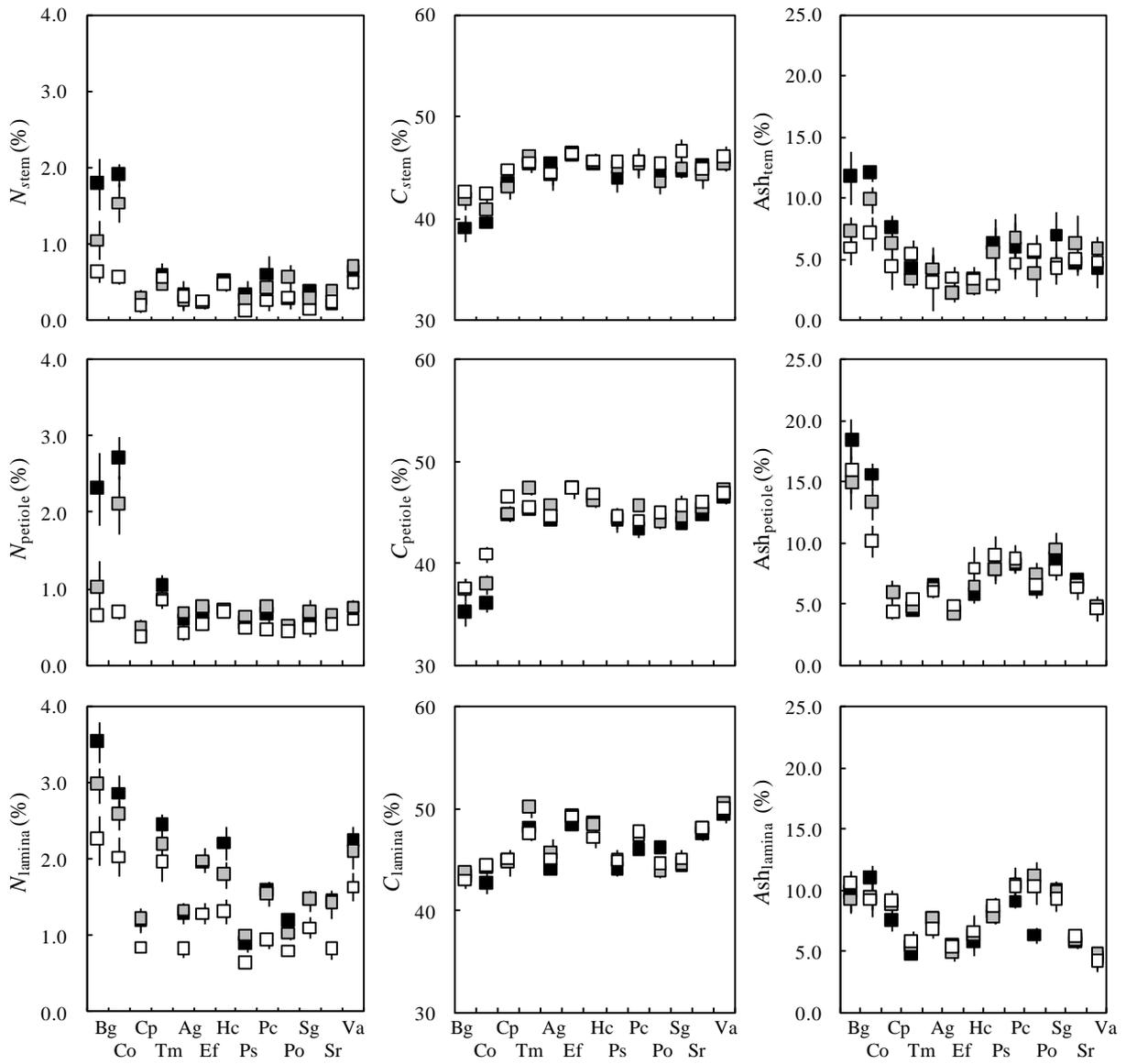
Supplementary Figure 2. Effect of relative irradiance (expressed as fraction of external irradiance) on C content (C, %), N content (N, %) and ash content (%) of the three different compartments: leaf lamina (l), leaf petiole and main vein (p) and stem (s). Mean values (\pm 95% CI) are given for the 13 studied species (See Table 1, for a list of abbreviations) and for three level of irradiance, t_5 (black dots) t_{10} (grey) and t_{20} (white).

Supplementary Figure 3. Relationships between *LMA*, leaf thickness and leaf density. For three irradiance levels (t_5 , black dots, t_{10} grey dots and t_{20} , white dots), simple linear regressions were applied on mean values of the 13 species. Regression equation and r^2 was given. Significance levels: ns, $P > 0.05$; *, $P \leq 0.05$; **, $P \leq 0.01$; *** and $P \leq 0.001$.

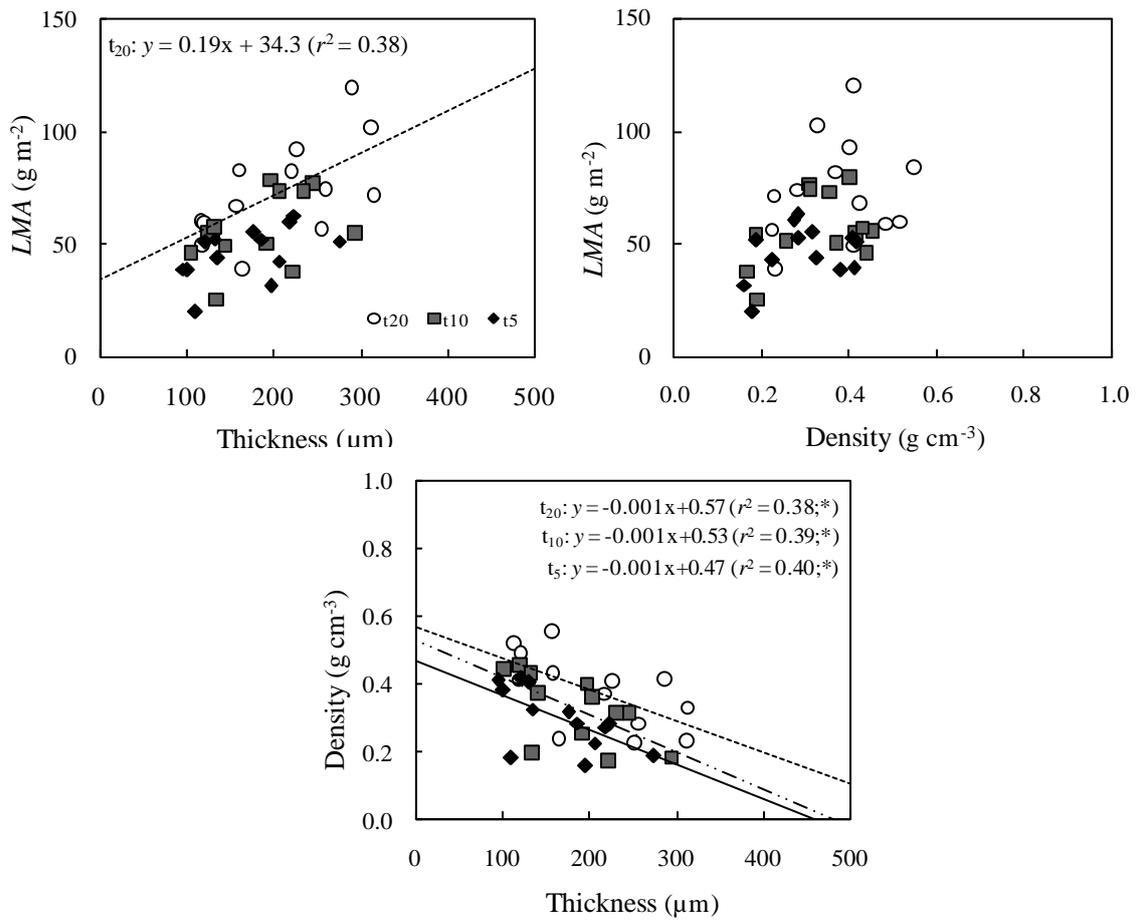
Supplementary Figure 4. Relationships between construction cost, payback time and *Lopt* of the leaf lamina and construction cost, payback time and *Lopt* estimated for the metamer. For three irradiance levels (t_5 , black dots, t_{10} grey dots and t_{20} , white dots), simple linear regressions were applied on mean values of the 13 species. Regression equation and r^2 are given. Significance levels: ns, $P > 0.05$; *, $P \leq 0.05$; **, $P \leq 0.01$; *** and $P \leq 0.001$.



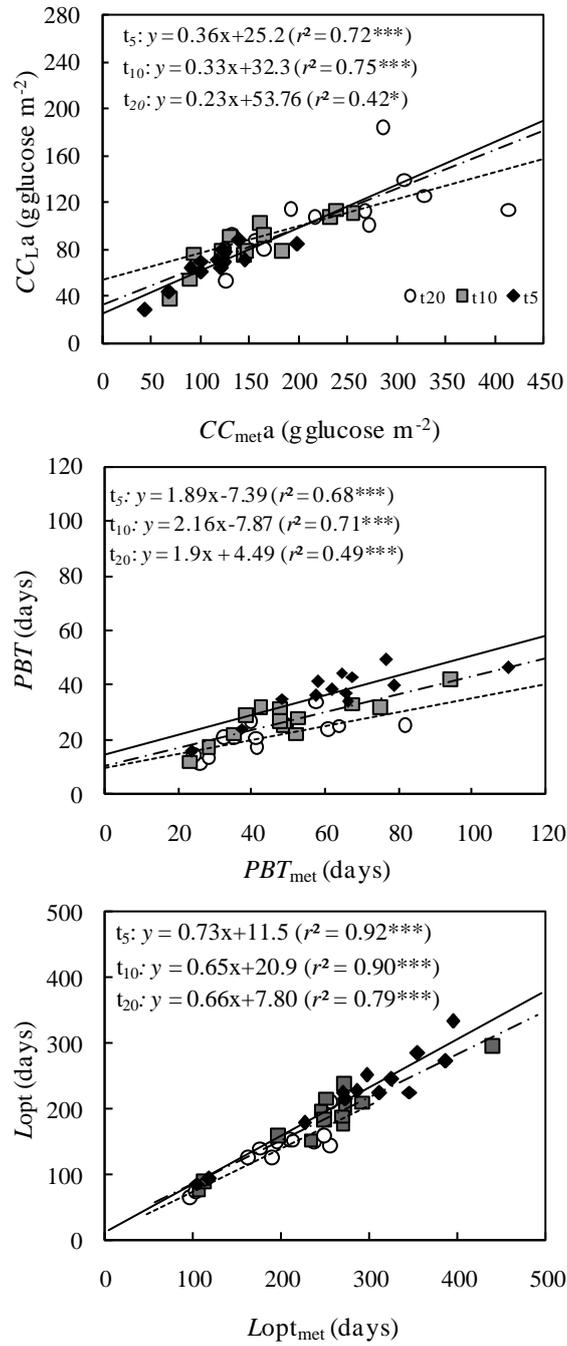
Supplementary Figure 1.



Supplementary Figure 2.



Supplementary Figure 3.



Supplementary Figure 4.

Does ontogeny modulate the irradiance-elicited plasticity of leaf traits in saplings of rain-forest tree species? A test with *Dicorynia guianensis* Amshoff and *Tachigali melinonii* (Harms) Barneby (Caesalpinaceae).

Sabrina Coste¹, Jean-Christophe Roggy¹, Laurianne Garraud¹, Patrick Heuret², Eric Nicolini², and Erwin Dreyer^{3*}.

1. AgroParisTech-ENGREF, INRA, UMR CIRAD-ENGREF-INRA-CNRS « Ecologie des Forêts de Guyane », Campus Agronomique de Kourou, 97387 Kourou, Guyane Française

2. INRA, CIRAD, CNRS, IRD, Université de Montpellier 2, UMR « Botanique et Bioinformatique de l'Architecture des Plantes », TA A51/PS2 34398 Montpellier Cedex 5, France

3. INRA, Nancy-Université, UMR 1137 « Ecologie et Ecophysiologie Forestières », 54280 Champenoux, France

*Correspondence and reprints: Erwin DREYER, dreyer@nancy.inra.fr; Phone: +33 (0)3 83 39 40 32; fax: +33 (0)3 83 39 40 69;

Short title: Ontogeny and irradiance elicited plasticity

Abstract

- Irradiance and to a lesser extent ontogeny elicit a large plasticity in leaf traits, but little is known about the modulation of plasticity by ontogeny. Interactive effects of relative irradiance and ontogeny were assessed on leaf traits for two tropical rainforest tree species: *Dicorynia guianensis* Amshoff and *Tachigali melinonii* (Harms) Barneby (Caesalpiniaceae).
- Twelve morphological and physiological leaf traits, relative to photosynthetic performance, were measured on saplings at three different architectural development stages (*ASD* 1, 2 and 3). Measurements were made along a natural irradiance gradient.
- The effect of *ASD* differed between the two species. For *Dicorynia guianensis*, only leaf mass-per-area (*LMA*) significantly increased with *ASDs* whereas for *Tachigali melinonii*, almost all variables were affected by *ASD*: *LMA*, leaf N content and photosynthetic capacity increased from *ASD* 1 to *ASD* 3. Photosynthetic N-use-efficiency was not affected by *ASD* in any species.
- Leaf traits were severely affected by irradiance, whereas the degree of plasticity in leaf traits was very similar among *ASDs*. Only few interactions were detected between irradiance and *ASD*, for leaf thickness, carbon content, and the ratio Chl/N for *T. melinonii* and for photosynthetic capacity in *D. guianensis*.
- We conclude that ontogeny and irradiance elicited a significant plasticity in leaf traits, with almost no interaction, i.e., the degree of irradiance-elicited plasticity was stable across development stages and independent of ontogeny in these two species.

Keywords: plant architecture / phenotypic plasticity / photosynthetic capacity / leaf structure / tropical rain forest.

Résumé

- Les traits foliaires varient fortement avec l'éclairement mais également avec l'ontogénèse. Cependant, l'impact de l'ontogénèse sur la plasticité induite par l'éclairement reste mal connu. Les interactions entre ontogénèse et éclairement relatif ont ainsi étudiées pour des traits fonctionnels foliaires de deux espèces de forêt tropicale humide de Guyane française : *Dicorynia guianensis* Amshoff et *Tachigali melinonii* (Harms) Barneby (Caesalpiniaceae).
- Douze traits morphologiques et physiologiques foliaires, relatifs aux capacités photosynthétiques, ont été mesurés sur de jeunes arbres ayant atteint trois stades architecturaux de développement successifs (*ASD* 1, 2 et 3). Les mesures ont été réalisées le long d'un gradient naturel d'éclairement en forêt.
- L'impact de stades successifs de développement différait entre espèces. Pour *D. guianensis*, seule la masse surfacique (*LMA*) a augmenté significativement avec les stades de développement tandis que pour *T. melinonii*, presque tous les traits foliaires étaient modulés. Pour cette espèce, *LMA*, teneur en N et capacités photosynthétiques ont augmenté de *ASD* 1 à *ASD* 3. Par contre, l'efficacité d'utilisation de N par la photosynthèse est restée stable entre *ASDs*.
- Les traits foliaires ont été fortement modifiés par l'éclairement mais le degré de plasticité était similaire entre les *ASDs*. Des interactions entre *ASD* et éclairement n'ont été observées que pour l'épaisseur, la teneur en C et le rapport Chl/N de *T. melinonii* ainsi que pour les capacités photosynthétique de *D. guianensis*.
- En dépit de l'effet significatif de l'ontogénèse sur les traits foliaires étudiés, seules de très faibles interactions ont pu être détectées avec l'éclairement pour les deux espèces. On peut en conclure que les stades successifs de développement ne modifient pas le degré de plasticité foliaire en réponse à l'éclairement.

Mots clés : architecture des arbres / plasticité phénotypique / capacité photosynthétique / structure des feuilles / forêt tropicale humide.

List of abbreviations and symbols

	Definition	units
$PNUE$	Photosynthetic N use efficiency	
DPF	Daily photon flux	$\text{mol m}^{-2} \text{ day}^{-1}$
DPF_{rel}	Relative daily photon flux	%
Structural traits		
H	Length of the main axis	cm
D	Basal diameter of the main axis	cm
LMA	Leaf mass per unit leaf area	g m^{-2}
Thickness	leaf thickness	μm
Density	leaf density ($LMA/\text{thickness}$)	g cm^{-3}
C_m	total leaf carbon content	mg C g^{-1}
N_m / N_a	total leaf nitrogen content *	$\text{mg N g}^{-1} / \text{mg N m}^{-2}$
$\text{Chl}_m / \text{Chl}_a$	total leaf chlorophyll content *	$\mu\text{mol Chl g}^{-1} / \mu\text{mol Chl m}^{-2}$
Functional traits		
$V_{\text{cmaxm}} / V_{\text{cmaxa}}$	maximal Rubisco activity *	$\text{nmol CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ s}^{-1} / \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
$J_{\text{maxm}} / J_{\text{maxa}}$	maximal light driven electron transport rate *	$\text{nmol e}^- \text{ g}^{-1} \text{ s}^{-1} / \mu\text{mol e}^- \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
$R_{\text{dm}} / R_{\text{da}}$	CO_2 production by non photorespiratory respiration *	$\text{nmol g}^{-1} \text{ s}^{-1} / \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
V_{cmax}/N	carboxylation rate per unit nitrogen	$\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ N s}^{-1}$
J_{max}/N	electron transport capacity per unit nitrogen	$\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ N s}^{-1}$
Chl/N	investment of leaf nitrogen in chlorophyll	$\mu\text{mol Chl mmol}^{-1} \text{ N}$

* “m” and “a” denote mass-based and area-based values, respectively

Introduction

During ontogeny, trees increase both in size and structural complexity. It is now established that leaf and whole plant traits change with tree size (mainly height) and age (Hoflacher and Bauer, 1982; Rijkers et al., 2000; Thomas and Winner, 2002; Mediavilla and Escudero, 2003). Tree height is known to influence structural and physiological leaf traits possibly due to hydraulic constraints imposed by increased transport distance (Niinemets, 1997a; Rijkers et al., 2000; Niinemets, 2002). In several tropical tree species, leaf mass-per-area ratio (LMA), area-based total leaf N content (N_a) and area-based light-saturated net CO_2 assimilation rate ($A_{sat,a}$) increase with tree height whereas mass-based total leaf N (N_m), mass-based light saturated net assimilation rate ($A_{sat,m}$) and photosynthetic N-use efficiency remain stable (Rijkers et al., 2000).

On the other hand, relative irradiance is well known to dramatically modify leaf traits, eliciting a large phenotypic plasticity, i.e., evidencing the capacity for a given genotype to express several phenotypes (Bradshaw, 1965). In general, shade leaves are thinner, less dense and display lower leaf mass-to-area ratios (LMA) than sun-exposed leaves (Givnish, 1988; Valladares et al., 2000; Rozendaal et al., 2006). They also exhibit lower $A_{sat,a}$ and dark respiration per leaf area ($R_{d,a}$) (Givnish, 1988; Rijkers et al., 2000). However, little is known about the modulation of irradiance-elicited plasticity by ontogeny. Many authors emphasized that, because traits vary during the course of growth and development, it is necessary to compare individuals at a common ontogenetic development stage (i.e., a common size rather than a common age) to identify environmentally induced variation in traits (Evans, 1972; Veneklaas and Poorter, 1988; Coleman et al., 1994; Poorter, 1999; Wright and McConnaughay, 2002; Poorter et al., 2006). Furthermore, growth and development rates themselves are highly plastic. Individuals grown under contrasted irradiance usually display different growth rates, and therefore reach largely different sizes at similar ages. Plasticity may therefore be confounded with ontogenetic responses (Veneklaas and Poorter, 1988). This was particularly emphasised in studies of shade tolerance (McConnaughay and Coleman, 1999; Niinemets, 2006; Lusk and Warton, 2007; Lusk et al., 2008). Wright and McConnaughay (2002) insisted on the importance of distinguishing "passive" or "apparent" plasticity (variation in a trait as a consequence of environmentally induced variation in growth), "ontogenetic" plasticity (environmentally induced variation in the ontogenetic trajectory of a trait) or "complex" plasticity resulting from the interaction of the two preceding.

The majority of studies addressing ontogenetic shifts of leaf traits used size (height, diameter or biomass) as a covariant (Sterck and Bongers, 1998; Poorter, 1999) or focused on a comparison

between very young seedlings or saplings and mature trees and did not take into account any intermediate stage (Cavender-Bares and Bazzaz, 2000; Thomas and Winner, 2002; Cornelissen et al., 2003; Mediavilla and Escudero, 2003; Holscher, 2004). A meta-analysis of field measurements in saplings vs. mature trees (Thomas and Winner, 2002) showed that A_{sat} was larger in adult trees than in saplings, especially for temperate deciduous trees. An ontogenetic increase in $LM A$ led to a decrease of A_{sat} (Thomas and Winner, 2002; Mediavilla and Escudero, 2003; Roggy et al., 2005). The observed ontogenetic effects may also be induced by differences in tree architecture: an increased structural complexity, due to branching, crown development or occurrence of flowering may have important physiological consequences on functional leaf traits. Chronological successive key stages of architectural development (ASD) have been identified with respect to the degree of structural complexity or/and to the expression of processes like branching, reiteration or sexuality (Barthelemy and Caraglio, 2007). Such stages may be reached at different dimensions for individual trees (total height or basal diameter), depending on environmental conditions (Nicolini, 1998; Nicolini et al., 2000; Roggy et al., 2005).

In the present study, we assessed the variability of leaf traits over three different $ASDs$ in individuals from two tree species growing along a natural irradiance gradient in the tropical rain forest of French Guiana. *Dicorynia guianensis* Amshoff and *Tachigali melinonii* (Harms) Barneby (Caesalpiniaceae) were selected due to their ability to establish both in the understorey and in clearings. Eleven morphological and physiological leaf traits related to photosynthesis were measured. Leaf structure was assessed from leaf mass-per-area ratio ($LM A$), leaf thickness, leaf density and nitrogen, carbon and chlorophyll contents. The semi-mechanistic photosynthesis model of Farquhar et al (1980) was used to quantify photosynthetic capacity by assessing *in vivo* apparent maximal Rubisco activity (V_{cmax}), maximal light-driven electron flux (J_{max}) and dark respiration (R_d). Photosynthetic N use efficiency was indirectly assessed by the ratios V_{cmax}/N ; J_{max}/N and Chl/N .

The main objectives of this study were: (1) to test whether structural and functional leaf traits differed among $ASDs$ in these species; (2) to quantify the plasticity of leaf traits along a natural irradiance gradient and (3) to evidence potential interactions between irradiance and ASD , i.e., to test whether irradiance-elicited plasticity differed between $ASDs$.

Material and methods

Study site and species

The study was carried out in coastal French Guiana in South America, in the lowland tropical rain-forest of the experimental site of Paracou and in nearby sites (5°18' N, 52°55' W). The climate is characterised by a wet season from December to August, interrupted during February by a short dry season, and followed by a long dry season from September to November. Average annual precipitation is 2875 ± 540 mm (mean \pm SD from 1986 to 2005) with nearly two-third received between mid-March and mid-June (Bonal et al., 2000; Baraloto et al., 2007).

Sampling

Dicorynia guianensis Amshoff and *Tachigali melinonii* (Harms) Barneby (Caesalpiniaceae) are two rather heliophilic but non-pioneer species with compound leaves (Molino and Sabatier, 2001). *D. guianensis* is generally considered to be mid-tolerant to shade (Favrichon, 1994; Roggy et al., 2005). Individuals were selected at three different architectural stages of development (*ASD*): (1) saplings with un-branched main stem (*ASD* 1); (2) saplings with a sparsely branched main stem (order 2 axes remain unbranched, *ASD* 2) and (3) immature trees with an abundantly and regularly branched main stem (*ASD* 3, Fig. 1). In the latter case, secondary axes are present; this stage follows the “architectural metamorphosis” during which the tree evolves from a system organised around a single main axis to a system organised around several major branches (Barthelemy and Caraglio, 2007). For more details, see descriptions in Roggy et al. (2005). 23 individuals were sampled for *D. guianensis* and 47 for *T. melinonii*. Measurements were made from July to August 2000 for *D. guianensis* and during March and April 2003 for *T. melinonii*. The dimensions of individuals at the different *ASDs* differed severely between the two species, and in general *D. guianensis* displayed a larger height at any given *ASD* than *T. melinonii* (Fig. 2).

Daily photon flux (*DPF*) was measured with amorphous silicon quantum sensors for photosynthetically active radiation (PAR CBE 80 Solems S.A., Palaiseau, France). *DPF* was measured close to each sapling (or group of saplings) at the level of the measured leaf, and compared to a reference sensor located in a clearing that produced an estimate of the incident irradiance above the canopy. Measurements were made over 30 consecutive days from July 20 to August 18, 2000 for *D. guianensis* and over at least 3 days per individual for *T. melinonii* during March, April 2003 and January 2004. Values of *DPF* ranged from 0.05 to $36.7 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ among

individuals. For each individual, relative DPF (DPF_{rel} , % of full irradiance) was computed as the ratio of the average local and above canopy DPF .

