

Effet de la température sur la photosynthèse	3
I- Généralités : Température de feuille et transpiration.	3
II-Variation de la photosynthèse avec la température.	5
A-Action à court terme.	5
1-Réponse thermique de l'assimilation de CO ₂ par les feuilles (A) : Comparaison des plantes en C3 et en C4.	6
2-Variations du transfert d'électrons dans la membrane des thylacoïdes et des photophosphorylations. Mesures in vivo et in vitro.....	6
3-Pourquoi l'oxygénation du RuBP augmente avec la température ?.....	8
4-Pourquoi, à partir de son optimum thermique, l'assimilation de CO ₂ diminue lorsque la température s'abaisse. ?.....	9
5-Pourquoi, à partir de son optimum thermique, l'assimilation de CO ₂ diminue lorsque la température augmente?.....	10
6-Effet de facteurs de l'environnement sur la réponse thermique de la photosynthèse	11
B-Action à long terme.	14
1-Capacité d'acclimatation de la photosynthèse à différents régimes thermiques.	14
2-Différences écotypiques vs plasticité dans l'acclimatation.	15
3- La sensibilité thermique de la rubisco activase n'est pas la même chez des plantes issues de milieux dont la température moyenne est différente.	16
4- La sensibilité du PSII aux températures élevées est modifiée chez des plantes issues de milieux dont la température moyenne est différente.....	16
III-Effets des températures extrêmes (gel et chaleur).....	17
A-Les plantes au froid.	18
1-Le froid et le stress oxydatif sont en interaction (interaction froid- lumière).....	18
2-Le gel.....	20
3-Mécanismes d'acclimatation au froid.	24
4-Thermogenèse et thermorégulation chez les plantes.	34
B-Les plantes aux températures élevées.	36
1-Une courte période à température élevée affecte durablement la photosynthèse : un exemple.....	36
2-Phosphorylation des protéines et synthèse des chlorophylles.	39
2-Importance du degré d'insaturation des acides gras.....	40

3-Un bref épisode à forte température induit un durcissement rapide du PSII	41
4-Un bref épisode à haute température induit des dommages oxydatifs....	41
5-Mécanismes de protection.....	43
5-Interaction entre les fortes températures et la sécheresse.....	45
C-Un bref aperçu sur des milieux froids.	46
1-Le milieu alpin et