Gas exchange measurements

Leaf gas exchange was measured with a portable gas exchange system (CIRAS-1, PP-Systems, Hitchin, U.K.) equipped with a Parkinson leaf chamber (2.5 cm²). All measurements were performed on young, fully expanded leaves selected on top of the main axis, usually on the second-last growth unit of the main shoot. A halogen lamp (Philips 12 V, 20 W) yielded a saturating photosynthetic photon flux density ($PPFD$) of 700 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Air temperature in the leaf chamber and water vapor pressure deficit at the leaf surface were kept as stable as possible, but nevertheless varied significantly because of changes in the external microclimate (means \pm SD, 29 ± 1.5 °C and 1.6 ± 0.2 kPa, respectively). To compensate for differences in temperature during measurements, all parameters were scaled to a common reference temperature (T_{ref}) of 25 °C (298.15 K). Because of the lack of data for tropical tree species, we used the temperature responses computed by Dreyer et al. (2001) for seedlings of temperate forest species (Tab. 1). For each leaf, a full $A-C_i$ curve was recorded, after induction under saturating irradiance for at least 20 min, by stepwise changes of CO_2 mole fraction in the air between 1800 and 50 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ (5-min stabilization at each step and three successive measurements at 1-min intervals to check for stability). At least 12 measurement steps were used for each response curve. Dark respiration, R_d , was recorded after 5 min in the dark by switching-off illumination.

Estimating photosynthetic capacity

We used the Harley et al. (1992) version of Farquhar's biochemical model of leaf photosynthesis (Farquhar et al., 1980) in which net CO_2 assimilation rate (A ; $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) is expressed as:

$$A = V_c - 0.5V_o - R_d \quad (1)$$

where V_c is Ribulose-bisphosphate (RuBP) carboxylation rate, V_o is RuBP oxygenation rate and R_d corresponds to CO_2 production by non-photorespiratory respiration in the mitochondria. $A-C_i$ curves were used to estimate: (1) V_{cmax} , the maximal rate of RuBP carboxylation, i.e., the potential activity of Rubisco in the absence of limitation by CO_2 availability and photorespiration and (2) J_{max} , the maximal light-driven electron flux. For a detailed description of the equation set, see Le Roux et al. (1999). Primary model parameters and their temperature dependencies are listed in

Table 1. The rate limitation by triose-phosphate availability was not estimated. Internal conductance to CO₂ transfer, g_i (Ethier and Livingston, 2004; Warren, 2006) was assumed to be infinite and the reported values of V_{cmax} (and to a lesser extent J_{max}) should therefore be considered as apparent- V_{cmax} including a g_i component. Real values of V_{cmax} were probably significantly larger. For each individual, a non-linear least-squares regression (Newton method, ProcNLIN, SAS v.8.1, SAS Institute Inc., Cary, NC) was used to estimate V_{cmax} and J_{max} by fitting the $A-C_i$ curves to model equations as described by Le Roux et al. (1999).

Leaf structure and chemistry

After gas exchange measurements, leaves were harvested and their area measured using an electronic area meter (LiCor 3000A, LiCor Inc., Lincoln, NE). Thickness of each *T. melinonii* leaf was obtained as the mean of three measurements with a digital micrometer (Digimatic micrometer, Mitutoyo, Japan), care being taken to avoid the main veins. For *D. guianensis* samples, leaf thickness was estimated from anatomical samples (see Roggy et al., 2005). Leaf dry mass was recorded after drying for 48 h at 60 °C. Total N (N_m) and C per unit leaf dry mass (C_m) were measured with an elemental analyzer (NA 1500 NCS, Carlo Erba, Italy and SCA, CNRS Solaize, France for *T. melinonii* and *D. guianensis*, respectively). Values of LMA , N_a and leaf density ($LMA/\text{thickness}$) were derived from these data. A portable chlorophyll meter SPAD-502 (Minolta, Osaka, Japan) was used to estimate chlorophyll content on an area basis (Chl_a). A calibration curve relating SPAD measurements and chlorophyll content was established for *T. melinonii* (appendix 1). Chlorophyll content was not available for *D. guianensis*.

Indirect estimates of photosynthetic nitrogen use efficiency ($PNUE$) were computed as the ratio between photosynthetic capacity and total leaf N content (in molar units), as V_{cmax}/N , J_{max}/N and Chl/N .

Statistical analysis

All statistical analyses were performed with STATISTICA (Kernel Version 6.0, StatSoft, Tulsa, OK, USA). Data were log-transformed to respect the required data normality and variance homogeneity, as indicated in Table and Figure legends. One-way ANCOVA, with ASD as main factor and relative irradiance (DPF_{rel} , %) as covariant, was applied for each of the two species. Homogeneity of regression slopes with relative irradiance was tested. When no significant difference was detected, then the interaction term was removed from the model. Inter-specific

differences were assessed using adjusted means obtained after elimination of the covariant effect. For *D. guianensis*, we tested only the effect of *ASD* 1 and *ASD* 2. Results of an ANCOVA with *ASD* 1 and *ASD* 2 only are displayed in appendix 2 for *T. melinonii*. All statistical relationships were considered significant at $P < 0.05$.

Results

Size and architectural stage of development (ASD)

Height of the saplings ranged from 71 to 1950 cm for *Dicorynia guianensis* and from 30 to 732 cm for *Tachigali melinonii*. At all irradiance levels and ASDs, *D. guianensis* was higher than *T. melinonii* (Fig. 2). As expected, height (H , cm) and basal diameter (D , cm) increased with successive ASDs. Within a given ASD, larger relative daily photon flux (DPF_{rel}) induced in general a decreased height (Fig. 3) and increased D , resulting in severely declining H/D in the two species (not shown). In ASD 1, the saplings of *T. melinonii* were very small and their dimension displayed no clear response to DPF_{rel} .

Effect of successive stages of architectural development (ASD)

Mean values of leaf traits adjusted to a common irradiance and for different ASDs are synthesized in Figure 4. In the two species, ASD had a significant impact on several traits, but the impact was larger in *T. melinonii* than in *D. guianensis*. This was not due to the fact that we had only 2 ASDs in the latter and 3 in the former case. Differences observed among ASDs were maintained in *T. melinonii* when ASD 3 was removed from the analysis (appendix 2).

In the case of *T. melinonii*, LMA, density and thickness increased from ASD 1 to 3 as did mass-based nitrogen content (N_m). As a consequence, area-based photosynthetic capacity ($V_{cmax,a}$ and $J_{max,a}$) and respiration (R_d,a) increased from ASD 1 to 3, as did, albeit to a lesser extent, mass-based photosynthetic capacity ($V_{cmax,m}$ and $J_{max,m}$). Photosynthetic nitrogen use efficiency (PNUE, i.e., V_{cmax}/N and J_{max}/N) was not affected by ASD, which shows that the increase of photosynthetic capacity was driven by increased N availability and not by a shift of N allocation towards photosynthesis (Tab.2).

In the case of *Dicorynia guianensis*, leaf thickness, density, total leaf N (N_a and N_m) and leaf C content (C_m) remained stable in the two ASDs. The ratio J_{max}/V_{cmax} increased from ASD 1 to ASD 2, reflecting a slight increase of J_{max} with a constant V_{cmax} . Photosynthetic N use efficiency (V_{cmax}/N and J_{max}/N) remained stable (Tab. 3).

DPF_{rel} and architectural development stage (ASD) effects.

The interactions between DPF_{rel} and ASD s were analysed separately in the two species with an ANCOVA assessing the effect of ASD (factor) and DPF_{rel} (covariant; Tab. 2 and 3). For most traits, the impact of ASD was smaller than that of DPF_{rel} . The small level of interactions between species and DPF_{rel} shows that irradiance-elicited plasticity was of similar extent in the two species (Fig. 5).

In the case of *T. melinonii*, the responses of leaf traits to DPF_{rel} were as expected a large increase of LMA and its components density and thickness, an increase of area-based photosynthetic capacity and leaf N content (Fig. 5). Mass based photosynthetic capacity did not change with DPF_{rel} confirming that modulation of LMA and nitrogen content per area (N_a) were the main drivers of the effects of DPF_{rel} on photosynthesis. As a consequence, $PNUE$ increased slightly with increases in DPF_{rel} (Tab. 2, Fig. 5). Only few interactions were detected between ASD and DPF_{rel} : thickness, C_m and Chl/N displayed such interactions that resulted in only minor changes in the relationship with DPF_{rel} at a given ASD (Fig. 6).

In the case of *Dicorynia guianensis*, DPF_{rel} affected all leaf traits except area based photosynthetic capacity and photosynthetic N use efficiency. LMA and to a lesser extent, leaf thickness, density and total leaf N content significantly increased along the DPF_{rel} gradient (Fig. 5). Leaf C content (C_m) was unaffected by DPF_{rel} and by ASD (Tab. 3). The relationship between $V_{cmax}a$ and DPF_{rel} differed according to ASD : $V_{cmax}a$ ranged from 21.5 to 31.5 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ in ASD 2 whereas no plasticity was detected in ASD 1 (Fig. 7). Mass-based photosynthetic capacities ($V_{cmax}m$, $J_{max}m$) increased with DPF_{rel} while R_{dm} decreased. Photosynthetic N use efficiency (V_{cmax}/N and J_{max}/N) remained unaffected by DPF_{rel} (Tab. 3).

Discussion

Throughout the course of growth and development, an individual tree increases in size and complexity. Here we focused on the potential effects on leaf traits, of increasing structural complexity, as described by successive stages of architectural development (*ASD*), although we are aware that dimension, size and structural complexity are tightly inter-related properties. Moreover, the time-course of successive *ASD* may be modulated by environment, with faster sequences under favourable conditions for growth (Barthelemy and Caraglio, 2007). Branching and crown development occur usually later and at a larger height in the understorey than in open areas. Consequently, a given *ASD* can be reached at different total heights and at different chronological ages depending on environmental conditions (Nicolini et al., 2000; Roggy et al., 2005). In our case, it was unfortunately impossible to retrospectively estimate the real age of the sampled saplings and we were unable to correlate *ASD* and age.

Differences in leaf traits among ontogenetic stages

Structural and physiological leaf traits were affected by ontogeny (*i.e.*, *ASD*) in *Tachigali melinonii* and in *Dicorynia guianensis*. Leaf mass-to-area ratio (*LMA*) is well-known to display large ontogenetic shifts as well as irradiance-elicited plasticity (e.g. Niinemets, 1999a; Thomas and Winner, 2002; Niinemets, 2006; Lusk and Warton, 2007). Indeed, increases in *LMA* with increasing tree age or size are well documented (Thomas and Winner, 2002; Mediavilla and Escudero, 2003; Roggy et al., 2005; Portsmouth and Niinemets, 2007). In the present study we observed a significant increase of *LMA* with the sequence of *ASDs* in juvenile *T. melinonii* and to a lesser extent in *D. guianensis*. Such variation in *LMA* could be related to an ontogenetic increase in lamina size associated to greater investment in structural support (Lusk and Warton, 2007 and references therein). Kenzo et al (2006) has similarly evidenced that palisade layer thickness increases as plants grow taller in some dipterocarp species. In *T. melinonii*, the two components of *LMA*, leaf thickness and density, both increased with *ASD* whereas no change was detected in *D. guianensis*. The origins of the ontogenetic variation in *LMA* are still poorly known. Increased structural complexity due to the occurrence of branching at early stages in tree life, may induce restrictions to water supply to leaves due to enhanced hydraulic resistances; this is particularly the case for trees as compared to saplings (Niinemets, 2002; Thomas and Winner, 2002). The occurrence of such limitations is less obvious at young stage, but to our knowledge, the impact of successive *ASDs* on hydraulic properties has never been addressed.

In general, the ontogenetic increase in *LMA* is paralleled by a decrease of mass-based assimilation rates (Niinemets, 2002; Thomas and Winner, 2002; Mediavilla and Escudero, 2003; Roggy et al., 2005). In the two studied species, photosynthetic capacity changed with *ASD*. As an indication, the area-based apparent maximal carboxylation rate ($V_{\text{cmax}a}$) ranged from 25 to 41 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ for *T. melinonii* and from 20 to 26 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ for *D. guianensis*. The effect of ontogeny on mass-based photosynthetic capacity ($V_{\text{cmax}m}$ and $J_{\text{max}m}$) was much smaller confirming that, when they occurred, changes in $V_{\text{cmax}a}$ and $J_{\text{max}a}$ were mainly driven by the structural adjustments like variations in *LMA*. Parallel to photosynthetic capacities, total leaf N content, N_m strongly increased with ontogenetic stages for *T. melinonii* whereas it remained constant for *D. guianensis*. As a consequence, photosynthetic N use efficiency, measured here as the ratio of V_{cmax}/N and J_{max}/N , was maintained among *ASDs*. The slight decline of the ratio Chl/N was mainly due to increasing N content, whereas Chl_m did not differ among *ASDs* (for *T. melinonii*). This again supports the hypothesis of a predominant effect of *LMA* on the increase in photosynthetic capacity, with no change in relative allocation of nitrogen to photosynthesis.

We noted that the two parameters, V_{cmax} and J_{max} increased in parallel, leading to a preservation of the ratio among the three stages for *T. melinonii*. For *D. guianensis*, the ratio $J_{\text{max}}/V_{\text{cmax}}$ slightly increased from *ASD* 1 to *ASD* 2. Such a variability may be associated with the method used to estimate the two parameters. Indeed, to estimate V_{cmax} and J_{max} , we assumed an infinite value of internal leaf conductance (g_i) whereas recent studies have shown that g_i is not negligible and may result in a significant underestimation of V_{cmax} (Ethier and Livingston, 2004).

Because *ASD* 3 was removed from the analysis in the case of *D. guianensis*, the interpretation of the observed inter-specific differences in the evolution of leaf traits with ontogeny requires some caution. The differences observed among *ASDs* for *T. melinonii* were still visible when *ASD* 3 was excluded from the analysis, confirming that ontogenetic changes were larger in *T. melinonii* than in *D. guianensis*. This may indicate that ontogenetic events like the development of branching do not have systematic effects on leaf traits in all species. Nevertheless, it remains difficult to clearly separate *ASD* effects from size effects. Furthermore, as differences between adults and saplings are quite visible we may hypothesize that variations in leaf structure or physiology may occur later during ontogeny in *D. guianensis* (with the development of a complex crown for instance), but our data did not allow to test such a hypothesis.

Differences in irradiance-induced plasticity of leaf traits among ontogenetic stages

Effects of irradiance on leaf traits are a well known occurrence and as expected, irradiance affected a majority of structural and physiological leaf traits (Givnish, 1988; Valladares et al., 2000; Rozendaal et al., 2006). However, as leaf traits also varied with ontogenetic stages, interactions between phenotypic plasticity and ontogenetic shifts may occur (Wright and McConnaughay, 2002). In other words, irradiance-elicited plasticity could differ among *ASDs*.

Confirming numerous earlier observations, *LMA*, leaf thickness and density increased with increasing relative irradiance (Popma et al., 1992; Rijkers et al., 2000; Valladares et al., 2000; Rozendaal et al., 2006). Total leaf N, N_m , decreased along the irradiance gradient while a relative stability was expected from the literature (Ellsworth and Reich, 1993; Niinemets, 1997b; Niinemets and Kull, 1998; Rijkers et al., 2000) however this result fits with observations on co-occurring species of French Guiana grown in an experimental shade-house (Coste et al. in prep.). Consequently, the apparent increase of N_a was mainly due to a large plasticity of *LMA*. Shade leaves generally display also higher Chl_m (e.g. Poorter et al., 1995; Rijkers et al., 2000) which was confirmed here as, despite the large increase of *LMA*, Chl_a also significantly decreased with irradiance level. Plasticity of total leaf C content, C_m , differed among the species. Thus C_m tended to increase for *T. melinonii* while it remained constant with irradiance (as with ontogeny) for *D. guianensis*. This result is consistent with the significant interspecific-diversity of irradiance-elicited plasticity of leaf specific construction costs (strongly related to C_m) put in evidence in co-occurring species (Coste et al. in prep).

It is generally accepted that area-based photosynthetic capacity increases with irradiance (Givnish, 1988; Rijkers et al., 2000), mainly as a consequence of structural adjustment (Niinemets, 1999a; Roggy et al., 2005) which was confirmed by our results. Globally, the leaves of the two species displayed a similar plasticity. However, we noted that mass-based photosynthetic capacity ($V_{\text{cmax}m}$, $J_{\text{max}m}$ and $R_{\text{d}m}$) of *T. melinonii* was not affected by irradiance whereas it significantly decreased with increasing irradiance for *D. guianensis*. Plasticity of *PNUE* also differed between the two species: both V_{cmax}/N and J_{max}/N increased with irradiance for *T. melinonii* whereas no effect was observed for *D. guianensis*.

Globally, irradiance-elicited plasticity remained constant among *ASDs* for both species, i.e., interaction effect between relative irradiance and ontogeny were small if any. Surprisingly, we noted that leaf thickness of *T. melinonii* was independent of irradiance in *ASD* 1. Nevertheless, this result, although difficult to interpret, suggests that at this stage, increases of *LMA* with

irradiance were mainly driven by changes in leaf density. However, like leaf thickness, leaf C content did not vary with irradiance level in *ASD* 1. As a consequence no correlation was detected between leaf density and C_m which contradicts earlier observations (Coste et al., 2005) and the hypothesis that high leaf density may be partly associated with the presence of sclerenchymatous tissues with high lignin contents (Niinemets and Kull, 1998; Niinemets, 1999b). The amplitude of the plastic response of Chl/N slightly declined in *ASD* 3 in comparison to *ASD* 1 and *ASD* 2 which is related to a slower decrease of Chl_m with irradiance in this stage. For *D. guianensis*, it was area-based maximal carboxylation rate, $V_{cmax,a}$, which was not affected by irradiance for leaves in younger *ASD*.

As interactions among *ASD*_s and irradiance level were scarce, differences among species were globally maintained along ontogeny and light gradients. This result, obtained with only two shade-intolerant species, does not support the hypothesis that the ranking of species for a given trait may vary with ontogeny and irradiance level. Recent work has however suggested that differences could be detected between species with different levels of shade tolerance (Niinemets, 2006; Lusk and Warton, 2007; Lusk et al., 2008). Nevertheless, we showed that differences in leaf traits could occur even among young stages of development for some species. In particular, not differentiating unbranched and branched saplings could lead to wrong interpretations of the observed variability. Our results point to the importance of taking into account the stage of development when studying interspecific diversity and irradiance-elicited plasticity.

Acknowledgments

S. Coste was supported by a PhD grant from the French ministry for higher education and research, and by a grant for technical cooperation in overseas regions of France. The authors are indebted to Jacqueline Marchand for carbon and nitrogen analyses and to Pascal Imbert and Julien Bachelier for their help throughout the experiment. Particular thanks are due to Meriem Fournier, head of the UMR Ecofog, for continuous support and encouragement.

References

- Baraloto C., Morneau F., Bonal D., Blanc L. and Ferry B., 2007. Seasonal water stress tolerance and habitat associations within four neotropical tree genera. *Ecology* 88: 478-489.
- Barthelemy D. and Caraglio Y., 2007. Plant architecture: A dynamic, multilevel and comprehensive approach to plant form, structure and ontogeny. *Ann. Bot.* 99: 375-407.
- Bonal D., Sabatier D., Montpied P., Tremeaux D. and Guehl J.M., 2000. Interspecific variability of $\delta^{13}\text{C}$ among trees in rainforests of French Guiana: functional groups and canopy integration. *Oecologia* 124: 454-468.
- Bradshaw A.D., 1965. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Adv. Genet.* 13: 115-155.
- Cavender-Bares J. and Bazzaz F.A., 2000. Changes in drought response strategies with ontogeny in *Quercus rubra*: implications for scaling from seedlings to mature trees. *Oecologia* 124: 8-18.
- Coleman J.C., MCCAughay K.D.M. and D.D A., 1994. Interpreting phenotypic variation in plants. *Trends Ecol. Evol.* 9: 187-191.
- Cornelissen J.H.C., Cerabolini B., Castro-Díez P., Villar-Salvador P., Montserrat-Martí G., Puyravaud J.P., Maestro M., Werger M.J.A. and Aerts R., 2003. Functional traits of woody plants: correspondence of species rankings between field adults and laboratory-grown seedlings? *J. Veg. Sci.* 14: 311-322.
- Coste S., Roggy J.-C., Imbert P., Born C., Bonal D. and Dreyer E., 2005. Leaf photosynthetic traits of 14 tropical rain forest species in relation to leaf nitrogen concentration and shade tolerance. *Tree Physiol.* 25: 1127-1137.
- Dreyer E., Le Roux X., Montpied P., Daudet F.A. and Masson F., 2001. Temperature response of leaf photosynthetic capacity in seedlings from seven temperate tree species. *Tree Physiol.* 21: 223-232.
- Ellsworth D.S. and Reich P.B., 1993. Canopy structure and vertical patterns of photosynthesis and related leaf traits in a deciduous forest. *Oecologia* 96: 169-178.
- Ethier G.J. and Livingston N., 2004. On the need to incorporate sensitivity to CO_2 transfer conductance into the Farquhar–von Caemmerer–Berry leaf photosynthesis model. *Plant Cell Environ.* 27: 137–153.

- Evans G.C., 1972. *The Quantitative Analysis of Plant Growth*, University of California Press, CA.
- Farquhar G.D., von Caemmerer S. and Berry J.A., 1980. A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. *Planta* 149: 78-90.
- Favrignon V., 1994. Classification des espèces arborées en groupes fonctionnels en vue de la réalisation d'un modèle de dynamique de peuplement en forêt guyanaise. *Rev. Ecol. (Terre et Vie)* 49: 379-403.
- Givnish T.J., 1988. Adaptation to sun and shade: A whole plant perspective. *Aust. J. Plant. Physiol.* 15: 63-92.
- Harley P.C., Thomas R.B., Reynolds J.F. and Strain B.R., 1992. Modelling photosynthesis of cotton grown in elevated CO₂. *Plant Cell Environ.* 15: 271-282.
- Hoflacher H. and Bauer H., 1982. Light acclimation in leaves of the juvenile and adult life phases of ivy (*Hedrea helix*). *Physiol. Plantarum* 56: 177-182.
- Holscher D., 2004. Leaf traits and photosynthetic parameters of saplings and adult trees of co-existing species in a temperate broad-leaved forest. *Bas. App. Ecol.* 5: 163-172.
- Kenzo T., Ichie T., Watanabe Y., Yoneda R., Ninomiya I. and Koike T., 2006. Changes in photosynthesis and leaf characteristics with tree height in five dipterocarp species in a tropical rain forest. *Tree Physiol.* 26: 865-873.
- Le Roux X., Grand S., Dreyer E. and Daudet F.A., 1999. Parameterization and testing of a biochemically based photosynthesis model for walnut trees (*Juglans regia*) and seedlings. *Tree Physiol.* 19: 481-492.
- Lusk C.H., Falster D.S., Jara-Vergara C.K., Jimenez-Castillo M. and Saldana-Mendoza A., 2008. Ontogenetic variation in light requirements of juvenile rainforest evergreens. *Funct. Ecol.* 22: 454-459.
- Lusk C.H. and Warton D.I., 2007. Global meta-analysis shows that relationships of leaf mass per area with species shade tolerance depend on leaf habit and ontogeny. *New Phytol.* 176: 764-774.
- McConnaughay K.D.M. and Coleman J.S., 1999. Biomass allocation in plants: ontogeny or optimality? A test along three resource gradients. *Ecology* 80: 2581-2593.

- Mediavilla S. and Escudero A., 2003. Mature trees versus seedlings: Differences in leaf traits and gas exchange patterns in three co-occurring Mediterranean oaks. *Ann. For. Sci.* 60: 455-460.
- Molino J.-F. and Sabatier D., 2001. Tree diversity in tropical rain forests: A validation of the intermediate disturbance hypothesis. *Science* 294: 1702-1704.
- Nicolini E., 1998. Architecture et gradients morphogénétiques chez de jeunes hêtres (*Fagus sylvatica* L. Fagaceae) en milieu forestier. *Can. J. Bot.* 76: 1232-1244.
- Nicolini E., Barthélémy D. and Heuret P., 2000. Influence de la densité du couvert forestier sur le développement architectural de jeunes chênes sessiles, *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. (Fagaceae), en régénération forestière. *Can. J. Bot.* 78: 1531-1544.
- Niinemets Ü., 1997a. Distribution patterns of foliar carbon and nitrogen as affected by tree dimensions and relative light conditions in the canopy of *Picea abies*. *Trees* 11: 144-154.
- Niinemets Ü., 1997b. Role of foliar nitrogen in light harvesting and shade tolerance of four temperate deciduous woody species. *Funct. Ecol.* 11: 518-531.
- Niinemets Ü., 1999a. Components of leaf dry mass per area - thickness and density - alter leaf photosynthetic capacity in reverse directions in woody plants. *New Phytol.* 144: 35-47.
- Niinemets Ü., 1999b. Energy requirement for foliage formation is not constant along canopy light gradients in temperate deciduous trees. *New Phytol.* 141: 459-470.
- Niinemets Ü., 2002. Stomatal conductance alone does not explain the decline in foliar photosynthetic rates with increasing tree age and size in *Picea abies* and *Pinus sylvestris*. *Tree Physiol.* 22: 515-535.
- Niinemets Ü., 2006. The controversy over traits conferring shade-tolerance in trees: ontogenetic changes revisited. *J. Ecol.* 94: 464-470.
- Niinemets Ü. and Kull O., 1998. Stoichiometry of foliar carbon constituents varies along light gradients in temperate woody canopies: implications for foliage morphological plasticity. *Tree Physiol.* 18: 467-479.
- Poorter L., 1999. Growth responses of 15 rain-forest tree species to a light gradient: the relative importance of morphological and physiological traits. *Funct. Ecol.* 13: 396-410.
- Poorter L., Bongers L. and Bongers F., 2006. Architecture of 54 moist-forest tree species: Traits, trade-offs, and functional groups. *Ecology* 87: 1289-1301.

- Poorter L., Oberbauer S.F. and Clark D.B., 1995. Leaf optical properties along a vertical gradient in a tropical rain forest canopy in Costa Rica. *Am. J. Bot.* 82: 1257–1263.
- Popma J., Bongers F. and Werger M.J.A., 1992. Gap-dependence and leaf characteristics of trees in a tropical lowland rain forest in Mexico. *Oikos* 63: 207-214.
- Portsmuth A. and Niinemets U., 2007. Structural and physiological plasticity in response to light and nutrients in five temperate deciduous woody species of contrasting shade tolerance. *Funct. Ecol.* 21: 61-77.
- Rijkers T., Pons T.L. and Bongers F., 2000. The effect of tree height and light availability on photosynthetic leaf traits of four neotropical species differing in shade tolerance. *Funct. Ecol.* 14: 77-86.
- Roggy J.-C., Nicolini E., Imbert P., Caraglio Y., Bosc A. and Heuret P., 2005. Links between tree structure and functional leaf traits in the tropical forest tree *Dicorynia guianensis* Amshoff (Caesalpinaceae). *Ann. For. Sci.* 62: 553-564.
- Rozendaal D.M.A., Hurtado V.H. and Poorter L., 2006. Plasticity in leaf traits of 38 tropical tree species in response to light; relationships with light demand and adult stature. *Funct. Ecol.* 20: 207-216.
- Sterck F.J. and Bongers F., 1998. Ontogenetic changes in size, allometry, and mechanical design of tropical rain forest trees. *Am. J. Bot.* 85: 266-272.
- Thomas S.C. and Winner W.E., 2002. Photosynthetic differences between saplings and adult trees: an integration of field results by meta-analysis. *Tree Physiol.* 22: 117–127.
- Valladares F., Wright S.J., Lasso E., Kitajima K. and Pearcy R.W., 2000. Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a Panamanian rainforest. *Ecology* 81: 1925-1936.
- Veneklaas E.J. and Poorter L., 1988. Growth and carbon partitioning of tropical tree seedlings in contrasting light environments. In H. Lambers, H. Poorter and M. Van Vuuren (Ed.), *Inherent Variation in Plant Growth: Physiological Mechanisms and Ecological Consequences.* , Backhuys publishers, Leiden, The Netherlands, pp. 337-355.
- Warren C.R., 2006. Estimating the internal conductance to CO₂ movement. *Funct. Plant Biol.* 33: 431-442.
- Wright S.D. and McConnaughay K.D.M., 2002. Interpreting phenotypic plasticity: the importance of ontogeny. *Plant Spe. Biol.* 17: 119-131.

Tables

Table 1. Primary parameters of the photosynthesis model used in this work. For details, see Dreyer et al. (2001).

Parameters	Value	Unit
α	0.24	mol electrons mol ⁻¹ photons
K_c (25°C)	40	Pa
ΔH_a (K_c)	70 000	J mol ⁻¹
K_o (25°C)	25 000	Pa
ΔH_a (K_o)	15 000	J mol ⁻¹
τ (25°C)	2 710	–
ΔH_a (τ)	-29 000	J mol ⁻¹
ΔH_a (V_{cmax}) ¹	73 000	J mol ⁻¹
ΔH_a (J_{max}) ¹	57 900	J mol ⁻¹
ΔH_a (R_d) ¹	32 000	J mol ⁻¹

¹ mean value of ΔH_a from seven temperate tree species (Dreyer et al., 2001).

Table 2. Results of a one-way Ancova with architectural stage of development ($ASD = 3$) as main factor and relative irradiance (DPF_{rel} , %) as covariant for *Tachigali melinonii*. F -values, levels of significance (P) and coefficients of determination (r^2) of the model are given. DPF_{rel} , H , D , LMA , N_a and J_{maxa} were log-transformed prior to analysis. Values of adjusted means (\pm Standard Error) at a common DPF_{rel} of 30% are given for the three ASD s. Different letters indicate significant differences of means. C_m and thickness were analyzed with a separate slope model. V_{cmaxm} , J_{maxm} and R_{dm} were not linearly correlated with DPF_{rel} and thus they were analyzed with a one way ANOVA. Significance levels: ns, $P > 0.05$; *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$ and ***, $P < 0.001$.

	ASD	DPF_{rel}	$DPF_{rel} \times ASD$	model	$ASD1$	$ASD2$	$ASD3$
	F	F	F	r^2	$n = 20$	$n = 16$	$n = 11$
H	226***	–	15.9***	0.96	22.8 \pm 15a	238 \pm 17b	548 \pm 21c
D	72.6***	–	23.0***	0.94	1.02 \pm 0.2a	1.83 \pm 0.2b	5.42 \pm 0.3c
Structural traits							
LMA	26.5***	183***	–	0.88	59.3 \pm 1.8a	68.9 \pm 1.9b	77.6 \pm 2.5c
thickness	8.63***	–	121***	0.55	144 \pm 6.1ab	148 \pm 6a	152 \pm 7.6b
density	19***	90.9***	–	0.80	0.41 \pm 0.02a	0.47 \pm 0.02b	0.50 \pm 0.02c
N_a	76.4***	20.3***	–	0.84	1.26 \pm 0.05a	1.82 \pm 0.05b	2.33 \pm 0.06c
N_m	38.6***	102***	–	0.77	21.8 \pm 0.8a	27.4 \pm 0.8b	31.7 \pm 1.1b
C_m	18.3***	–	9.35***	0.75	481 \pm 2.6a	498 \pm 2.5b	504 \pm 3.2c
Chl_a	24.3***	52.1***	–	0.65	527 \pm 31a	675 \pm 33b	840 \pm 42b
Chl_m	1.9 ns	189***	–	0.82	10.6 \pm 0.9	10.9 \pm 1	12.8 \pm 1.2
Physiological traits							
V_{cmaxa}	49.7***	98***	–	0.86	25.3 \pm 1a	35.2 \pm 1.3b	41.5 \pm 1.6c
J_{maxa}	40.2***	176***	–	0.89	41.6 \pm 2a	56.6 \pm 2.4b	63.5 \pm 3c
R_{da}	3.44*	18.1***	–	0.45	1.46 \pm 0.2a	1.88 \pm 0.2ab	2 \pm 0.2b
V_{cmaxm}	6.85**	ns	–	0.24	430 \pm 23a	526 \pm 18b	535 \pm 30b
J_{maxm}	5.40**	ns	–	0.20	678 \pm 31a	819 \pm 35b	839 \pm 60b
R_{dm}	0.62 ns	ns	–	0.03	23.8 \pm 2.7	27.8 \pm 3	27.4 \pm 2.7
J_{max}/V_{cmax}	1.15 ns	7.76**	–	0.16	1.64 \pm 0.05	1.58 \pm 0.05	1.50 \pm 0.06
V_{cmax}/N	1.29 ns	22.4***	–	0.34	0.28 \pm 0.02	0.27 \pm 0.02	0.24 \pm 0.02
J_{max}/N	2.76 ns	49.7***	–	0.54	0.45 \pm 0.02	0.43 \pm 0.02	0.37 \pm 0.03
Chl/N	9.06**	–	56.3***	0.85	6.45 \pm 0.3a	5.33 \pm 0.3b	5.54 \pm 0.4c

Table 3. Results of a one-way Ancova with architectural stage of development (*ASD* 1 and *ASD* 2) as main factor and relative *DPF* (DPF_{rel} , %) as covariant applied to *Dicorynia guianensis*. *F*-value, level of significance (*P*) and coefficient of determination (r^2) of the model are given. DPF_{rel} , *H*, *D* and J_{max} were log-transformed prior to analysis. Values of adjusted means (\pm Standard error) at a reference DPF_{rel} of 33.5% are given. V_{cmax} was analyzed with a separate slope model. *D*, C_m , J_{max} , J_{max}/V_{cmax} , V_{cmax}/N and J_{max}/N were not linearly correlated with DPF_{rel} and thus they were analyzed with a one way ANOVA. Significance levels: ns, $P > 0.05$; *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$ and ***, $P < 0.001$.

	<i>ASD</i>	DPF_{rel} (%)	DPF_{rel} x <i>ASD</i>	model	<i>ASD</i> 1	<i>ASD</i> 2
	<i>F</i>	<i>F</i>	<i>F</i>	r^2	<i>n</i> = 10	<i>n</i> = 9
<i>H</i>	110***	66.0***	–	0.92	151 \pm 14	381 \pm 15
<i>D</i>	74.4***	ns	–	0.81	1.74 \pm 0.1	3.24 \pm 0.1
Structural traits						
<i>LMA</i>	7.78*	164***	–	0.91	59.4 \pm 1.7	64.1 \pm 1.8
thickness	2.99 ns	30***	–	0.67	204 \pm 6.5	219 \pm 6.9
density	0.16 ns	25.7***	–	0.62	0.29 \pm 0.01	0.29 \pm 0.01
N_a	4.13 ns	5.84*	–	0.37	1.29 \pm 0.1	1.56 \pm 0.1
N_m	0.66 ns	12.5**	–	0.46	22.9 \pm 1.4	24.9 \pm 1.5
C_m	0.3 ns	ns	–	0.02	500 \pm 7.6	502 \pm 5.9
Physiological traits						
V_{cmax} _a	0.01 ns	–	11.7***	0.77	20.5 \pm 0.8	25.9 \pm 0.8
J_{max} _a	13.1**	ns	–	0.44	30.2 \pm 0.9	41 \pm 3
R_{qa}	6.87*	160***	–	0.91	0.60 \pm 0.04	0.38 \pm 0.04
V_{cmax} _m	3.79 ns	32.3***	–	0.70	367 \pm 16	422 \pm 17
J_{max} _m	6.24*	21.2***	–	0.64	544 \pm 27	662 \pm 29
R_{qm}	13.6**	89.2***	–	0.87	8.92 \pm 0.7	4.92 \pm 0.7
J_{max}/V_{cmax}	6.4*	ns	–	0.27	1.48 \pm 0.02	1.57 \pm 0.03
V_{cmax}/N	0.14 ns	ns	–	0.01	0.23 \pm 0.05	0.24 \pm 0.05
J_{max}/N	0.94 ns	ns	–	0.05	0.34 \pm 0.03	0.38 \pm 0.03

Figure Captions

Figure 1. Architectural stages of development (*ASD*) of *Dicorynia guianensis* (DG) and *Tachigali melinonii* (TM): *ASD1*: saplings with un-branched main stem; *ASD2*: saplings with sparsely branched main stem (order 2 axes remain un-branched); *ASD3*: immature trees (diamonds: sequential axes; crosses: reiterated axes). For a complete description of the different *ASDs*, see Material and methods.

Figure 2. Effects of architectural stages of development (*ASD* 1 to 3) on height (*H*, cm) for *T. melinonii* (white) and *D. guianensis* (black). Values are least squares means (\pm Standard error) adjusted to a common DPF_{rel} of 26.1 %. Differences were tested with the multiple comparisons post-hoc test of Tukey ($P < 0.05$) and significant differences are indicated by different letters.

Figure 3. Relationships between height (*H*, cm) and relative daily photon flux ($\log DP_{rel}$) for the three architectural stages of development (*ASD* 1, white dots, *ASD* 2 grey diamonds and *ASD* 3 black dots) and for two species (*T. melinonii* and *D. guianensis*). Regression equations, level of significance (*P*) and coefficient of determination (r^2) are indicated for statistically significant linear regressions. Significance levels: ns, $P > 0.05$; *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$ and ***, $P < 0.001$.

Figure 4. Effects of architectural stages of development (*ASD* 1 to 3) on leaf traits for *T. melinonii* (white) and *D. guianensis* (black). Values are least squares means (\pm Standard error) adjusted at a common relative daily photon flux ($DPF_{rel} = 26.1$ %). Significant differences were tested with the multiple comparisons post-hoc test of Tukey ($P < 0.05$) and indicated by different letters.

Figure 5. Relationships between leaf traits and relative daily photon flux ($\log DP_{rel}$) for *T. melinonii* (white dots) and *D. guianensis* (black dots). Simple linear regressions were represented by solid lines for *T. melinonii* and by dotted lines for *D. guianensis*. Regression equation and r^2 are indicated for statistically significant linear regressions ($P < 0.05$). Significance levels: ns, $P > 0.05$; *, $P \leq 0.05$; **, $P \leq 0.01$; *** and $P \leq 0.001$.

Figure 6. Relationships between leaf thickness (μm), leaf *C* content (C_m , mg g^{-1}), ratio of chlorophyll content on N content (Chl/N , $\mu\text{mol mmol}^{-1}$) and relative daily photon flux ($\log DP_{rel}$, %) for the three architectural stage of development (*ASD* 1, white dots, *ASD* 2 grey diamonds and *ASD* 3 black dots) of *Tachigali melinonii*. Regression equations, level of significance (*P*) and coefficient of determination (r^2) are indicated for statistically significant linear regressions. Significant levels: ns, $P > 0.05$; *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$ and ***, $P < 0.001$.

Figure 7. Relationships between $V_{\text{cmax}}a$ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and relative daily photon flux ($\log DPF_{\text{rel}}$, %) for the three architectural stage of development (*ASD* 1, white dots and *ASD* 2 grey diamonds) of *Dicorynia guianensis*. Regression equations, levels of significance (P) and coefficient of determination (r^2) are indicated for statistically significant linear regressions. Significant levels: ns, $P > 0.05$; *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$ and ***, $P < 0.001$.

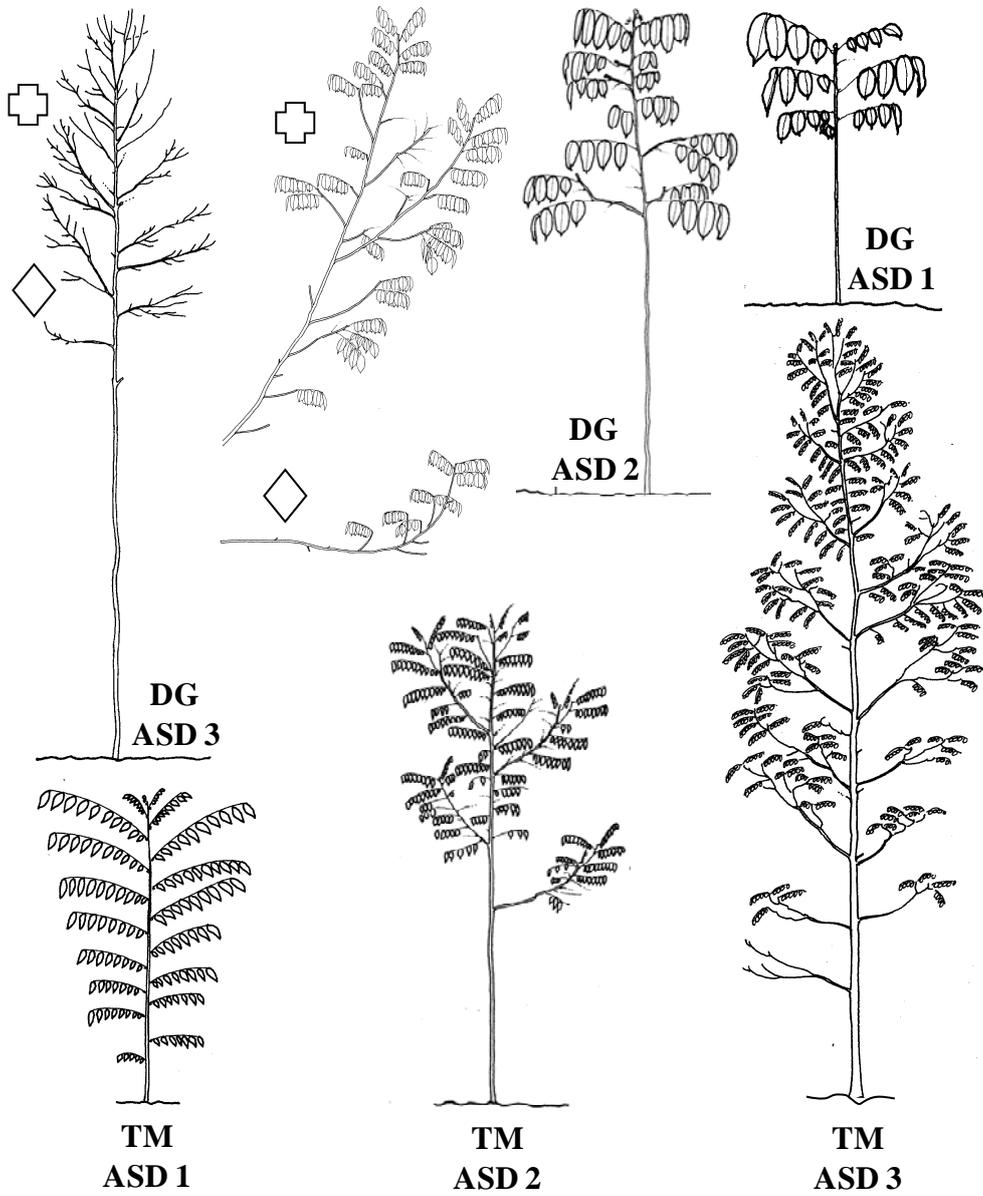


Figure 1.

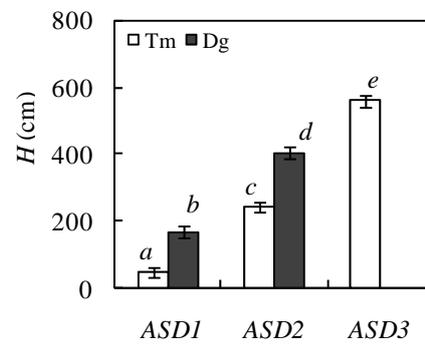


Figure 2.

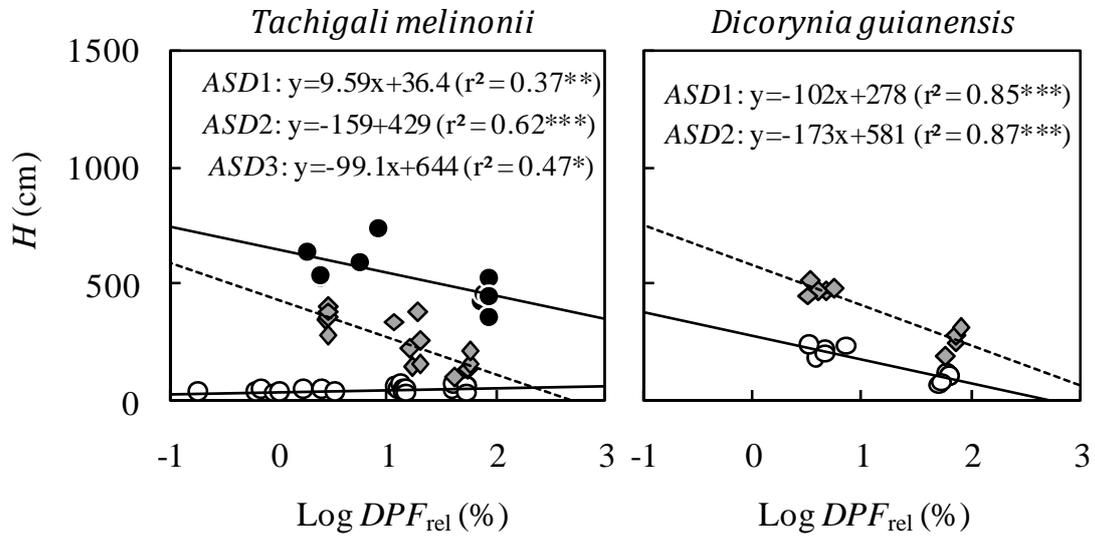


Figure 3.

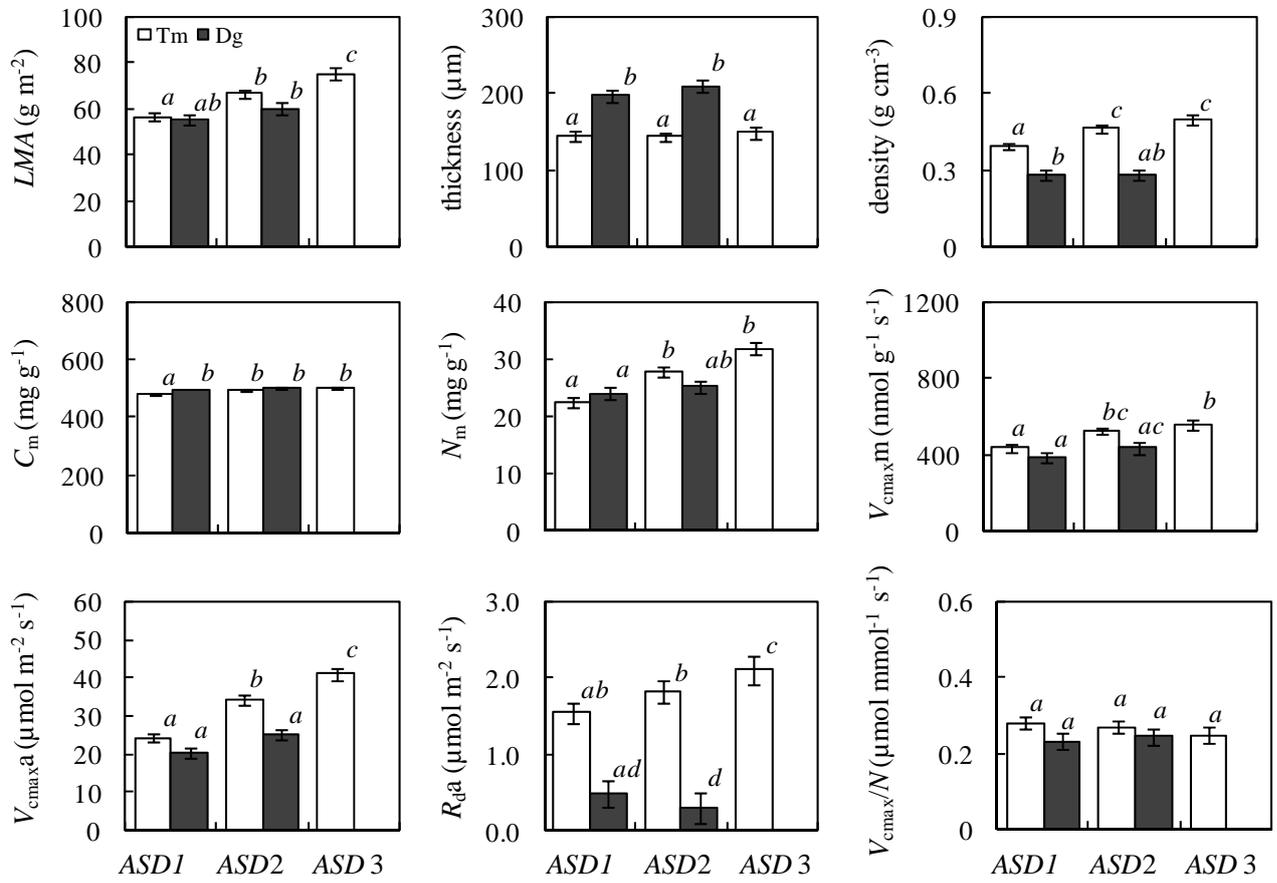


Figure 4.

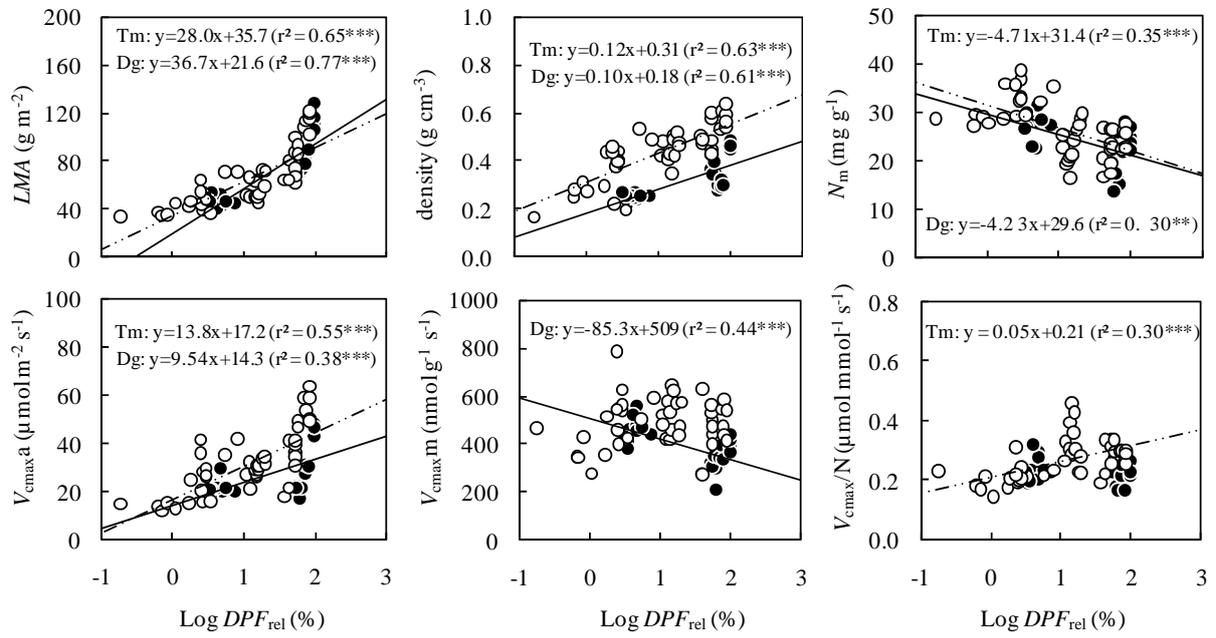


Figure 5.

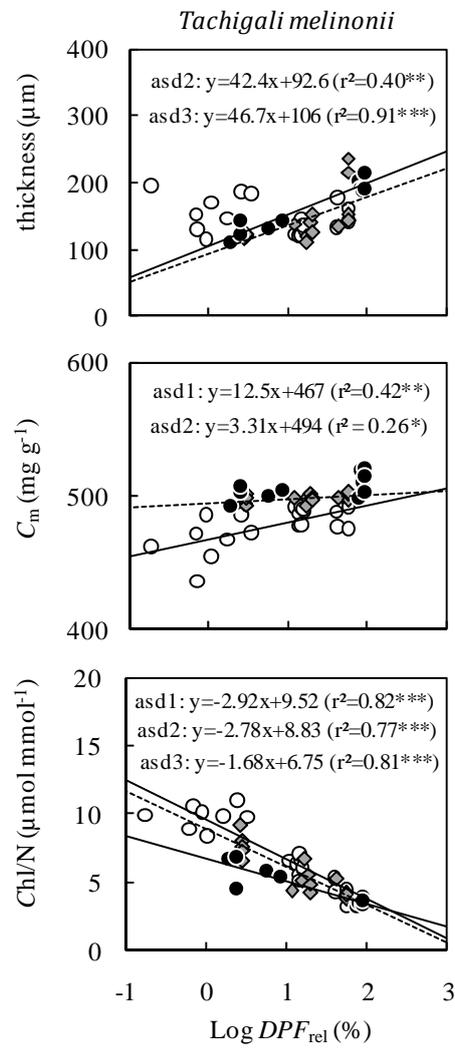


Figure 6.

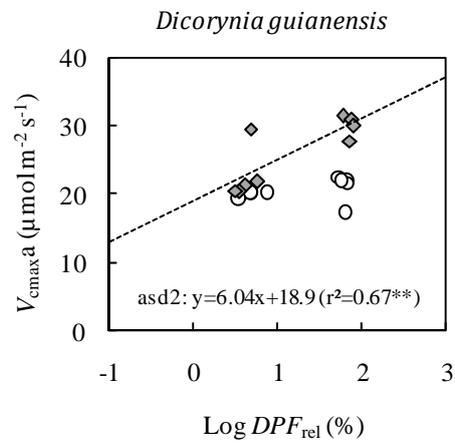
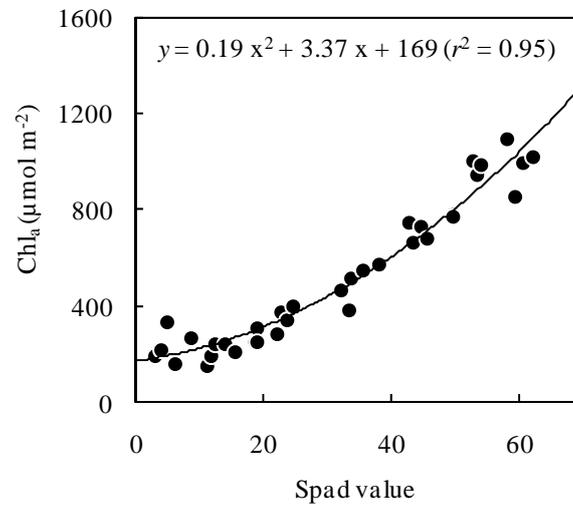


Figure 7.

Appendix



Appendix 1. Relationships between chlorophyll content (Chl_a , $\mu\text{mol}_{\text{Chl}} \text{m}^{-2}$) and Spad values (SPAD-502, Minolta, Osaka, Japan). Chlorophyll content was measured on 2.3 cm^2 leaf discs after extracting in DMSO ($n = 35$).

Appendix 2. Result of a one-way Ancova with architectural stage of development ($ASD = 2$) as main factor and relative irradiance (DPF_{rel} , %) as covariables applied to *Tachigali melinonii* (Harms) Barneby. F -value, level of significance (P) and coefficient of determination (r^2) of the model are given. DPF_{rel} , LMA and J_{maxa} were log transformed prior to analysis. Values of adjusted means (\pm Standard Error) were also given (covariate mean = 21%) for the three Architectural stage of development (ASD). C_m and thickness were analyzed with a separate slope model. V_{cmaxm} , J_{maxm} and R_{qm} were not linearly correlated with DPF_{rel} and thus they were analyzed with a one way ANOVA. Significant levels: ns, $P > 0.05$; *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$ and ***, $P < 0.001$.

	ASD	DPF_{rel} (%)	$DPF_{rel} \times ASD$	model	$ASD1$	$ASD2$
	F	F	F	r^2	$n = 20$	$n = 16$
H	219***	—	19.0***	0.93	45.4 \pm 11	260 \pm 12
D	69.5***	—	14.8***	0.82	0.65 \pm 0.1	1.66 \pm 0.1
<i>Structural traits</i>						
LMA	7.46**	104***	—	0.80	53.2 \pm 1.8	62.7 \pm 2.0
thickness	10.9**	—	6.19**	0.28	145 \pm 5.7	137 \pm 6.4
density	12***	68.7***	—	0.75	0.38 \pm 0.02	0.46 \pm 0.02
N_m	26.7***	—	34.2***	0.74	23.1 \pm 0.8	28.8 \pm 0.9
N_a	50.9***	9.37**	—	0.69	1.19 \pm 0.05	1.75 \pm 0.05
C_m	29.3***	18.2***	—	0.65	479 \pm 2.3	497 \pm 2.6
Chl_a	23.5***	46.8***	—	0.64	552 \pm 30	711 \pm 34
Chl_m	4.14*	145***	—	0.82	11.8 \pm 0.9	12.5 \pm 1.0
<i>Physiological traits</i>						
V_{cmaxa}	31.2***	70.3***	—	0.80	22.9 \pm 1.0	32.6 \pm 1.1
J_{maxa}	31.7***	166***	—	0.88	36.8 \pm 1.6	51.0 \pm 1.8
R_{qa}	1.27ns	14.7***	—	0.37	1.39 \pm 0.2	1.74 \pm 0.2
V_{cmaxm}	10.3**	ns	—	0.23	430 \pm 23	526 \pm 18
J_{maxm}	6.58*	8.08**	—	0.37	686 \pm 29	811 \pm 33
R_{qm}	0.92ns	ns	—	0.03ns	23.8 \pm 2.7	27.8 \pm 3.0
J_{max}/V_{cmax}	1.41ns	6.15*	—	0.17ns	1.62 \pm 0.05	1.54 \pm 0.05
V_{cmax}/N	1.13ns	19.6***	—	0.37	0.27 \pm 0.02	0.26 \pm 0.02
J_{max}/N	3.39ns	53.1***	—	0.62	0.43 \pm 0.02	0.41 \pm 0.02
Chl/N	2.77ns	135***	—	0.82	6.77 \pm 0.3	5.83 \pm 0.3

ANNEXES

Informations supplémentaires sur l'écologie des espèces de l'étude.

L'ensemble des données présentées dans les tableaux sont issues de la base de données Mariwenn (<http://ecofog.cirad.fr/Mariwenn/>). Pour plus de détails sur les données, voir Ollivier et al. (2007). Pour chacune des espèces, lorsque ces dernières étaient disponibles, les informations suivantes figurent dans les tableaux :

- Nom scientifique, famille botanique, nom vernaculaire le plus fréquemment utilisé en Guyane française et abréviation utilisée dans la synthèse.

- Données relatives aux préférences écologiques des espèces :

1. Groupes écologiques de Molino et Sabatier (Molino and Sabatier 2001), basés sur une compilation de références bibliographiques.

2. Groupes de Favrichon (Favrichon 1994, Favrichon 1995), basés sur les effectifs par classe de diamètre, les dimensions potentielles (dont le diamètre maximal), la vitesse de croissance et les taux de mortalité et de recrutement.

3. Groupes de hauteur de Collinet (Collinet 1997), basés sur la taille spécifique et la dépendance aux conditions lumineuses, appréhendés par la hauteur de libération (*i.e.* hauteur au-delà de laquelle la courbe d'évolution de la hauteur en fonction du diamètre s'infléchit).

4. Présence ou absence des graines de l'espèce dans la banque de graines du sol (BGS) (de Foresta and Prévost 1986, Molino and Sabatier 2001).

5. Caractère cicatriciel ou non des espèces (Riéra et al. 1989).

- Description du type de feuille (simple ou composée) et 6. phénologie végétative (Loubry 1994).

- Données relatives à la reproduction des espèces :

7. Système sexuel (monoïque, dioïque ou hermaphrodite).

8. Mode de dispersion des graines (Sabatier 1983).

- Données relatives à la nutrition azotée : **9.** Légumineuses fixatrices ou non fixatrices de N et présence ou absence de nodules (Roggy 1999, Roggy and Prevost 1999, Roggy et al. 1999).

- Données relatives à la morphologie des plants :

10. Morphologie des plantules (Baraloto 2001).

11. Modèle architectural (Hallé and Oldeman 1970).

Espèces	Familles	Noms vernaculaires	Codes	Tempéraments vis-à-vis de la lumière ¹	Groupes de Favrichon ²	Groupes de hauteur de Collinet ³	Présence des graines dans la BGS ⁴ / caractère cicatriciel des espèces ⁵
<i>Amanoa guianensis</i> J.B. Aublet	Euphorbiaceae	–	Ag	tolérante à l'ombre	taxons tolérants, étage supérieur	nd	–
<i>Bagassa guianensis</i> J.B. Aublet	Moraceae	Bagasse	Bg	pionnière	nd	nd	BGS/cicatricielle
<i>Carapa procera</i> A.P. De Candolle	Meliaceae	Carapa	Cp	héliophile / non pionnière	taxons héliophiles, étage supérieur	< 40m, libérée tardivement	absent dans BGS
<i>Cecropia obtusa</i> Trécul.	Cecropiaceae	Bois canon	Co	pionnière	nd	nd	BGS
<i>Dicorynia guianensis</i>	Caesalpinaceae	Angélique	Dg	héliophile / non pionnière	taxons semi-tolérants, étage dominant	espèces de grande taille, libérées tardivement	absent dans BGS/cicatricielle
<i>Eperua falcata</i> J.B. Aublet	Caesalpinaceae	Wapa	Ef	tolérante à l'ombre	taxons semi-tolérants, étage dominant	espèces de grande taille, libérées précocement	–
<i>Hymenaea courbaril</i> Linnaeus	Caesalpinaceae	Courbaril / caca chien	Hc	tolérante à l'ombre	nd	nd	–
<i>Pouteria</i> sp.	Sapotaceae	–	Ps	tolérante à l'ombre	–	–	–
<i>Pradosia cochlearia</i> (Lecomte) Pennington	Sapotaceae	grand-Kimboto	Pc	tolérante à l'ombre	taxons tolérants, étage supérieur	espèces émergentes, libération très tardive	–
<i>Protium opacum</i> Swart	Burseraceae	Moni / bois l'encens	Po	tolérante à l'ombre	nd	nd	–
<i>Sextonia rubra</i> (Mez) van der Weff	Lauraceae	Grignon franc	Sr	tolérante à l'ombre	taxons semi-tolérants, étage dominant	espèces de grande taille, libérées précocement	–
<i>Symphonia globulifera</i> Linnaeus f.	Clusiaceae	Manil-marecage	Sg	tolérante à l'ombre	taxons semi-tolérants, étage dominant	< 40m, libérées de façon moyenne	–
<i>Tachigali melinonii</i> (Harms) Barneby	Caesalpinaceae	Diaguidia	Tm	héliophile / non pionnière	taxons héliophiles, étage supérieur	espèces de grande taille, libérées tardivement	absent dans BGS/cicatricielle
<i>Vouacappota americana</i> J.B. Aublet	Caesalpinaceae	Wacapou	Va	tolérante à l'ombre	taxons tolérants, étage supérieur	< 40m, libérées de façon moyenne	–

Codes	Type de feuille	Phénologie végétative ⁶	Système sexuel	Mode de dispersion des graines ⁷	Nutrition azotée ⁸		Morphologie des plantules ⁹	Modèle architectural ¹⁰
					fixation N	nodulation		
Ag	Simple	nd	nd	Autochorie (10-25m)	-	nd	Plantule épigée à fonction de réserve	nd
Bg	Simple	décidue	dioïque	Endozoochorie ($\geq 100m$)	-	nd	Plantule épigée foliacée	Rauh
Cp	Composée	nd	monoïque	Synrodontochorie (25-50m)	-	sans nodule	Plantule hypogée	Cook
Co	Simple	-	dioïque	Endozoochorie ($\geq 100m$)	-	sans nodule	Plantule épigée foliacée	Rauh
Dg	Simple	décidue	hermaphrodite	Anémochorie (30-50m)	Légumineuse non fixatrice	sans nodule	Plantule épigée à fonction de réserve	Troll
Ef	Composée	décidue	monoïque	Autochorie (10-25m)	Légumineuse non fixatrice	sans nodule	Plantule hypogée	Troll
Hc	Composée	décidue	hermaphrodite	Endozoochorie (25-50m)	nd	nd	Plantule épigée à fonction de réserve	Troll
Ps	Simple	-	-	-	-	-	-	nd
Pc	Simple	décidue	nd	Endozoochorie ($\geq 100m$)	-	nd	Plantule épigée à fonction de réserve	Aubreville
Po	Composée	nd	nd	Endozoochorie ($\geq 100m$)	-	nd	Plantule hypogée	nd
Sr	Simple	sempervirente	monoïque	Endozoochorie ($\geq 100m$)	-	nd	Plantule hypogée	Aubreville
Sg	Simple	nd	hermaphrodite	Synzoochorie (50-100m)	-	nd	Plantule hypogée	Massart
Tm	Composée	nd	nd	Anémochorie (25-50m)	Légumineuse fixatrice	nodules	Plantule épigée foliacée	Petit
Va	Composée	décidue	hermaphrodite	Synrodontochorie ($< 30m$)	Légumineuse non fixatrice	sans nodule	Plantule hypogée	Troll

Références

- Baraloto, C. 2001. Tradeoffs between neotropical tree seedling traits and performance in contrasting environments. In *Philosophy (Ecology and Evolutionary Biology)*. University of Michigan.
- Collinet, F. 1997. Essai de regroupements des principales espèces structurantes d'une forêt dense humide après l'analyse de leur répartition spatiale (forêt de Paracou-Guyane). Université Claude Bernard, Lyon 1.
- de Foresta, H. and M.F. Prévost. 1986. Végétation pionnière et graines du sol en forêt guyanaise. *Biotropica*. 18:279-286.
- Favrichon, V. 1994. Classification des espèces arborées en groupes fonctionnels en vue de la réalisation d'un modèle de dynamique de peuplement en forêt guyanaise. *Revue Ecologique (Terre et Vie)*. 49:379-403.
- Favrichon, V. 1995. Modèle matriciel déterministe en temps discret. Application à l'étude de la dynamique d'un peuplement forestier tropical humide. Université Claude Bernard, Lyon, p. 251.
- Hallé, F. and R.A.A. Oldeman 1970. Essai sur l'architecture et la dynamique de croissance des arbres tropicaux. Masson, Paris.
- Loubry, D. 1994. Déterminisme du comportement phénologique des arbres en forêt tropicale humide de Guyane française. In *Biologie végétale tropicale*. Université Paris 6., Paris.
- Molino, J.-F. and D. Sabatier. 2001. Tree diversity in tropical rain forests: A validation of the intermediate disturbance hypothesis. *Science*. 294:1702-1704.
- Ollivier, M., C. Baraloto and E. Marcon. 2007. A trait database for Guianan rain forest trees permits intra and inter-specific contrasts. *Annals of Forest Science*. 64:781-786.
- Riéra, B., H. Puig and J.-P. Lescure. 1989. La dynamique de la forêt naturelle. *Bois et Forêts des Tropiques*. 219:69-78.
- Roggy, J.-C. 1999. Leaf natural ^{15}N abundance and total N concentration as potential indicators of plant N nutrition in legumes and pioneer species in a rain forest of French Guiana. *Oecologia*. 120:171-182.
- Roggy, J.-C. and M.-F. Prévost. 1999. Nitrogen-fixing legumes and silvigenesis in a rain forest in French Guiana: a taxonomic and ecological approach. *New Phytologist*. 144:283-294.
- Roggy, J.-C., M.-F. Prévost and A.-M. Domenach. 1999. Nitrogen cycling in the tropical rain forest of French Guiana: comparison of two sites with contrasting soil types using $\delta^{15}\text{N}$. *Journal of Tropical Ecology*. 15:1-22.
- Sabatier, D. 1983. Fructification et dissémination en forêt guyanaise : l'exemple de quelques espèces ligneuses. Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, pp. 143-147.

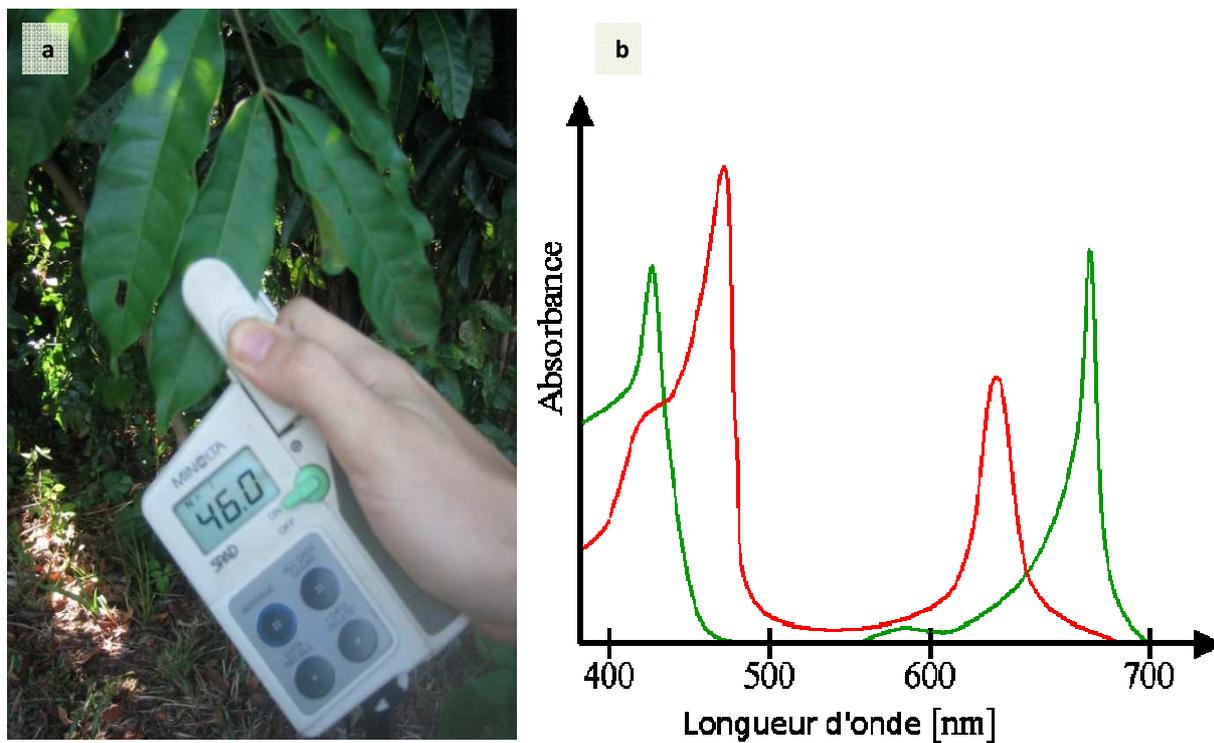
Estimations des teneurs en chlorophylles foliaires de 14 espèces d'arbres de forêt tropicale humide guyanaise à l'aide d'un analyseur de chlorophylles, le SPAD-502.

Cette étude a été réalisée entre les mois d'avril et de juillet 2005 au cours du stage d'option scientifique d'Amélie Renaud (école polytechnique) avec la collaboration de Jean-Christophe Roggy, Heidi Schimann et Eric Marcon¹.

Le contexte

Les méthodes classiques de mesure des concentrations des chlorophylles foliaires présentent l'inconvénient d'être à la fois longues et destructrices. Généralement, les chlorophylles sont extraites du matériel végétal avec des solvants organiques comme l'acétone ou l'éthanol en utilisant une procédure de macération et centrifugation. Il est également possible d'utiliser du DMF (Diméthylformamide) ou du DMSO (Diméthylsulfoxyde), deux solvants qui permettent l'extraction des chlorophylles par incubation au bain-marie à 65°C. Ces méthodes sont difficilement applicables à un très grand nombre d'échantillons, d'autant plus que l'estimation des teneurs en chlorophylles est généralement associée à des mesures d'autres caractéristiques foliaires (comme les capacités photosynthétiques et les teneurs en azote). L'utilisation d'un « chlorophylle-mètre » comme le SPAD-502 (Minolta, Osaka, Japon) constitue une méthode alternative, simple et rapide. Cet appareil portable, permet d'obtenir rapidement la teneur en chlorophylles des feuilles, par l'intermédiaire d'une mesure de transmittance. Le SPAD fournit une valeur sans unité, comprise entre 0 et 100, fortement corrélée au taux de chlorophylles. Cependant, cette valeur n'est pas directement utilisable et il est nécessaire d'établir une courbe étalon de la relation entre unités SPAD et concentrations en chlorophylles a et b. De telles courbes ont déjà été réalisées (Anten and Hirose 1999, Markwell and Blevins 1999, Niinemets et al. 2003) mais la relation entre les unités SPAD et les teneurs en chlorophylles foliaires semble propre à une espèce donnée (Richardson et al. 2002).

¹ UMR ECOFOG



Présentation du SPAD-502

Le SPAD-502 (Konica Minolta, Osaka, Japon, **Figure 1**) est un petit analyseur portatif qui permet d'estimer les concentrations en chlorophylles foliaires sans prélèvements, par l'intermédiaire de mesures de transmittance des feuilles à deux longueurs d'ondes : 650 nm et 940 nm. A 650 nm, l'absorbance des chlorophylles est élevée tandis qu'à 940 nm au contraire, elle est très faible, et on considère que l'absorption de la lumière émise est due uniquement aux pigments non chlorophylliens, et aux caractéristiques de la structure foliaire (**Figure 1**). Le SPAD-502 est équipé d'une fenêtre de mesure de 2X3mm et de deux diodes électroluminescentes (DEL). Il calcule un indice communément appelé « unité Spad » (précision de la mesure ± 0.1), mais l'équation exacte permettant de transformer les mesures de transmittance en « unités Spad » n'est pas connue.

D'après Markwell et al. (1995), cette équation pourrait être la suivante :

$$\text{unités spad} = \log(I'_{940}/I_{940}) - \log(I'_{650}/I_{650}) \quad (1)$$

avec I_{650} et I_{940} les intensités lumineuses émises dans le rouge et l'infrarouge (à 650 et 950 nm respectivement) et I'_{650} et I'_{940} les intensités lumineuses transmises à ces deux longueurs d'onde.

Si la feuille était un système optique parfait, ne contenant aucune molécule absorbante à 940nm et que seule la chlorophylle interceptait la lumière émise, le système pourrait se simplifier à l'équation (2) (Markwell et al. 1995) :

$$\text{unités spad}_{(idéal)} = \log(I_{650}/I'_{650}) \quad (2)$$

Cependant, c'est loin d'être le cas comme en témoigne la diversité des équations, permettant de relier unités SPAD et teneurs en chlorophylles, recensées dans la littérature.

Protocole expérimental

Matériel végétal

Cette étude a été réalisée en Guyane française (Amérique du sud) entre les mois de mai et juillet 2005. Afin de travailler sur des structures de feuilles les plus variées possibles, quatorze espèces d'arbres de forêt tropicale humide guyanaise, couvrant une large gamme de tempéraments vis-à-

Tableau I. Liste des espèces étudiées et de leurs familles. La relation entre la concentration en chlorophylles foliaire et les unités SPAD , son coefficient de détermination (r^2) et le nombre d'échantillons sont indiquées pour chacune des espèces étudiées.

Espèces	Familles	Chl = $f(\text{unités spad})$	r^2	n
<i>Amanoa guianensis</i> J.B. Aublet	Euphorbiaceae	$y = 0.119x^2 + 6.305x + 30.60$	0.979	36
<i>Bagassa guianensis</i> J.B. Aublet	Moraceae	$y = 0.102x^2 + 8.461x + 7.846$	0.972	30
<i>Carapa procera</i> A.P. De Candolle	Meliaceae	$y = 0.072x^2 + 7.846x + 7.004$	0.974	36
<i>Cecropia obtusa</i> Trécul.	Cecropiaceae	$y = 0.362x^2 - 4.625x + 99.19$	0.951	34
<i>Eperua falcata</i> J.B. Aublet	Caesalpiniaceae	$y = 0.124x^2 - 0.448x + 151.9$	0.802	32
<i>Hymenaea courbaril</i> Linnaeus	Caesalpiniaceae	$y = 0.071x^2 + 11.75x - 33.46$	0.907	34
<i>Inga thibaudiana</i> De Candolle	Mimosaceae	$y = 0.082x^2 + 11.12x + 64.29$	0.945	37
<i>Pouteria</i> sp.	Sapotaceae	$y = 0.360x^2 - 15.99x + 642.1$	0.904	30
<i>Pradosia cochlearia</i> (Lecomte) Pennington	Sapotaceae	$y = 0.215x^2 + 0.181x + 514.7$	0.750	30
<i>Protium opacum</i> Swart	Burseraceae	$y = -0.124x^2 + 22.21x - 88.90$	0.902	38
<i>Sextonia rubra</i> (Mez) van der Weff	Lauraceae	$y = 0.050x^2 + 11.33x - 41.96$	0.990	35
<i>Symphonia globulifera</i> Linnaeus f.	Clusiaceae	$y = 0.083x^2 + 6.504x + 47.08$	0.975	32
<i>Tachigali melinonii</i> (Harms) Barneby	Caesalpiniaceae	$y = 0.186x^2 + 3.370x + 169.3$	0.952	34
<i>Voucapoua americana</i> J.B. Aublet	Caesalpiniaceae	$y = 0.360x^2 - 9.057x + 197.7$	0.926	32

vis de la lumière, ont été sélectionnées (**Tableau I**). Pour chacune de ces espèces une trentaine de prélèvements ont été réalisés : (i) principalement sur de jeunes plants de deux ans élevés en serre à Kourou (5°10'N, 52°40'W) sous différents régimes de lumière, mais également (ii) sur des arbres de tous âges sur le dispositif expérimental de Paracou (5°18' N, 52°55' W) (Gourlet-Fleury et al. 2004).

Prélèvement des échantillons

A l'aide d'un emporte-pièce, des disques de 2,27 cm² ou de 0,78 cm² ont été prélevés (la surface ayant du être diminuée au cours de l'expérimentation afin de réduire les temps d'extraction). Immédiatement après le prélèvement, la masse fraîche (mg) des différents disques a été mesurée. Pour chaque échantillon, une moyenne de trois mesures de SPAD-502 a été effectuée. Les échantillons prélevés ont été immédiatement plongés dans le diméthylsulfoxyde (DMSO). Les tubes contenant les échantillons ont été recouverts d'aluminium et bien fermés afin de protéger les extraits de la lumière et de l'oxygène et d'éviter la dissipation des vapeurs toxiques dans l'atmosphère. On notera que d'autres solvants peuvent être utilisés pour l'extraction de la chlorophylle comme l'acétone, l'éthanol ou le diméthylformamide (DMF) (Webb et al. 1992). Le DMSO et le DMF ont une efficacité comparable et, contrairement à l'acétone ou l'éthanol, ne nécessitent ni macération préalable des feuilles ni centrifugation (Shinano et al. 1996). Il a également été avéré que le DMSO permettait une bonne conservation des échantillons sur le terrain (Tait and Hik 2003). Cependant ce dernier étant toxique, il est impératif de travailler sous hotte et de porter des gants lorsqu'on le manipule ; les tubes ont ainsi été remplis avant le départ sur le terrain.

Extraction des chlorophylles foliaires

Calibration du spectrophotomètre pour les chlorophylles

La relation entre la concentration en chlorophylles et la Densité Optique (ou absorbance, DO) donnée par le spectrophotomètre (spectrophotomètre 6305 UV/Vis, Jenway, Essex, Angleterre) a été préalablement établie à l'aide de deux standards de chlorophylles a et b (BioChemika 10865 et 25740 ; standards extraits de feuilles d'épinard).

Cette étape s'appuie sur la loi de Beer-Lambert, qui établit une proportionnalité entre la Densité Optique (DO) mesurée au spectrophotomètre et la concentration C de la solution en molécules absorbantes à la longueur d'onde considérée :

Tableau II. Valeur moyenne, minimum et maximum des temps d'incubation au bain-marie à 65°C pour chacune des 14 espèces étudiées.

Espèces	Temps d'incubation (h)		
	moyenne	min	max
<i>Amanoa guianensis</i>	5h45	3h30	9h
<i>Bagassa guianensis</i>	3h30	3h30	3h30
<i>Carapa procera</i>	6h10	5h	7h30
<i>Cecropia obtusa</i>	4h30	4h30	4h30
<i>Eperua falcata</i>	15h10	5h30	20h
<i>Hymenaea courbaril</i>	9h	9h	9h
<i>Inga thibaudiana</i>	3h56	3h30	4h10
<i>Pouteria</i> sp.	6h20	5h	7h30
<i>Pradosia cochlearia</i>	5h15	3h45	6h
<i>Protium opacum</i>	11h15	7h	15h30
<i>Sextonia rubra</i>	8h48	5h30	13h
<i>Symphonia globulifera</i>	6h30	2h	12h30
<i>Tachigali michelii</i>	4h30	4h30	4h30
<i>Voucapoua americana</i>	14h15	2h	19h

$$DO = \alpha C \quad (3)$$

avec α une constante

Les standards de chlorophylles a et b ont été dissous dans de l'éthanol à 95%. Les deux solutions mères obtenues ont ensuite permis de déterminer les longueurs d'onde d'absorbance maximale des deux pigments. Les deux chlorophylles possèdent chacune deux pics d'absorption, vers 450 nm et 650 nm, le pic principal étant à 450 nm. Cependant, comme à cette longueur d'onde d'autres pigments foliaires sont également susceptibles d'absorber la lumière (et donc d'interférer dans la mesure de DO), nous n'avons utilisé que la longueur d'onde correspondant au pic secondaire, à 650 nm environ. En faisant varier la longueur d'onde entre 600 nm et 680 nm, les longueurs d'onde d'absorbance maximale des chlorophylles a et b ($\lambda_{\max}a$ et $\lambda_{\max}b$) ont été identifiées comme étant respectivement 664 nm et 647 nm.

Une fois $\lambda_{\max}a$ et $\lambda_{\max}b$ déterminées, l'ensemble des mesures de DO ont été effectuées à ces longueurs d'onde, où on considère que la chlorophylle est la seule substance absorbante. L'équation (3) devient :

$$DO = aC_a + bC_b \quad (4)$$

avec C_a et C_b les concentrations respectives en chlorophylles a et b, a et b les coefficients à déterminer aux pics d'absorbance maximale des deux chlorophylles.

Les coefficients a et b ont été déterminés à l'aide de solutions possédant des concentrations en chlorophylles a et b différentes, réalisées à partir des standards de chlorophylles a et b, dissous dans de l'éthanol à 95%. Le coefficient a est déterminé à partir d'une régression linéaire appliquée aux mesures de DO d'une série de solutions de concentration en chlorophylles a différentes, mesurées à $\lambda_{\max}a$ et $\lambda_{\max}b$. Le coefficient b est déterminé de la même façon à l'aide d'une série de solutions où la concentration en chlorophylle b variait. La linéarité du modèle de l'équation (3) a ensuite été vérifiée à l'aide de solutions de chlorophylles a et b en mélange et de concentrations connues.

Les équations obtenues ont été les suivantes :

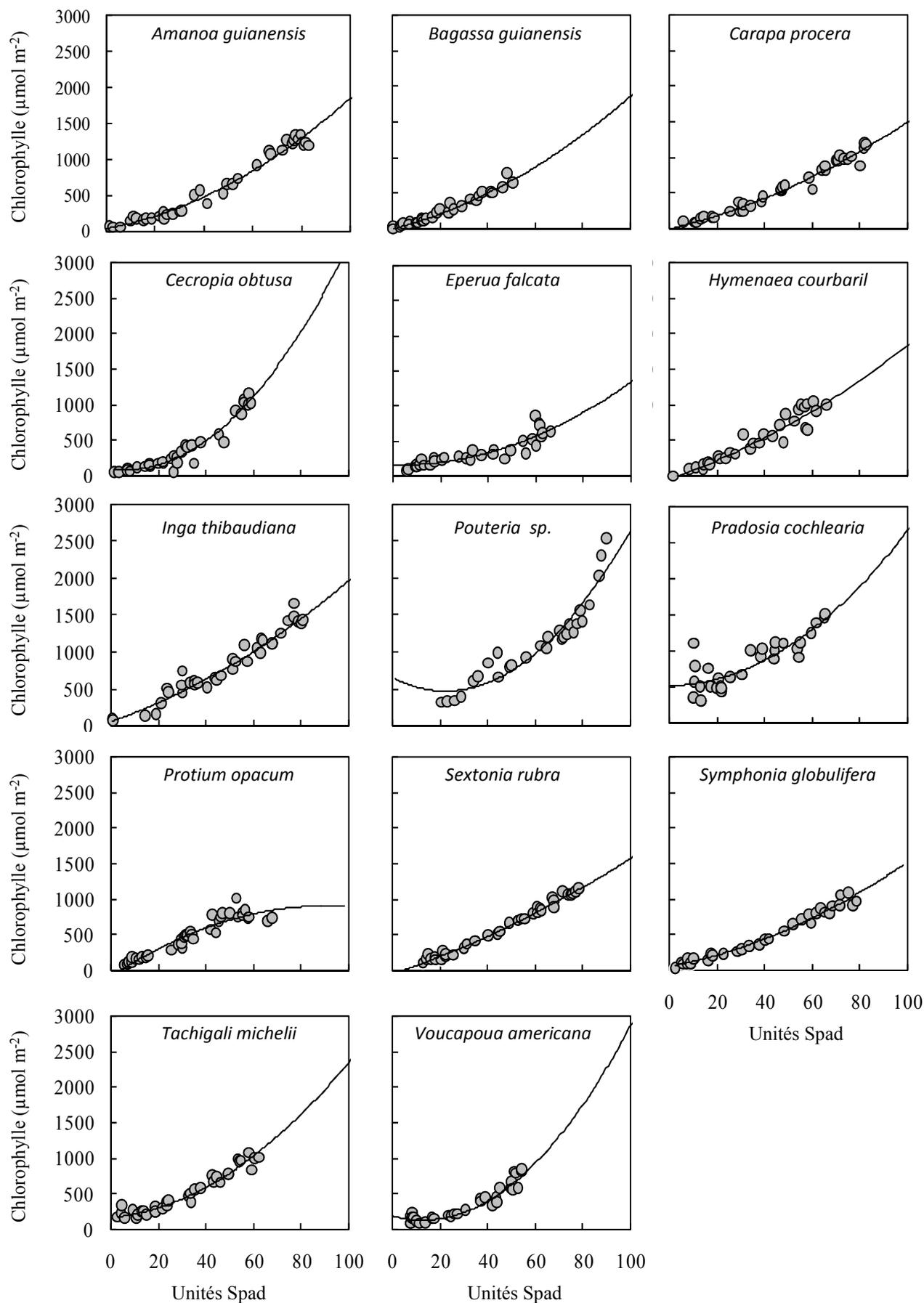


Figure 2. Courbes étalons des concentrations en chlorophylles foliaires ($\mu\text{mol}_{\text{chl}}\text{m}^{-2}$) en fonction des unités SPAD, pour 14 espèces de forêt tropicale humide guyanaise. Les équations, les coefficients de détermination et le nombre d'échantillons utilisés pour chacune des courbes sont indiqués dans le tableau I.

$$C_a \text{ (mg ml}^{-1}\text{)} = 22D_{0664} - 9,1D_{0647} \quad (5)$$

$$C_b \text{ (mg ml}^{-1}\text{)} = 29,5D_{0647} - 10,2D_{0664} \quad (6)$$

avec DO_{664} et DO_{647} , les densités optiques lues pour des longueurs d'onde de 664 nm et 647 nm respectivement.

Dosage des chlorophylles par spectrophotométrie

L'extraction des chlorophylles a été effectuée par incubation au bain-marie à 65°C (sous hotte). Les échantillons ont été retirés du bain-marie dès que toute la chlorophylle était extraite des feuilles (disparition de la couleur verte des disques) pour éviter la dégradation du pigment. Le temps d'incubation nécessaire pour une extraction totale a très fortement varié entre les 14 espèces (**Tableau II**). Dans la littérature, les temps d'incubation évoqués pour les espèces tempérées sont généralement compris entre 2 et 5h (Barnes et al. 1992, Wellburn 1994) et donc très nettement inférieurs aux nôtres en moyenne.

L'absorbance (DO) des extraits obtenus a ensuite été mesurée au spectrophotomètre (spectrophotomètre 6305 UV/Vis, Jenway, Essex, Angleterre) pour les longueurs d'onde de 647 et 664 nm ($\lambda_{\max a}$ et $\lambda_{\max b}$). Les concentrations en chlorophylles a et b (C_a et C_b , $\text{mg}_{\text{Chl}} \text{ ml}^{-1}$) ont ensuite été calculées à l'aide des équations (5) et (6). La concentration totale en chlorophylle des solutions a été calculée comme la somme de C_a et C_b . La concentration totale en chlorophylle des disques échantillonnés a été estimée à partir de leur surface et des masses molaires des chlorophylles a (893.5 g mol^{-1}) et b (907.5 g mol^{-1}) et exprimée en $\mu\text{mol}_{\text{Chl}} \text{ m}^{-2}$ avant d'être comparée aux mesures de SPAD-502.

Les courbes étalons : [Chl]= f (unités Spad)

Relations unités SPAD – teneurs en chlorophylles foliaires

Afin d'établir la relation la plus appropriée entre les concentrations en chlorophylles foliaires et les unités SPAD, différents modèles ont été appliqués : linéaire, polynomial et exponentiel. Pour toutes les espèces, à l'exception d'*Eperua Falcata* et de *Pouteria* sp., c'est le modèle polynomial qui a donné les meilleurs résultats. Pour *Eperua falcata* et *Pouteria* sp., bien que le modèle exponentiel

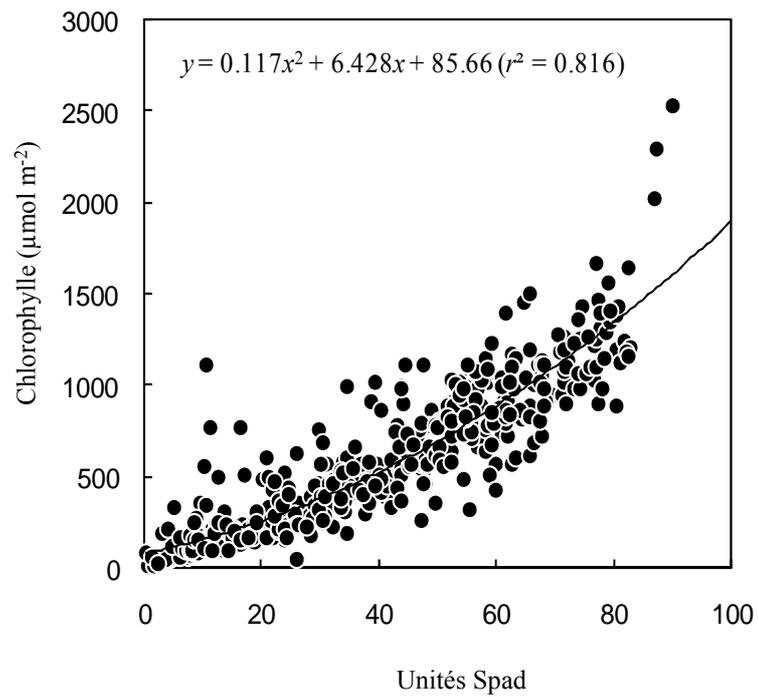


Figure 3. Courbe étalon des concentrations en chlorophylles foliaires ($\mu\text{mol}_{\text{chl}} \text{m}^{-2}$) en fonction des unités SPAD. Les points correspondent à des individus appartenant à 14 espèces de forêt tropicale humide guyanaise. L'équation et le coefficient de détermination sont indiqués.

permette d'obtenir de meilleurs coefficients de détermination (r^2), c'est également le modèle polynomial qui a été appliqué par souci d'homogénéité dans les résultats (**Figure 2**). L'utilisation d'un modèle polynomial pour décrire les relations SPAD- [Chlorophylles] n'est pas en contradiction avec les précédentes études sur le sujet.

De manière générale, les modèles utilisés varient d'une étude à l'autre et on trouve des équations linéaires (Martinez and Guiamet 2004), polynomiales (Manetas et al. 1998), et exponentielles (Markwell and Blevins 1999). Dans la plupart des cas, les auteurs se contentent d'établir leurs courbes étalons en appliquant le modèle qui convient le mieux, sans donner de précisions sur les raisons de leur choix. Si nous admettons que l'équation (1), proposée par Markwell et al. (1995), est juste et que la relation entre l'absorbance de la feuille et le taux de chlorophylle suit une loi de type Beer-Lambert, alors c'est le modèle exponentiel qui devrait être utilisé. Cependant, l'extrême complexité du comportement des photons lumineux au sein de la feuille (Vogelmann et al. 1996) ainsi que la confidentialité sur les formules de corrélation entre transmittance et unités SPAD (Konica Minolta) nous ont incités à conserver le modèle polynomial, même si nous ne pouvons pas à ce jour l'expliquer d'un point de vue biologique.

Le SPAD-502 est un outil réellement intéressant pour estimer de manière simple et rapide les teneurs en chlorophylles foliaires, et tout particulièrement dans le cadre d'une comparaison entre feuilles différentes. En revanche, dans le cadre de mesures quantitatives précises, le problème de la précision des mesures peut se poser. Premièrement, l'exactitude des mesures ne peut être garantie pour des valeurs supérieures à 50 unités SPAD (manuel d'instruction du SPAD-502, Minolta Company, 1989). Or, pour les espèces tropicales étudiées ici, beaucoup de valeurs SPAD mesurées étaient supérieures à 50, atteignant même des valeurs dépassant les 80 unités SPAD chez *Carapa Procera* et *Pouteria sp.* Cependant l'exclusion de toutes les valeurs SPAD dépassant 50 ne modifie pas significativement les équations obtenues. De plus, la plupart des études utilisant le SPAD ne considèrent pas comme non valides ces fortes valeurs (Markwell et al. 1995, Murillo-Amador et al. 2004, Wang et al. 2004). Deuxièmement, de nombreux facteurs sont susceptibles d'influencer l'absorption de la lumière par la feuille. Ainsi, les caractéristiques foliaires, et particulièrement l'épaisseur ou la présence de poils à la surface de la feuille, influencent fortement les propriétés optiques de cette dernière (Gitelson et al. 2003). Cependant, la méthode de mesure du SPAD est censée tenir compte de ces facteurs à l'aide de la mesure de transmittance à 940 nm. En revanche si l'effet de la structure peut être contrôlé partiellement, la présence de pigments foliaires non chlorophylliens (xanthophylle, carotène, anthocyanes) peut perturber la mesure. En effet, en effectuant une mesure à 650 nm, on considère qu'à cette longueur d'ondes seules les

chlorophylles a et b vont absorber la lumière émise par l'appareil, mais en réalité à cette longueur d'ondes les autres pigments peuvent également contribuer à l'absorption de la lumière émise par l'appareil. Plus particulièrement, lors de l'établissement des courbes, afin de couvrir la plus large gamme d'unités SPAD possible, les mesures ont été réalisées sur des feuilles d'âges différents, de très jeunes à sénescents. Cependant, chez certaines des espèces étudiées, les très jeunes feuilles ne sont pas vert pâle mais rouges, indiquant une forte concentration d'anthocyanes. Ces anthocyanes deviennent ensuite minoritaires dans la feuille lorsque le taux de chlorophylle augmente avec le vieillissement de la feuille. On peut alors se questionner sur la fiabilité des mesures de SPAD réalisées sur des feuilles contenant majoritairement un pigment autre que les chlorophylles. Enfin, il a également été montré que l'éclairement relatif, l'état hydrique des feuilles ainsi que le moment de la mesure (matin, après-midi) interféraient avec la mesure de la quantité de chlorophylles (Hoel and Solhaug 1998, Martinez and Guiamet 2004).

Une courbe étalon a été réalisée sur l'ensemble des feuilles mesurées, toutes espèces confondues (**Figure 3**). La relation obtenue entre unités SPAD et concentration en chlorophylles est très bonne ($r^2 = 0.86$), mais la dispersion des résidus est beaucoup plus importante que dans le cas des courbes étalons spécifiques à chaque espèce. Bien évidemment, la question est donc de savoir quelle précision est requise dans les études menées à l'aide de ces courbes étalons. Dans tous les cas, les différences de structure et de composition chimique des feuilles, particulièrement importantes chez les espèces tropicales, peuvent rendre les comparaisons de valeurs SPAD entre espèces difficiles et si on désire une estimation précise des teneurs en chlorophylles absolues, il semble essentiel de réaliser une courbe étalon pour chaque nouvelle espèce (Richardson et al. 2002).

Références

- Anten, N.P.R. and T. Hirose. 1999. Interspecific differences in above-ground growth patterns result in spatial and temporal partitioning of light among species in a tall-grass meadow. *Journal of Ecology*. 87:583-597.
- Barnes, J.D., L. Balaguer, E. Manrique and A.W. Davis. 1992. A reappraisal of the use of DMSO for the extraction and determination of chlorophylls a and b in lichens and higher plants. *Environmental and Experimental Botany*. 32:85-100.
- Gitelson, A.A., Y. Gritz and M.N. Merzlya. 2003. Relationships between leaf chlorophyll content and spectral reflectance and algorithms for non-destructive chlorophyll assessment in higher plant leaves. *Journal of Plant Physiology*. 160:271-282.
- Gourlet-Fleury, S., J.M. Guehl and O. Laroussinie 2004. Ecology and Management of a Neotropical Rainforest. Lessons drawn from Paracou, a long-term experimental research site in French Guiana. Eds. S. Gourlet-Fleury, J.M. Guehl and O. Laroussinie. Elsevier, Paris. 3-60. pp.
- Hoel, B.O. and K.A. Solhaug. 1998. Effect of Irradiance on Chlorophyll Estimation with the Minolta SPAD-502 Leaf Chlorophyll Meter. *Annals of Botany*. 82:389-392.
- Manetas, Y., G. Grammatikopoulos and A. Kyparissis. 1998. The use of the portable, non-destructive, SPAD-502 (Minolta) chlorophyll meter with leaves of varying trichome density and anthocyanin content. *Journal of Plant Physiology*. 153:513-516.
- Markwell, J. and D. Blevins. 1999. The Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter: An exciting new tool for education in the plant sciences. *American Biology Teacher*. 61:672-676.
- Markwell, J., J.C. Osterman and J.L. Mitchell. 1995. Calibration of the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter. *Photosynthesis Research*. 46:467-472.
- Martinez, D.E. and J.J. Guiamet. 2004. Distortion of the SPAD 502 chlorophyll meter readings by changes in irradiance and leaf water status. *Agronomie*. 24:41-46.
- Murillo-Amador, B., N.Y. Avila-Serano, J.L. Garcia-Hernandez, R. Lopez -Aguilar, E. Troyo-Dieguez and C. Kaya. 2004. Relationship between a nondestructive and an extraction method for measuring chlorophyll contents in cowpea leaves. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 167:363-364.
- Niinemets, U., F. Valladares and R. Ceulemans. 2003. Leaf-level phenotypic variability and plasticity of invasive *Rhododendron ponticum* and non-invasive *Ilex aquifolium* co-occurring at two contrasting European sites. *Plant, Cell and Environment*. 26:941-956.
- Richardson, A.D., S.P. Duigan and G.P. Berlyn. 2002. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. *New Phytologist*. 153:185-194.
- Shinano, T., T.T. Lei, T. Kawamukai, M.T. Inoue, T. Koike and T. Tadano. 1996. Dimethylsulfoxide method for the extraction of chlorophylls a and b from the leaves of wheat, field bean, dwarf bamboo, and oak. *Photosynthetica*. 32:409-415.
- Tait, M.A. and D.S. Hik. 2003. Is dimethylsulfoxide a reliable solvent for extracting chlorophyll under field conditions? *Photosynthesis Research*. 78:87-91.
- Vogelmann, T.C., J.N. Nishio and W.K. Smith. 1996. Leaves and light capture: Light propagation and gradients of carbon fixation within leaves. *Trends in Plant Science*. 1:65-70.

- Wang, Q.B., M.J. Chen and Y.C. Li. 2004. Nondestructive and rapid estimation of leaf chlorophyll and nitrogen status of peace lily using a chlorophyll meter. *Journal of Plant Nutrition*. 27:557-569.
- Webb, D.J., B.K. Burnison, A.M. Trimbee and E.E. Prepas. 1992. Comparison of Chlorophyll a Extractions with Ethanol and Dimethyl-Sulfoxide Acetone, and a Concern About Spectrophotometric Pheopigment Correction. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 49:2331-2336.
- Wellburn, A.R. 1994. The Spectral Determination of Chlorophyll-a and Chlorophyll-B, as Well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution. *Journal of Plant Physiology*. 144:307-313.

Leaf photosynthetic traits of 14 tropical rain forest species in relation to leaf nitrogen concentration and shade tolerance

SABRINA COSTE,¹ JEAN-CHRISTOPHE ROGGY,^{1,2} PASCAL IMBERT,¹ CÉLINE BORN,¹ DAMIEN BONAL¹ and ERWIN DREYER³

¹ Unité Mixte de Recherche CIRAD-ENGREF-INRA-CNRS Écologie des Forêts de Guyane, Campus agronomique de Kourou, 97387 Kourou, French Guiana

² Corresponding author (roggy.j@cirad.fr)

³ UMR Écologie et Écophysologie Forestières, INRA-UHP, 54280 Champenoux, France

Received September 24, 2004; accepted January 21, 2005; published online July 4, 2005

Summary Variability of leaf traits related to photosynthesis was assessed in seedlings from 14 tree species growing in the tropical rain forest of French Guiana. Leaf photosynthetic capacity (maximum rate of carboxylation and maximum rate of electron transport) was estimated by fitting a biochemical model of photosynthesis to response curves of net CO₂ assimilation rate versus intercellular CO₂ mole fraction. Leaf morphology described by leaf mass per unit leaf area (LMA), density and thickness, as well as area- and mass-based nitrogen (N) and carbon (C) concentrations, were recorded on the same leaves. Large interspecific variability was detected in photosynthetic capacity as well as in leaf structure and leaf N and C concentrations. No correlation was found between leaf thickness and density. The correlations between area- and mass-based leaf N concentration and photosynthetic capacity were poor. Conversely, the species differed greatly in relative N allocation to carboxylation and bioenergetics. Principal component analysis (PCA) revealed that, of the recorded traits, only the computed fraction of total leaf N invested in photosynthesis was tightly correlated to photosynthetic capacity. We also used PCA to test to what extent species with similar shade tolerances displayed converging leaf traits related to photosynthesis. No clear-cut ranking could be detected among the shade-tolerant groups, as confirmed by a one-way ANOVA. We conclude that the large interspecific diversity in photosynthetic capacity was mostly explained by differences in the relative allocation of N to photosynthesis and not by leaf N concentration, and that leaf traits related to photosynthetic capacity did not discriminate shade-tolerance ranking of these tropical tree species.

Keywords: functional diversity, leaf carbon, leaf nitrogen, nitrogen-use efficiency, photosynthetic capacity, tropical rain forest.

Introduction

Leaf characteristics of tropical trees, such as thickness, density, dry mass per unit area (LMA), anatomy and nitrogen (N) and chlorophyll contents display great diversity from species

to species (Popma et al. 1992, Ellsworth and Reich 1993, Poorter et al. 2000). In general, in tropical rain forests, light availability below the canopy is the most important factor influencing species recruitment because deep shade severely limits growth and survival of understory species (Bazzaz and Pickett 1980, Fetcher et al. 1983). Nevertheless, the eco-physiological traits that allow growth and survival at low irradiances remain a matter of debate. Tolerance of seedlings to shade, which may be one of the features that segregates different ecological groups of species, may be related to a combination of structural properties maximizing leaf area with respect to respiring biomass, and of leaf properties optimizing photosynthesis with respect to N investment (Messier et al. 1999). Tropical rain forest tree species have been classified into several ecological groups based on their supposed light requirements (Bazzaz and Pickett 1980, Swaine and Whitmore 1988), but whether functional leaf traits significantly differ among these ecological groups has not yet been established. In particular, leaf traits like photosynthetic capacity and N allocation to photosynthesis may differ significantly among the different groups. For instance, shade-intolerant or pioneer species are frequently thought to display higher light-saturated net CO₂ assimilation rates (A_{\max}) and photosynthetic N-use efficiencies (PNUE or A_{\max}/N_a , where N_a is the amount of N per unit leaf area) than shade-tolerant or late successional species (Reich and Walters 1994, Reich et al. 1994, Ellsworth and Reich 1996, Niinemets et al. 1998, but see Walters and Reich 1999, Hanba et al. 2002). Similarly, shade-intolerant species are thought to have high photosynthetic capacities (as assessed by maximal ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) activity, V_{\max} , and electron transport rate, J_{\max}), and a high allocation of leaf N to photosynthetic functions (i.e., to carboxylation and to electron transport) (Niinemets et al. 1998). A high LMA has been widely observed in seedlings of shade-tolerant species among tropical evergreen and deciduous trees (Kitajima 1994, Walters and Reich 1999 but see Niinemets and Kull 1998, Niinemets 1999b). Shade-intolerant species are reported to have thicker leaves (Niinemets et al.

1998, Wilson et al. 2000 but see Davies 1998), a higher total N content (Niinemets 1997, Niinemets et al. 1998) and a higher allocation of N to photosynthesis (Seemann et al. 1987, Evans 1989, Niinemets 1997) (and consequently a smaller allocation of N to chemical defence) than shade-tolerant species. As a consequence, leaves of shade-intolerant species may be more vulnerable to herbivory (Grime et al. 1996). High lignin concentrations in the foliage of shade-tolerant species also suggest that the leaves of these species should contain more carbon and be more expensive to construct than leaves of shade-intolerant species (Niinemets and Kull 1998, Niinemets 1999b).

Relationships between leaf structure and photosynthesis have been the focus of intensive research, and correlations between leaf N content and photosynthetic capacity are frequently observed (Field and Mooney 1986, Evans 1989, Reich and Walters 1994, Reich et al. 1994, 1999). According to Niinemets et al. (1998), the higher foliar N content generally observed in shade-intolerant relative to shade-tolerant species may be responsible for this correlation. Nevertheless, there is still large interspecific diversity in PNUE among shade-tolerant species. The relative ways in which total leaf N content and relative allocation of leaf N to the photosynthetic machinery contribute to the interspecific diversity of photosynthetic capacity remain poorly understood.

To assess the interspecific diversity of leaf traits related to photosynthetic capacity in a range of species differing in shade tolerance, we used the semi-mechanistic leaf photosynthesis model of Farquhar et al. (1980). We estimated in vivo maximal Rubisco activity and electron transport rate, two key parameters for quantifying the photosynthetic capacity of a leaf. The procedure was performed with seedlings from 14 French Guiana tropical rain forest species grown under common conditions in an open greenhouse at Kourou, French Guiana. The adjusted values of V_{\max} and J_{\max} were used to compute the relative allocation of total leaf N to carboxylation (P_c) and

bioenergetics (P_b) (Hikosaka and Terashima 1995, Niinemets and Tenhunen 1997).

The main objectives of our study were: (1) to record inter-specific diversity of leaf structure and photosynthetic capacity in a range of species from French Guiana; (2) to determine potential correlations among these traits, particularly with respect to the photosynthesis–nitrogen relationship; and (3) to test whether some of these traits could, alone or in combination, discriminate among species of different ecological groups.

Materials and methods

Plant material

The study was carried out at Kourou, French Guiana (5°10' N, 52°40' W) from February to May 2002 in a greenhouse. Measurements were made on seedlings from 14 species of the Guiana tropical rain forest (see Table 1 for the sizes of the seedlings used in the experiment). Two-year-old seedlings were transplanted in September 2001 to 20-l liter pots filled with a 1:2 (v/v) mixture of sand and A horizon soil from a nearby forest. Each pot was fertilized every second month with 5 g of complete fertilizer (12:12:17:2 N,P,K,Mg), treated bi-monthly with a commercial insecticide (Cuberol: 5% rotenone), and irrigated to field capacity ($0.25 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$) every day. Temperature and relative humidity in the greenhouse were close to ambient (mean temperature: 27.6 °C (min/max: 23.5/31.5 °C), mean relative humidity: 72% (min/ max: 57/ 92%)). The greenhouse roof was equipped with a neutral sheet (black polyethylene, Uco Agrotexiles, Belgium) that transmitted 30% of global irradiance. Irradiance at plant level was within the range of 25 to 45% of full sunlight that supports optimal growth of seedlings of tropical rain forest species (Barigah et al. 1998, Poorter 1999). Around 6–8 seedlings per species were selected based on uniformity in height. The stud-

Table 1. List of study species, with the abbreviations used in the figures, the systematic position, and the ecological group as defined by Favrichon (1994, 1995). Mean shoot height recorded at the end of the experiment is indicated (mean \pm SD); n = number of individuals per species.

Species name	Code	Family name	Ecological group	Shoot height \pm SD (cm)	n
<i>Amanoa guianensis</i> J.B. Aublet	Ag	Euphorbiaceae	Tolerant	64 \pm 17	7
<i>Bagassa guianensis</i> J.B. Aublet	Bg	Moraceae	Intolerant	96 \pm 12	7
<i>Carapa procera</i> A.P. De Candolle	Cp	Meliaceae	Intolerant	50 \pm 9	7
<i>Cecropia obtusa</i> Trécul	Co	Cecropiaceae	Intolerant	77 \pm 9	8
<i>Couepia caryophylloides</i> R. Benoist	Cc	Chrysobalanaceae	Tolerant	–	7
<i>Eperua falcata</i> J.B. Aublet	Ef	Caesalpiniaceae	Mid-tolerant	74 \pm 20	7
<i>Eperua grandiflora</i> (J.B. Aublet) Benth	Eg	Caesalpiniaceae	Mid-tolerant	63 \pm 20	6
<i>Hymenaea courbaril</i> L.	Hc	Caesalpiniaceae	Mid-tolerant	88 \pm 20	7
<i>Licania heteromorpha</i> Benth	Lh	Chrysobalanaceae	Tolerant ¹	40 \pm 14	6
<i>Symphonia globulifera</i> L. f.	Sg	Clusiaceae	Mid-tolerant	36 \pm 12	7
<i>Tabebuia insignis</i> (Miquel) Sandwith	Ti	Bignoniaceae	Intolerant ¹	37 \pm 10	7
<i>Virola michelii</i> Heckel	Vm	Myristicaceae	Intolerant	36 \pm 15	7
<i>Virola surinamensis</i> (Rolander) Warburg	Vs	Myristicaceae	Intolerant	99 \pm 23	7
<i>Vouacapoua americana</i> J.B. Aublet	Va	Caesalpiniaceae	Tolerant	18 \pm 9	7

¹ Shade tolerance ranking according to Béna (1960).

ied species were grouped according to the classification proposed by Favrichon (1994, see also Turner 2001, pp 244) (Table 1). Favrichon based his ecological grouping of trees from French Guiana on dynamic and structural variables like growth, mortality, recruitment height and maximal diameter, recorded on adult and sub-adult trees (diameter at breast height ≥ 10 cm). A principal component analysis (PCA) followed by a factorial analysis of correspondence yielded five groups of species discriminating on the basis of their potential height growth. After consideration of other ecological data (seed dispersal and seed size, gap colonization and wood density) the Favrichon groups were classified as (1) understory shade-tolerant, (2) canopy shade-tolerant, (3) emergent mid-tolerant, (4) canopy shade-intolerant and (5) pioneer. In our study, all species belonged to groups 2, 3 and 4, except the pioneer *Cecropia obtusa* (Table 1).

Estimating leaf photosynthetic capacity

We used the Harley et al. (1992) version of Farquhar's biochemical model of leaf photosynthesis (Farquhar et al. 1980) in which net CO_2 assimilation rate (A ; $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) is expressed as:

$$A = V_c - 0.5V_o - R_d \quad (1)$$

where V_c is Rubisco bisphosphate (RuBP) carboxylation rate, V_o is RuBP oxygenation rate and R_d corresponds to CO_2 production by non-photorespiratory respiration. For a detailed description of the equation set, readers are referred to Le Roux et al. (1999) and to Dreyer et al. (2001). This model permits the estimation of V_{cmax} ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) and J_{max} ($\mu\text{mol e}^- \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). The potential limitation arising from triose phosphate utilization was omitted.

Gas exchange measurements

We estimated V_{cmax} and J_{max} from A versus sub-stomatal CO_2 mole fraction (C_i) relationships. Leaf gas exchange was measured with a portable gas exchange system (CIRAS-1, PP-system, Hitchin, U.K.) equipped with a Parkinson leaf chamber (2.5 cm^2). All measurements were performed on mature leaves, usually the ultimate leaf of the penultimate shoot flush. Air temperature in the leaf chamber and air-water vapor pressure deficit at the leaf surface were kept as stable as possible, but nevertheless varied significantly because of changes in the external microclimate (means \pm SD = 30 ± 3 °C and 1.6 ± 0.2 kPa, respectively). To compensate for the differences in temperature during measurements, all parameters were scaled to a common reference temperature (T_{ref}) of 25 °C (298.16 K). Because of the lack of data available for tropical tree species, we used temperature response parameters computed by Dreyer et al. (2001) for seedlings of temperate forest species. A halogen lamp (Philips 12 V, 20 W) yielded a saturating photosynthetic photon flux (PPF) of $700 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. For each leaf, after full light induction for at least 30 min, an $A-C_i$ curve was generated by 12 stepwise increases in atmospheric CO_2 concentration ($C_a = 40, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 900, 1200, 1500, 1800$ and $2000 \mu\text{mol mol}^{-1}$). The procedure

yielded about six values in each fraction of the curve (CO_2 -limited or irradiance-limited zone of the response). Values of R_d were recorded in the dark 5 min after switching off the illumination. We estimated A_{max} as the light-saturated net assimilation rate measured at the CO_2 concentration close to $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$ (mean values of C_a and $C_i \pm$ SD = 396 ± 8.8 and $275 \pm 25 \mu\text{mol mol}^{-1}$, respectively). While the $A-C_i$ curve data were being gathered, stomatal conductance declined in response to increasing CO_2 concentration; therefore, these values must be interpreted with caution.

Primary model parameters and their temperature dependencies were taken from Dreyer et al. (2001) and are listed in Table 2. For each individual, a nonlinear least squares regression (Newton method, ProcNLIN, SAS v.8.1, SAS Institute Inc., Cary, NC) was used to estimate V_{cmax} and J_{max} by fitting the $A-C_i$ curve to empirical equations as described by Dreyer et al. (2001).

Leaf structure, nitrogen and carbon content

After gas exchange measurements, leaves were harvested and their area measured with an electronic area meter (LI-3000A, Li-Cor, Lincoln, NE). Thickness (μm) of each sampled leaf was obtained as the mean of three measurements with a digital micrometer (Digimatic micrometer, Mitutoyo, Japan), care being taken to avoid the main veins. Leaf dry mass was recorded after drying for 48 h at 70 °C. Total N (N_m ; mmol N g^{-1}) and carbon per unit leaf dry mass (C_m ; mmol C g^{-1}) were measured with an elemental analyzer (NA 1500 NCS, Carlo Erba, Italy). Values of LMA (g m^{-2}), N_a and leaf density (LMA/thickness; g cm^{-3}) were derived from these data.

Estimation of relative allocation of nitrogen to carboxylation and bioenergetics

Relative allocation of leaf N to Rubisco (P_c ; g N in Rubisco g^{-1} total leaf N) and to bioenergetics (P_b ; g N in cytochrome f, ferredoxin NADP reductase, and coupling factor g^{-1} total leaf

Table 2. Primary parameters of the photosynthesis model used in this study: α = apparent quantum yield; K_c = affinity of Rubisco for CO_2 ; K_o = affinity of Rubisco for O_2 ; ΔH_a = activation energy; and τ = specificity factor of Rubisco. For details, see Dreyer et al. (2001).

Parameters	Value	Unit
α	0.24	$\text{mol e}^- \text{ mol}^{-1}$ photons
K_c (25 °C)	40	Pa
ΔH_a (K_c)	70,000	J mol^{-1}
K_o (25 °C)	25,000	Pa
ΔH_a (K_o)	15,000	J mol^{-1}
τ (25 °C)	2710	–
ΔH_a (τ)	–29,000	J mol^{-1}
ΔH_a (V_{cmax}) ¹	73,000	J mol^{-1}
ΔH_a (J_{max}) ¹	57,900	J mol^{-1}
ΔH_a (R_d) ¹	32,000	J mol^{-1}

¹ Mean value of ΔH_a from seven temperate tree species (Dreyer et al. 2001).

N) were derived from N_a and from V_{cmax} or J_{max} , respectively, as described by Niinemets and Tenhunen (1997) using the parameters provided by them:

$$P_c = \frac{V_{cmax}}{6.25V_{cr}N_a} \quad (2)$$

$$P_b = \frac{J_{max}}{8.06J_{mc}N_a} \quad (3)$$

where V_{cr} is the specific activity of Rubisco ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ g}^{-1}$ Rubisco s^{-1}), J_{mc} is the potential rate of photosynthetic electron transport per unit cytochrome f ($\text{mol e}^- \text{ mol}^{-1} \text{ cyt f s}^{-1}$), and the factors 6.25 ($\text{g Rubisco g}^{-1} \text{ N}$ in Rubisco) and 8.06 ($\mu\text{mol cyt f g}^{-1} \text{ N}$ in bioenergetics) convert N mass to protein mass (Niinemets and Tenhunen 1997). Reference values at 25 °C were 20.78 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ g}^{-1}$ Rubisco s^{-1} and 156 mol electrons $\text{mol}^{-1} \text{ cyt f s}^{-1}$, for V_{cr} and J_{mc} , respectively (cf. Niinemets and Tenhunen 1997).

Statistical analysis

All statistical analyses were performed with STATISTICA (Kernel Version 5.5, StatSoft, Tulsa, OK). Normality of the data and homogeneity of variances were examined by the Shapiro-Wilk and Levene tests, and \log_{10} or square root transformations were occasionally applied to normalize the distributions of the data. A principal component analysis was conducted to explore simultaneously species variation in multiple leaf traits. For the PCA, the dependent variables P_c and P_b (calculated from V_{cmax} and J_{max}), as well as density (product of LMA and thickness), were used as inactive variables. Because

data on leaf thickness and density of *Couepia caryophylloides* were unavailable, this species does not appear in the PCA, which reduces the number of shade-tolerant species to three. Differences between groups were analyzed by a one-way ANOVA. All regressions as well as the PCA and the final ANOVA were applied on the computed mean values of variables for each species. All statistical relationships were considered significant at $P < 0.05$.

Results

Inter-specific diversity of photosynthetic capacity

Values of A_{max} ranged from 5.4 to 12.9 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ among species (Figure 1A) (equivalent to 75.1 to 290 $\text{nmol g}^{-1} \text{ s}^{-1}$; data not shown). Both V_{cmax} and J_{max} differed significantly among the 14 species ($P < 0.001$; Figures 1B and 1C). Species means of V_{cmax} varied more than twofold (from 22.1 to 55.3 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). There was a strong positive correlation between J_{max} and V_{cmax} ($r^2 = 0.9$, $P < 0.001$; Figure 2) and the J_{max}/V_{cmax} ratio varied between 1.7 and 2.2, but with only a small species effect ($P = 0.07$; Figure 1C). We observed considerable variability in R_d and no species effect was detected ($P = 0.13$; Figure 1D).

Interspecific diversity of leaf structure and chemical composition

Leaf density and thickness differed significantly among species ($P < 0.001$; Figures 3B and 3C), with more than a twofold range between extreme values. Values of LMA varied from 44.6 to 117 g m^{-2} . Shade-tolerant species had higher LMA

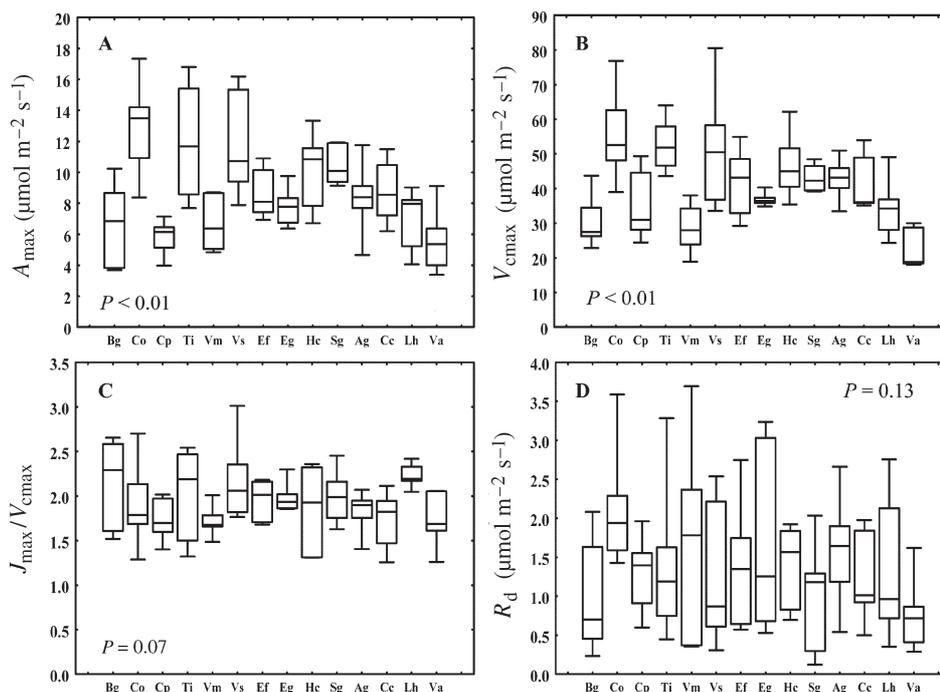


Figure 1. Box and whisker plots of (A) light-saturated net photosynthesis (A_{max}), (B) maximum carboxylation velocity (V_{cmax}), (C) ratio of maximum electron transport rate (J_{max}) to V_{cmax} , and (D) non-photorespiratory respiration (R_d) for 14 species (abbreviations as in Table 1). The upper and the lower edges of each box indicate the 75th and 25th percentiles, respectively. The horizontal line within each box is the median and the vertical bars indicate the 10th to the 90th percentile ranges. A value of $P < 0.05$ indicates a significant difference among species according to a one-way ANOVA. Shade-intolerant species are on the left, mid-tolerant species in the center and shade-tolerant species on the right of the x-axis.

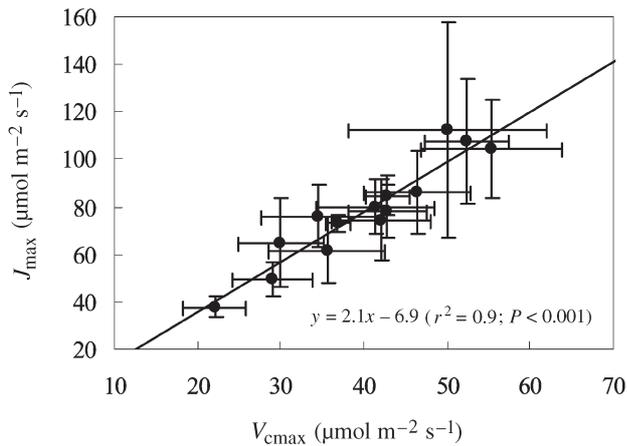


Figure 2. Relationship between the maximum electron transport rate (J_{\max}) and the maximum carboxylation velocity ($V_{c\max}$) in seedlings of 14 species of the tropical rainforest of French Guiana. Each value represents the mean \pm 95% confidence interval for a given species.

than shade-intolerant species, with the exception of *Vouacapoua americana* (Figure 3A).

Values of C_m , N_m and N_a differed significantly ($P < 0.001$) among species, ranging from 438 to 518 mg g^{-1} , 11.6 to 21.9 mg g^{-1} and 0.93 to 1.93 g m^{-2} , respectively (Figures 3D–F).

Relative investment of leaf nitrogen in carboxylation and bioenergetics

Values of PNUE differed significantly among the 14 species, ranging from 60.9 to 186.8 $\mu\text{mol mol}^{-1} \text{s}^{-1}$ (Figure 3G). In parallel, the estimated P_c and P_b varied significantly among species ($P < 0.001$). *Cecropia obtusa* invested more than 40% of its leaf N in Rubisco and *Vouacapoua americana* only about 16% (Figure 3H). As expected from the tight correlation between J_{\max} and $V_{c\max}$, the distribution of mean values of P_b among species paralleled that for P_c , but with lower values ranging from 0.03 to 0.08 (Figure 3I).

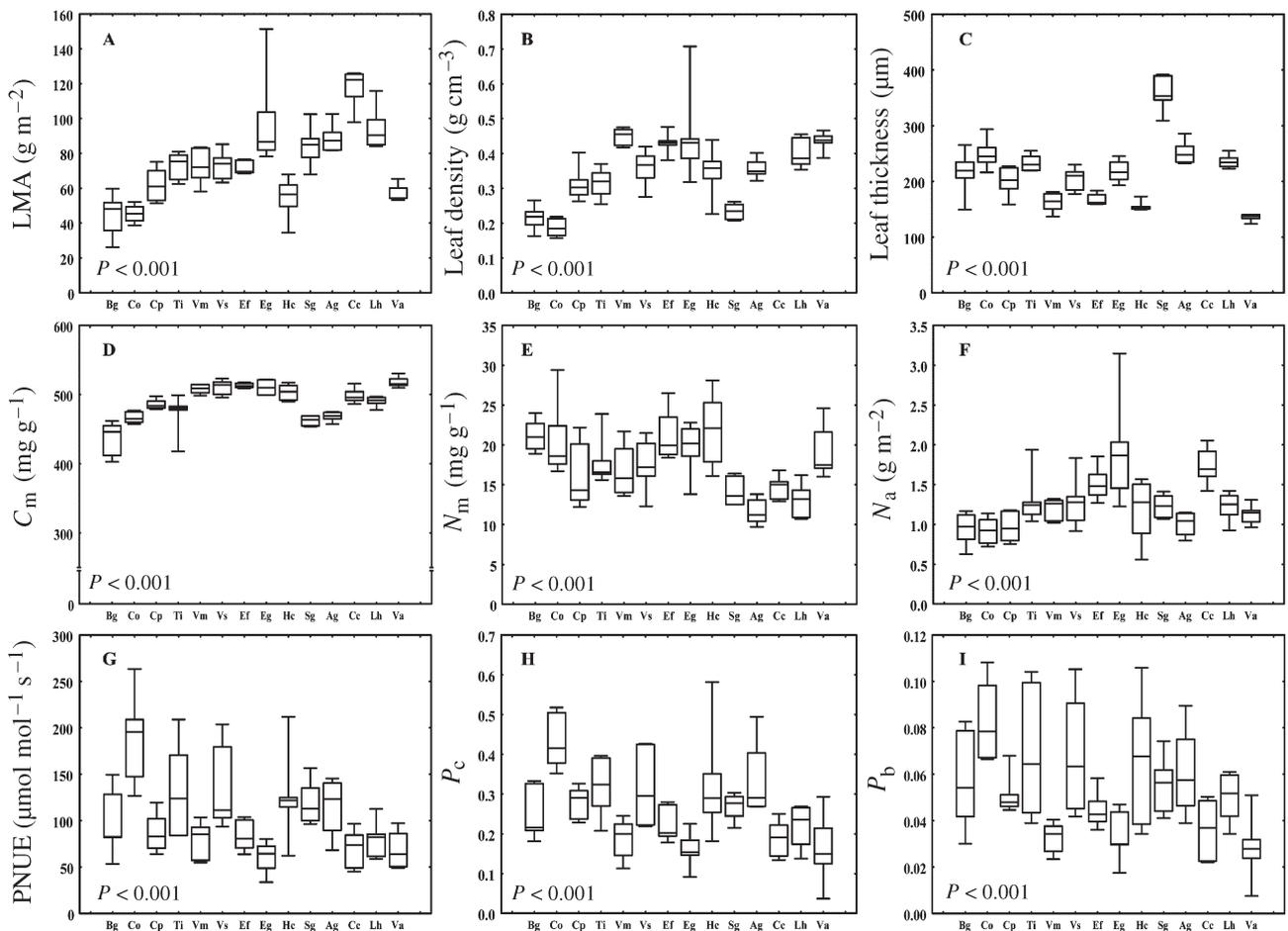


Figure 3. Box and whisker plots of leaf (A) mass per area (LMA), (B) density and (C) thickness, (D) total carbon content per unit leaf dry mass (C_m), total nitrogen content (E) per unit leaf dry mass (N_m), and (F) per unit leaf area (N_a), (G) photosynthetic nitrogen-use efficiency (PNUE), and relative investment of total leaf nitrogen in (H) Rubisco (P_c) and (I) bioenergetics (P_b) for 14 species (abbreviations as in Table 1). The upper and the lower edges of each box indicate the 75th and 25th percentiles, respectively. The horizontal line within each box is the median and the vertical bars indicate the 10th to the 90th percentile ranges. A value of $P < 0.05$ indicates a significant difference among species according to a one-way ANOVA. Shade-intolerant species are on the left, mid-tolerant species in the center and shade-tolerant species on the right of the x-axis.

Relationships between leaf morphology, chemical composition and photosynthetic capacity

We found that N_m was linearly and negatively correlated with LMA ($P < 0.01$; Figure 4): LMA increased more than twofold as N_m dropped from 21.9 to 11.6 mg g⁻¹. In contrast, C_m seemed to be independent of LMA (Figure 4). Results of a multiple regression showed that LMA was not correlated with its two components, leaf thickness and density (data not shown), and that thickness and density were not correlated either. Although N_m was not correlated with either thickness or density, C_m increased with density and decreased with thickness (Figure 4).

No correlations were found between photosynthetic capacity expressed per unit leaf area (A_{max} , V_{cmax} , J_{max} and R_d) and any leaf morphology parameter (LMA, leaf thickness and density) or N_a . Only PNUE, P_c and P_b were tightly correlated with V_{cmax} , J_{max} and A_{max} (Table 3A). Close correlations were found between PNUE and P_c and P_b ($r = 0.95$ and 0.94 , respectively), as well as between V_{cmax} and J_{max} and A_{max} ($r = 0.94$ and 0.93 , respectively). In addition, N_a was negatively correlated with P_c ($P < 0.01$; Figure 5). Similarly, photosynthetic capacity expressed per unit leaf mass was tightly correlated to P_c and P_b ($P < 0.001$). Both V_{cmax} and J_{max} decreased with increases in N_m , LMA and leaf density (but not leaf thickness) (Table 3).

Principal component analysis

A principal component analysis was applied to the variables V_{cmax} , J_{max} , R_d , LMA, leaf thickness, N_a , N_m and C_m , with the dependent variables density, P_c and P_b as supplementary variables. We also included area-based A_{max} and PNUE as non-active variables. The first two axes explained 58% of the ob-

served variability (Figure 6). The distribution of variables on the correlation circle projected on the factor plane (1×2) yielded several clusters. The main contributors to the first principal axis were thickness, V_{cmax} and J_{max} (with factorial coordinates of -0.81 in all cases). In this group, V_{cmax} and J_{max} and the inactive variable A_{max} were strongly inter-correlated. The main contributors to the second principal axis were LMA and N_a , and N_m to a lesser extent (with factor coordinates of -0.94 , -0.70 and $+0.52$, respectively). The intercorrelated supplementary variables P_c , P_b and PNUE were correlated to the first principal axis. Density and C_m were also tightly correlated. Leaf mass per area was negatively correlated to N_m discriminated by Factor 2. Photosynthetic capacity was not related to LMA or total leaf N concentration (axes were orthogonal).

The distribution of the species on the factor plane (1×2) yielded three clusters, one with high photosynthetic capacities and thick leaves, one with moderate photosynthetic capacities and high LMA leaves, and one with low photosynthetic capacities and thin leaves. The shade-tolerant *Vouacapoua americana* (low photosynthetic capacity) and the pioneer *Cecropia obtusa* (high photosynthetic capacity and high PNUE) were independent of these groups. These groups did not match the ecological groups defined by Favrichon (1994) and, furthermore, the three species clusters each contained species from different ecological groups. On the second axis, shade-tolerant species seemed to display lower N_m and higher LMA than mid-tolerant species—except for *Symphonia globulifera* and *Eperua grandiflora*—and shade-intolerant species

A multivariate ANOVA applied to the two groups of variables revealed by the PCA, V_{cmax} , J_{max} , R_d and thickness for the first axis ($P = 0.97$) and LMA, N_a and N_m for the second ($P = 0.11$), confirmed that no difference was observed among the

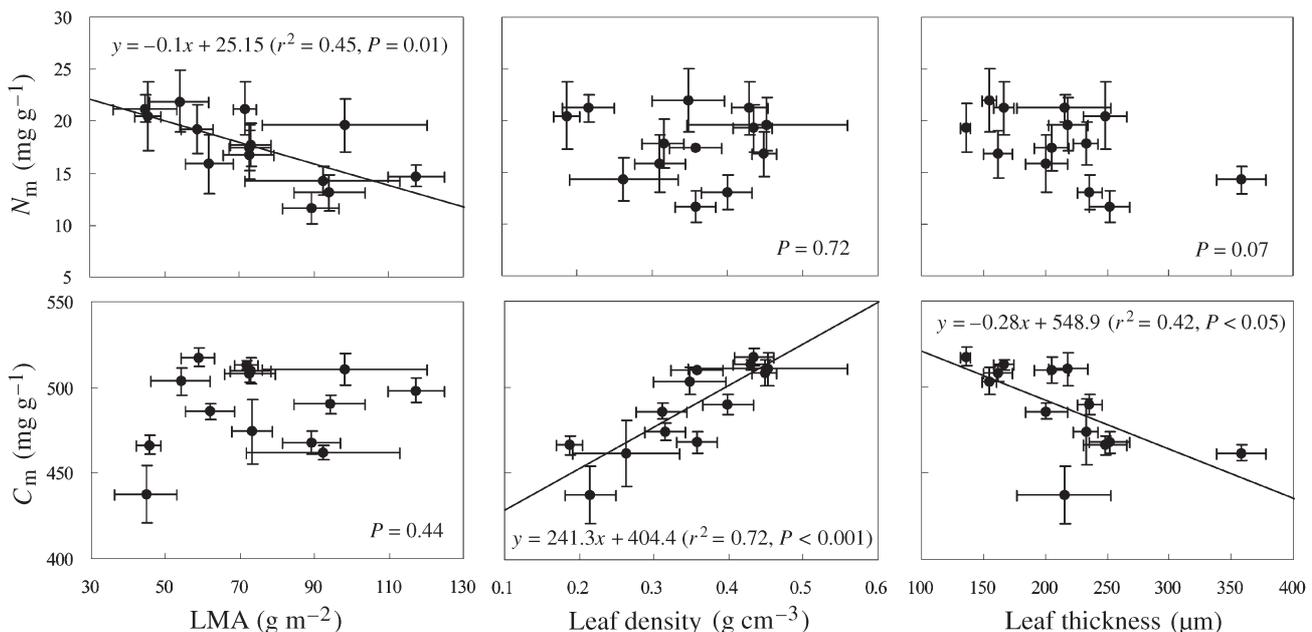


Figure 4. Relationships between leaf mass per area ratio (LMA), leaf thickness or leaf density, and total nitrogen (N_m) or carbon concentration (C_m) per unit leaf dry mass. Simple linear regressions were applied to species means (\pm 95% confidence intervals) of the variables.

Table 3. Pearson's correlation coefficients between photosynthetic capacity expressed on a leaf area or on a mass basis (light-saturated net photosynthesis rate (A_{\max}), maximal carboxylation velocity (V_{cmax}), maximum electron transport rate (J_{max}) and dark respiration (R_d)) and studied leaf characteristics: total carbon content per unit leaf dry mass (C_m); total nitrogen content per unit leaf dry mass (N_m) and per unit leaf area (N_a); leaf mass per area (LMA); leaf density and thickness; photosynthetic nitrogen-use efficiency (PNUE); and relative nitrogen allocation to Rubisco (P_c) and to bioenergetics (P_b). Simple linear regressions were applied using species means for each variable. Significance levels: ns, $P > 0.05$; *, $P < 0.05$; **, $P = 0.01$; ***, $P = 0.001$; and ****, $P = 0.0001$.

	A_{\max}	V_{cmax}	J_{max}	R_d
<i>Photosynthetic capacity expressed on a leaf area basis ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)</i>				
N_a (mg m^{-2})	0.04 ns	0.05 ns	0.05 ns	0.07 ns
LMA (g m^{-2})	-0.04 ns	0.02 ns	0.01 ns	-0.01 ns
Leaf thickness (μm)	0.42 ns	0.39 ns	0.42 ns	-0.001 ns
Leaf density (g cm^{-3})	-0.46 ns	-0.45 ns	-0.43 ns	0.01 ns
PNUE ($\mu\text{mol mol}^{-1} \text{s}^{-1}$)	0.83 ***	0.79 ***	0.75 **	0.39 ns
P_c	0.71 **	0.77 ***	0.7 **	0.41 ns
P_b	0.77 ***	0.8 ***	0.81 **	0.31 ns
<i>Photosynthetic capacity expressed on a leaf mass basis ($\text{nmol g}^{-1} \text{s}^{-1}$)</i>				
N_m (mg g^{-1})	0.55 *	0.55 *	0.55 *	0.54 ns
C_m (mg g^{-1})	-0.32 ns	-0.35 ns	-0.39 ns	-0.14 ns
LMA (g m^{-2})	-0.67 **	-0.70 **	-0.67 **	-0.69 **
Leaf thickness (μm)	0.08 ns	0.03 ns	0.09 ns	-0.19 ns
Leaf density (g cm^{-3})	-0.68 **	-0.71 **	-0.73 **	-0.44 ns
PNUE ($\mu\text{mol mol}^{-1} \text{s}^{-1}$)	0.9 ****	0.87 ****	0.88 ****	0.66 **
P_c	0.81 ***	0.85 ****	0.83 ***	0.63 *
P_b	0.80 ***	0.82 ***	0.86 ****	0.54 *

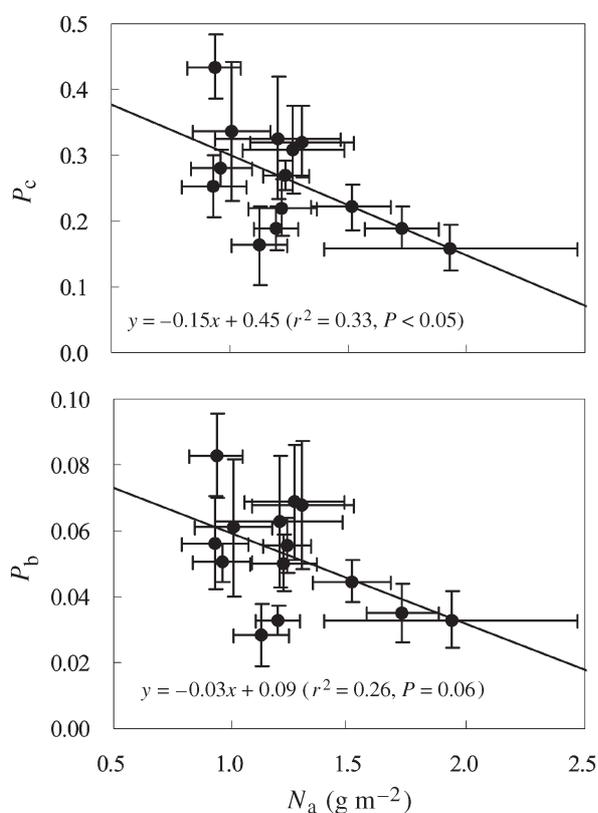


Figure 5. Relationships between the relative investment of total leaf nitrogen in Rubisco (P_c), and to bioenergetics (P_b), and the amount of leaf nitrogen per unit area (N_a). Simple linear regressions were applied to species means ($\pm 95\%$ confidence intervals) of the variables.

three Favrichon groups. A complementary one-way ANOVA of the effect of the ecological groups on the parameters, applied to each studied variable, confirmed this observation. Furthermore, no significant difference was observed between the three groups for all the studied parameters, even when the pioneer *Cecropia obtusa* was removed from the analysis (data not shown).

Discussion

Interspecific variability in leaf traits

Large differences were found in leaf traits among seedlings from 14 tropical rain forest tree species in French Guiana. Leaf structure varied significantly and, in particular, leaf density and thickness displayed a wide range of values. No correlation was found between leaf density and thickness, in agreement with previous studies (Niinemets 1999a, Wilson et al. 1999). The two variables seem to be totally independent even among species from a common biome, indicating that control over leaf density and thickness is exerted by different mechanisms (Niinemets 1999a). Similarly, N_m displayed a wide range of values that fell within the ranges reported by others (Niinemets 1999a, Bonal et al. 2000). Mature trees generally exhibit higher LMA and leaf N than seedlings (Thomas and Winner 2002, Mediavilla and Escudero 2003) and this could explain why our N_m values ranked within the lower range of those presented by Niinemets (1999a). We found that N_m was independent of leaf density and thickness, which contrasts with the observations of Niinemets (1999a) and the general view that

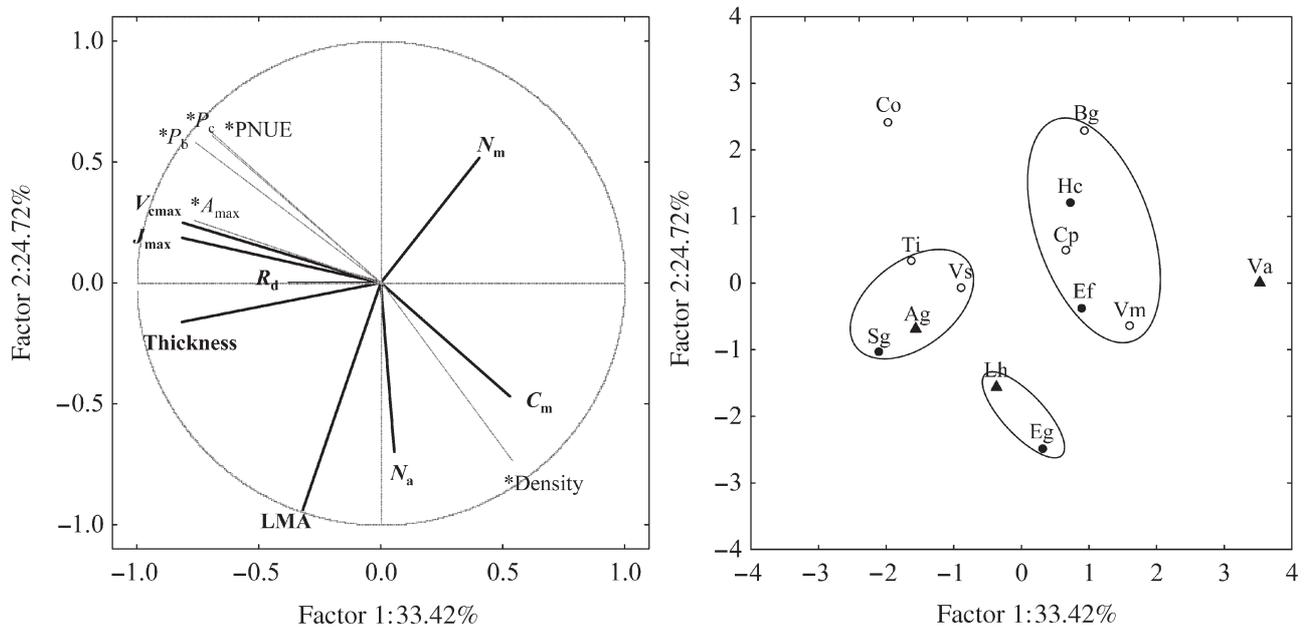


Figure 6. Principal component analysis of the studied species, ordinated according to eight leaf traits (in bold): maximum rate of carboxylation (V_{cmax}); maximum rate of electron transport (J_{max}); dark respiration (R_d); leaf thickness; leaf mass to area ratio (LMA); total carbon (C_m) and nitrogen concentrations per unit leaf dry mass (N_m); and nitrogen content per unit leaf area (N_a). Additional variables (with asterisks) were light-saturated net photosynthesis (A_{max}), leaf density, photosynthetic nitrogen-use efficiency (PNUE) and the relative investment of leaf nitrogen in carboxylation (P_c) and bioenergetics (P_b). Projection of the variables on the factor-planes (1×2) and projection of the species on the same plane are shown. Circles envelop points from species belonging to the three ecological groups: shade-intolerant (○), mid-tolerant (●) and shade-tolerant (▲) species (Favrichon 1994).

species with a low N_m usually maximize LMA through increased leaf density or thickness, thereby maximizing N_a . The interspecific variability in C_m was also high and similar to that recorded by D. Bonal (personal communication) for a wider range of French Guiana forest tropical species. We found that C_m was tightly correlated with density: high leaf density may be partly associated with the presence of sclerenchymatous tissues with high lignin contents (Niinemets and Kull 1998, Niinemets 1999b). However, although dense leaves had higher C_m , neither leaf density nor C_m was correlated with LMA. Leaf mass per area is often tightly correlated with leaf life span (Reich et al. 1997, Wright and Cannon 2001, Wright et al. 2004) and a high LMA is supposed to contribute to enhanced leaf resistance to herbivory (Walters and Reich 1999, Rijkers et al. 2000, Hanba et al. 2002). However, there is little information on how leaf density or thickness influences leaf life span in tree species. In a study of 17 perennial dicots, Wright (2001) found that LMA and leaf thickness each explained approximately 30–40% of the variation in leaf life span, whereas leaf toughness (generally correlated with density) explained only 25%. A trade-off between leaf N investment in photosynthesis and leaf life span has frequently been detected (Reich et al. 1991, 1997). In our study, dense leaves displayed low N allocation to photosynthesis (low values of P_c and P_b), but we did not determine if this was associated with long life span.

These large differences in leaf structure and leaf N concentration were paralleled by significant variability (twofold

range) in photosynthetic capacity as measured by V_{cmax} and J_{max} . As expected from earlier findings (Niinemets et al. 1998), V_{cmax} and J_{max} were tightly correlated, and no species-specific feature could be detected between these components of photosynthetic capacity. The residual (nonsignificant) variability may be associated with the method used to estimate the two parameters. For example, the estimate of V_{cmax} may be affected by internal resistance to CO_2 transfer, because V_{cmax} is adjusted on the CO_2 -limited fraction of the curve, and substomatal CO_2 mole fraction (not chloroplastic CO_2) was used for the computation. A significant underestimation of V_{cmax} may result (Ethier and Livingston 2004). The estimate of J_{max} derives from the CO_2 -saturated segment of the curve and is therefore less prone to underestimation. To date, no information is available about the importance of internal resistance to CO_2 transfer in the tested species, and we have no idea whether significant interspecific variability affects this resistance in tropical trees, although significant diversity has been recorded among evergreen trees (Warren and Adams 2004). From recent investigations, it may be concluded that the internal resistance is of the same magnitude as stomatal resistance (Piel et al. 2002). Non-photorespiratory respiration was low and displayed large variation due to measurement errors. A significant interspecific diversity in R_d , related to thickness, density and N_m , is predicted, but would require more precise estimates with an adapted chamber.

The values of V_{cmax} and J_{max} recorded in our study were

within the range of those reported by Niinemets (1999a) for a large number of species from a wide range of earth biomes with woody vegetation, and close to values recorded in the canopy of rain forest species in central Amazonia (Carswell et al. 2000), but they were lower than those reported by Dreyer et al. (2001) for temperate forest tree seedlings (63 to $90.5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). This difference can be explained on the basis of the following considerations: (1) tropical rain forest trees operate at temperatures close to optimum for photosynthesis and with ample water supply almost year-round, whereas temperate species usually operate at less than optimum temperatures during a large fraction of the growth season; and (2) leaf life span is usually, but not always, longer in tropical species than in deciduous, temperate broad-leaved species. As a consequence, higher photosynthetic capacities are required in temperate trees to approach the net CO_2 assimilation rates detected in tropical species.

Leaf structure and photosynthetic capacity are plastic features that depend on the irradiance received during growth (Niinemets and Kull 1998, Lee et al. 2000, Evans and Poorter 2001). Our data were recorded under common conditions and at a comparatively high irradiance (30%) relative to that generally found at the forest floor (usually below 5%; Bazzaz and Pickett 1980, Clark et al. 1996, Poorter 1999). Only the pioneer species *Cecropia obtusa* generally grows in large gaps. Because the plastic responses of leaf traits are poorly known in these species (Rijkers et al. 2000, Kitajima and Hogan 2003), we can only speculate that, based on the results obtained with temperate species (P. Montpied et al., INRA-UHP, Champenoux, France, personal communication), the interspecific diversity we recorded at 30% of full sunlight would probably be maintained at the much lower irradiances on the forest floor. Additional data are needed to document such irradiance \times genotype interactions.

Juvenility effects are known to occur for leaf anatomy and photosynthetic capacity, and adult trees often display rather different leaves (Thomas and Winner 2002, Mediavilla and Escudero 2003). For example, significant changes in leaf structure and function occur during successive architectural stages in *Dicorynia guianensis* Amsh. (Caesalpinaceae) (Roggy et al. 2005). Nevertheless, even though the absolute values of leaf traits may vary, the ranking of species and the degree of diversity is likely to remain independent of tree age; however, this assumption needs to be verified.

Relationships between leaf structure, leaf nitrogen concentration and photosynthetic capacity

Despite the tight correlation observed on a broad scale between leaf N and photosynthetic capacity (Reich and Walters 1994, Reich et al. 1994, 1999, Niinemets 1999a, Wright et al. 2004), there is significant variability in PNUE among co-occurring species (Pons and Pearcy 1994). This was confirmed in our data set, where there was no correlation between leaf N concentration and photosynthetic capacity when expressed on a leaf area basis, whereas weak correlations were detected when these variables were expressed on a mass basis. This difference was a result of the covariation of leaf N and LMA;

moreover, the relationships were negative, i.e., increasing N and density both resulted in a slight decrease in photosynthetic capacity. No other leaf trait was significantly correlated to photosynthetic capacity expressed on a leaf area basis. These findings led to the conclusion that the diversity of photosynthetic capacity among species was explained by differences in the relative allocation of N to photosynthetic functions. In other words, there was large diversity in PNUE among species.

To document this conclusion, we computed an index for P_c and P_b (Niinemets and Tenhunen 1997). Because of the tight correlation between J_{max} and V_{cmax} , P_c and P_b were also tightly correlated, and so for simplicity, we will concentrate the discussion on P_c , which is tightly correlated with PNUE. The computation of this allocation may yield comparative results, provided that several assumptions are fulfilled: Rubisco specific activity is stable among species, and Rubisco in the leaves is fully activated—which is probably not always the case (Warren et al. 2003, Warren and Adams 2004). The specific activity used in our computation was derived from in vivo data produced by Jordan and Ögren (1984) and is smaller than that produced by von Caemmerer et al. (1994) with transgenic tobacco, and as a result, the computed N investment was probably an overestimate of the real values. We nevertheless kept these values to facilitate comparisons with published results based on the same parameters and computed values of PNUE. Our computations resulted in a large range of values for P_c , with highest values (above 40%) in the pioneer *Cecropia obtusa* and lowest values (around 15%) in *Vouacapoua americana* and *Eperua grandiflora*. In parallel, P_b ranked from 3 to 8%. The P_c values computed by Niinemets (1999a) ranged from 4 to 17% for adult trees. Similarly, our PNUE values (61 – $187 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{N s}^{-1}$) were large compared with the literature values (Field and Mooney 1986, Reich et al. 1991). Our data therefore point to large variability in N investment in photosynthesis (i.e., PNUE) among our study species, and this factor was probably the main source of variation in photosynthetic capacity among the tested species.

Do ecological groups of rain forest trees differ in leaf traits?

Based on our data set and the studied parameters, it was difficult to detect a clear-cut segregation among the groups defined by Favrichon (1994), although photosynthetic capacities were weakly discriminating. The pioneer and fast-growing *Cecropia obtusa* differed from the other shade-intolerant species by having a larger photosynthetic capacity, whereas *Bagassa guyanensis* and *Carapa procera* displayed low photosynthetic capacities, comparable with those of the shade-tolerant species. Similarly, the deeply shade-tolerant *Vouacapoua americana* had a much lower photosynthetic capacity than the other shade-tolerant species. Although some of our shade-intolerant species tended to display higher PNUE and lower LMA and N_a than the shade-tolerant species, as observed by others (Reich and Walters 1994, Reich et al. 1994, Ellsworth and Reich 1996, Hikosaka and Hirose 2000, Poorter et al. 2000), no significant inter-group difference was detected. This was well illustrated by the absence of any grouping in the PCA. The large

within-group variability observed for most of the variables makes Favrichon's classification questionable. Favrichon's classification was based on the vegetative development of adult and sub-adult trees, and no criteria relative to seedlings were taken into account (Favrichon 1994). The only pioneer species in our experiment, *Cecropia obtusa*, did not break established classification rules; it had a high photosynthetic capacity, allocated a large fraction of leaf N to photosynthesis and had a low LMA and N_a . However, non-pioneer species like *Tabebuia insignis*, *Virola surinamensis*, *Hymenaea courbaril* and *Symphonia globulifera* had photosynthetic capacities comparable with that of *Cecropia obtusa*. Distribution of the species in the factorial plan confirmed the lack of any potential grouping based on these criteria.

Many studies have predicted that leaves with a high LMA are better defended against herbivore attack than their low LMA counterparts (Grime et al. 1996, Hanley and Lamont 2002) and exhibit longer life spans (Reich et al. 1991, 1992, 1997, 1999, Wright et al. 2004). We found no correlation between LMA (and low N_m) and leaf density or C_m (which may be associated with a larger investment of carbon in defence compounds), and the ecological groups did not differ in this respect.

We conclude that photosynthetic features and functional leaf traits, although they differ greatly among co-occurring rain forest species, are inadequate for characterizing ecological groups. Other traits related to seedling carbon budget, like construction costs of leafy shoots and leaf life spans, probably need to be taken into account. The question of whether tree species can be assigned to clear ecological groups based on their growth and carbon economy at the seedling stage, or whether there is a continuum of growth habits between the extremes, remains a matter of debate.

Acknowledgments

The authors thank Jacqueline Marchand for carbon and nitrogen analyses, Jean-Yves Goret and Elli Lentilus for their help throughout the experiment, and Christopher Baraloto for the supply of seedlings. Useful discussions with Pierre Montpied, Daniel Epron and Eric Marcon are gratefully acknowledged. We also thank Stéphane Ponton, Patrick Heuret and Christopher Baraloto for constructive comments on earlier drafts of the manuscript.

References

- Barigah, T.S., P. Imbert and R. Huc. 1998. Croissance et assimilation nette foliaire de jeunes plants de dix arbres de la forêt guyanaise cultivés à cinq niveaux d'éclaircissement. *Ann. For. Sci.* 55:681–706.
- Bazzaz, F.A. and S.T.A. Pickett. 1980. Physiological ecology of tropical succession: a comparative review. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 11: 287–310.
- Béna, P. 1960. *Essences forestières de Guyane*. Imprimerie Nationale, Paris, 489 p.
- Bonal, D., D. Sabatier, P. Montpied, D. Tremeaux and J.M. Guehl. 2000. Interspecific variability of $\Delta^{13}C$ among trees in rainforests of French Guiana: functional groups and canopy integration. *Oecologia* 124:454–468.
- Carswell, F.E., P. Meir, E.V. Wandelli, L.C.M. Bonates, B. Kruijt, E.M. Barbosa, A.D. Nobre, J. Grace and P.G. Jarvis. 2000. Photosynthetic capacity in a central Amazonian rain forest. *Tree Physiol.* 20:179–186.
- Clark, D.B., D.A. Clark, P.M. Rich, S. Weiss and S.F. Oberbauer. 1996. Landscape-scale evaluation of understory light and canopy structure: methods and application in a neotropical lowland rain-forest. *Can. J. Forest Res.* 26:747–757.
- Davies, S.J. 1998. Photosynthesis of nine pioneer *Macaranga* species from Borneo in relation to life history. *Ecology* 79:2292–2308.
- Dreyer, E., X. Le Roux, P. Montpied, F.A. Daudet and F. Masson. 2001. Temperature response of leaf photosynthetic capacity in seedlings from seven temperate tree species. *Tree Physiol.* 21: 223–232.
- Ellsworth, D.S. and P.B. Reich. 1993. Canopy structure and vertical patterns of photosynthesis and related leaf traits in a deciduous forest. *Oecologia* 96:169–178.
- Ellsworth, D.S. and P.B. Reich. 1996. Photosynthesis and leaf nitrogen in five Amazonian tree species during early secondary succession. *Ecology* 77:581–594.
- Ethier, G.J. and N. Livingston. 2004. On the need to incorporate sensitivity to CO_2 transfer conductance into the Farquhar-von Caemmerer-Berry leaf photosynthesis model. *Plant Cell Environ.* 27:137–153.
- Evans, J.R. 1989. Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C_3 plants. *Oecologia* 78:9–19.
- Evans, J.R. and H. Poorter. 2001. Photosynthetic acclimation of plants to growth irradiance: the relative importance of specific leaf area and nitrogen partitioning in maximizing carbon gain. *Plant Cell Environ.* 24:755–767.
- Farquhar, G.D., S. von Caemmerer and J.A. Berry. 1980. A biochemical model of photosynthetic CO_2 assimilation in leaves of C_3 species. *Planta* 149:78–90.
- Favrichon, V. 1994. Classification des espèces arborées en groupes fonctionnels en vue de la réalisation d'un modèle de dynamique de peuplement en forêt guyanaise. *Rev. Ecol. (Terre et Vie)* 49: 379–403.
- Favrichon, V. 1995. *Modèle matriciel déterministe en temps discret. Application à l'étude de la dynamique d'un peuplement forestier tropical humide*. Ph.D. Thesis, Univ. Claude Bernard, Lyon, France, 251 p.
- Fetcher, N., B.R. Strain and S.F. Oberbauer. 1983. Effects of light regime on the growth, leaf morphology, and water relations of seedlings of two species of tropical trees. *Oecologia* 58:314–319.
- Field, C. and H.A. Mooney. 1986. The photosynthesis–nitrogen relationship in wild plants. *In* *On the Economy of Plant Form and Function*. Ed. T.J. Givnish. Cambridge University Press, Cambridge, U.K., pp 25–55.
- Grime, J.P., J.H.C. Cornelissen, K. Thompson and J.G. Hodgson. 1996. Evidence of a causal connection between antiherbivore defence and the decomposition rate of leaves. *Oikos* 77:489–494.
- Hanba, Y.T., H. Kogami and I. Terashima. 2002. The effect of growth irradiance on leaf anatomy and photosynthesis in *Acer* species differing in light demand. *Plant Cell Environ.* 25:1021–1030.
- Hanley, M.E. and B.B. Lamont. 2002. Relationships between physical and chemical attributes of congeneric seedlings: how important is seedling defence? *Funct. Ecol.* 16:216–222.
- Harley, P.C., R.B. Thomas, J.F. Reynolds and B.R. Strain. 1992. Modelling photosynthesis of cotton grown in elevated CO_2 . *Plant Cell Environ.* 15:271–282.
- Hikosaka, K. and T. Hirose. 2000. Photosynthetic nitrogen-use efficiency in evergreen broad-leaved woody species coexisting in a warm-temperate forest. *Tree Physiol.* 20:1249–1254.

- Hikosaka, K. and I. Terashima. 1995. A model of the acclimation of photosynthesis in the leaves of C_3 plants to sun and shade with respect to nitrogen use. *Plant Cell Environ.* 18:605–618.
- Jordan, D.B. and W.L. Ögren. 1984. The CO_2/O_2 specificity of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. Dependence on ribulose bisphosphate concentration, pH and temperature. *Planta* 161:308–313.
- Kitajima, K. 1994. Relative importance of photosynthetic traits and allocation patterns as correlates of seedling shade tolerance of 13 tropical trees. *Oecologia* 98:419–428.
- Kitajima, K. and K.P. Hogan. 2003. Increases of chlorophyll a/b ratios during acclimation of tropical woody seedlings to nitrogen limitation and high light. *Plant Cell Environ.* 26:857–865.
- Le Roux, X., S. Grand, E. Dreyer and F.A. Daudet. 1999. Parameterization and testing of a biochemically based photosynthesis model for walnut trees (*Juglans regia*) and seedlings. *Tree Physiol.* 19:481–492.
- Lee, D.W., S.F. Oberbauer, P. Johnson, B. Krishnapilay, M. Mansor, H. Mohamad and S.K. Yap. 2000. Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two southeast Asian *Hopea* (Dipterocarpaceae) species. *Am. J. Bot.* 87:447–455.
- Mediavilla, S. and A. Escudero. 2003. Mature trees versus seedlings: differences in leaf traits and gas exchange patterns in three co-occurring Mediterranean oaks. *Ann. For. Sci.* 60:455–460.
- Messier, C., R. Doucet, J.-C. Ruel, Y. Claveau, C. Kelly and M.J. Lechowicz. 1999. Functional ecology of advance regeneration in relation to light in boreal forests. *Can J. For. Res.* 29:812–823.
- Niinemets, Ü. 1997. Role of foliar nitrogen in light harvesting and shade tolerance of four temperate deciduous woody species. *Funct. Ecol.* 11:518–531.
- Niinemets, Ü. 1999a. Components of leaf dry mass per area—thickness and density—alter leaf photosynthetic capacity in reverse directions in woody plants. *New Phytol.* 144:35–47.
- Niinemets, Ü. 1999b. Energy requirement for foliage formation is not constant along canopy light gradients in temperate deciduous trees. *New Phytol.* 141:459–470.
- Niinemets, Ü. and O. Kull. 1998. Stoichiometry of foliar carbon constituents varies along light gradients in temperate woody canopies: implications for foliage morphological plasticity. *Tree Physiol.* 18:467–479.
- Niinemets, Ü. and J.D. Tenhunen. 1997. A model separating leaf structural and physiological effects on carbon gain along light gradients for the shade-tolerant species *Acer saccharum*. *Plant Cell Environ.* 20:845–866.
- Niinemets, Ü., O. Kull and J.D. Tenhunen. 1998. An analysis of light effects on foliar morphology, physiology and interception in temperate deciduous woody species shade tolerance. *Tree Physiol.* 18:681–696.
- Piel, C., E. Frak, X. Le Roux and B. Genty. 2002. Effect of local irradiance on CO_2 transfer conductance of mesophyll in walnut. *J. Exp. Bot.* 53:1–8.
- Pons, T.L. and R. Pearcy. 1994. Nitrogen reallocation and photosynthetic acclimation in response to partial shading in soybean plants. *Physiol. Plant.* 92:636–644.
- Poorter, L. 1999. Growth responses of 15 rainforest tree species to a light gradient: the relative importance of morphological and physiological traits. *Funct. Ecol.* 13:396–410.
- Poorter, L., R. Kwant, R. Hernández, E. Medina and M.J.A. Werger. 2000. Leaf optical properties in Venezuelan cloud forest trees. *Tree Physiol.* 20:519–526.
- Popma, J., F. Bongers and M.J.A. Werger. 1992. Gap-dependence and leaf characteristics of trees in a tropical lowland rain forest in Mexico. *Oikos* 63:207–214.
- Reich, P.B. and M.B. Walters. 1994. Photosynthesis–nitrogen relations in Amazonian tree species. II: Variation in nitrogen vis-à-vis specific leaf area influences mass- and area-based expressions. *Oecologia* 97:73–80.
- Reich, P.B., C. Uhl, M.B. Walters and D.S. Ellsworth. 1991. Leaf life-span as a determinant of leaf structure and function among 23 Amazonian tree species. *Oecologia* 86:16–24.
- Reich, P.B., M.B. Walters and D.S. Ellsworth. 1992. Leaf life-span in relation to leaf, plant and stand characteristics among diverse ecosystems. *Ecol. Monogr.* 62:365–392.
- Reich, P.B., M.B. Walters, D.S. Ellsworth and C. Uhl. 1994. Photosynthesis–nitrogen relations in Amazonian tree species. I: Patterns among species and communities. *Oecologia* 97:62–72.
- Reich, P.B., M.B. Walters and D.S. Ellsworth. 1997. From tropics to tundra: global convergence in plant functioning. *PNAS* 94:13,730–13,734.
- Reich, P.B., D.S. Ellsworth, M.B. Walters, J.M. Vose, C. Gresham, J.C. Volin and W.D. Bowman. 1999. Generality of leaf trait relationships: a test across six biomes. *Ecology* 80:1955–1969.
- Rijkers, T., T.L. Pons and F. Bongers. 2000. The effect of tree height and light availability on photosynthetic leaf traits of four neotropical species differing in shade tolerance. *Funct. Ecol.* 14:77–86.
- Roggy, J.C., E. Nicolini, P. Imbert, Y. Caraglio, A. Bosc and P. Heuret. 2005. Links between tree structure, and functional leaf traits in the tropical forest tree *Dicorynia guianensis* Amshoff (Caesalpinaceae). *Ann. For. Sci.* In press.
- Seemann, J.R., T.D. Sharkey, J.L. Wang and C.B. Osmond. 1987. Environmental effects on photosynthesis, nitrogen-use efficiency and metabolite pools in leaves of sun and shade plants. *Plant Physiol.* 84:796–802.
- Swaine, M.D. and T.C. Whitmore. 1988. On the definition of ecological species groups in tropical rain forests. *Vegetatio* 75:81–86.
- Thomas, S.C. and W.E. Winner. 2002. Photosynthetic differences between saplings and adult trees: an integration of field results by meta-analysis. *Tree Physiol.* 22:117–127.
- Turner, I.M. 2001. *The ecology of trees in the tropical rain forest*. Cambridge University Press, Cambridge, U.K., 298 p.
- von Caemmerer, S., J.R. Evans, G.S. Hudson and T.J. Andrews. 1994. The kinetics of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in vivo inferred from measurements of photosynthesis in leaves of transgenic tobacco. *Planta* 195:88–97.
- Walters, M.B. and P.B. Reich. 1999. Low-light carbon balance and shade tolerance in the seedlings of woody plants: do winter deciduous and broad-leaved evergreen species differ? *New Phytol.* 143:143–154.
- Warren, C.R. and M.A. Adams. 2004. Evergreen trees do not maximize instantaneous photosynthesis. *Trends Plant Sci.* 9:270–274.
- Warren, C.R., E. Dreyer and M.A. Adams. 2003. Photosynthesis–Rubisco relationships in foliage of *Pinus sylvestris* in response to nitrogen supply and the proposed role of Rubisco and amino acids as nitrogen stores. *Trees* 17:359–366.
- Wilson, K.B., D.D. Baldocchi and P.J. Hanson. 2000. Spatial and seasonal variability of photosynthetic parameters and their relationship to leaf nitrogen in a deciduous forest. *Tree Physiol.* 20:565–578.
- Wilson, P.J., K. Thompson and J.G. Hodgson. 1999. Specific leaf area and leaf dry matter content as alternative predictors of plant strategies. *New Phytol.* 143:155–162.
- Wright, I.J. and K. Cannon. 2001. Relationships between leaf lifespan and structural defences in a low-nutrient, sclerophyll flora. *Funct. Ecol.* 15:351–359.
- Wright, I.J., P.B. Reich, M. Westoby et al. 2004. The worldwide leaf economics spectrum. *Nature* 428:821–827.

Résumé : Les objectifs de ce travail de thèse étaient : (i) identifier les principaux compromis et covariations d'un ensemble de traits foliaires relatifs à l'acquisition du carbone et (ii) caractériser la variabilité de ces traits en réponse à l'éclairement (plasticité phénotypique) et la diversité interspécifique de cette plasticité chez des espèces de forêt tropicale humide. Les mesures ont été réalisées sur des semis de 13 espèces d'arbres élevés en conditions contrôlées dans 3 traitements d'éclaircements relatifs distincts. Une analyse coût-bénéfice des traits du bilan de carbone foliaire a été centrée sur les coûts de construction du métamère ($CC_{\text{met}m}$), le temps de retour sur investissement (PBT) et la mesure des durées de vie des feuilles (LLS). Une forte diversité interspécifique a été observée pour l'ensemble des traits étudiés. Les espèces se répartissent le long d'un axe opposant durée de vie des feuilles et LMA (masse surfacique) d'un côté, aux capacités photosynthétiques (A_{sat}), $PNUE$ (A_{sat}/N), respiration (R_d) et teneurs en azote (N_m) de l'autre. Ces résultats sont en adéquation avec le schéma universel d'acquisition des ressources proposé par Wright et al. (2004). Les relations entre LLS et PBT sont faibles et l'ensemble des espèces amortissent très largement leur $CC_{\text{met}m}$. De manière générale, le classement des espèces est maintenu d'un traitement à l'autre et, à l'exception des coûts de construction, seuls de faibles effets d'interaction ont été observés entre espèces et traitements. Le calcul d'un indice de plasticité a également permis de montrer qu'en dépit d'une certaine diversité interspécifique de la plasticité phénotypique, aucune espèce n'était globalement plus « plastique » que les autres sur l'ensemble des traits considérés. Enfin, si les espèces pionnières se distinguent nettement par leurs attributs, leur degré de plasticité n'est pas différent de celui des espèces de sous-bois.

Mots clés : capacités photosynthétiques, azote, durée de vie des feuilles, plasticité phénotypique, éclaircissement relatif, bilan de carbone, temps de retour sur investissement, coûts de construction, forêt tropical humide

Abstract: The aim of this research were (i) identify the main trade-off and covariations of a group of leaf traits related to carbon assimilation, and (ii) assess the irradiance-elicited plasticity, and test whether this plasticity differs among species of tropical rain forest. Measurements were made with saplings from 13 species growing under three levels of irradiance, provided by shading nets, in an open green-house. A cost benefit analysis was undertaken to quantify carbon balance of leaves metamers. Construction costs of metamers ($CC_{met,m}$), payback time of the investment of carbon into leaf and metamer structure (PBT), and leaf life span (LLS) were recorded on the saplings. A large inter-specific diversity was recorded for all the traits, the species are scattered along a principal component axis opposing on one hand LLS and leaf mass-to-area ratio (LMA), and on the other hand, photosynthetic capacity, photosynthetic nitrogen use efficiency ($PNUE$), respiration (R_d) and leaf nitrogen content (N). These results are in agreement with the concept of “leaf economics spectrum” suggested by Wright et al. (2004). The relationship between LLS and PBT were very loose, which shows that all species fully cover the construction costs, even under very low irradiance. Species ranking was not modified by irradiance whatever the trait, and, except for specific construction costs, only very weak interactions were found between species and irradiance. The computation of a plasticity index allowed to demonstrate that despite some inter-specific diversity of the values taken by the index for some traits, there was no consistent difference among species, and none of them appeared consistently more plastic than the others. Even if the two pioneer species analysed here differed largely from the others, from the point of view of trait values, they displayed similar levels of plasticity.

Keywords: photosynthetic capacity, nitrogen, leaf life span, phenotypic plasticity, relative irradiance, carbon balance, payback time, construction costs, tropical rainforest

Résumé : Les objectifs de ce travail de thèse étaient : (i) identifier les principaux compromis et covariations d'un ensemble de traits foliaires relatifs à l'acquisition du carbone et (ii) caractériser la variabilité de ces traits en réponse à l'éclairement (plasticité phénotypique) et la diversité interspécifique de cette plasticité chez des espèces de forêt tropicale humide. Les mesures ont été réalisées sur des semis de 13 espèces d'arbres élevés en conditions contrôlées dans 3 traitements d'éclaircements relatifs distincts. Une analyse coût-bénéfice des traits du bilan de carbone foliaire a été centrée sur les coûts de construction du métamère ($CC_{\text{met}m}$), le temps de retour sur investissement (PBT) et la mesure des durées de vie des feuilles (LLS). Une forte diversité interspécifique a été observée pour l'ensemble des traits étudiés. Les espèces se répartissent le long d'un axe opposant durée de vie des feuilles et LMA (masse surfacique) d'un côté, aux capacités photosynthétiques (A_{sat}), $PNUE$ (A_{sat}/N), respiration (R_d) et teneurs en azote (N_m) de l'autre. Ces résultats sont en adéquation avec le schéma universel d'acquisition des ressources proposé par Wright et al. (2004). Les relations entre LLS et PBT sont faibles et l'ensemble des espèces amortissent très largement leur $CC_{\text{met}m}$. De manière générale, le classement des espèces est maintenu d'un traitement à l'autre et, à l'exception des coûts de construction, seuls de faibles effets d'interaction ont été observés entre espèces et traitements. Le calcul d'un indice de plasticité a également permis de montrer qu'en dépit d'une certaine diversité interspécifique de la plasticité phénotypique, aucune espèce n'était globalement plus « plastique » que les autres sur l'ensemble des traits considérés. Enfin, si les espèces pionnières se distinguent nettement par leurs attributs, leur degré de plasticité n'est pas différent de celui des espèces de sous-bois.

Mots clés : capacités photosynthétiques, azote, durée de vie des feuilles, plasticité phénotypique, éclaircissement relatif, bilan de carbone, temps de retour sur investissement, coûts de construction, forêt tropical humide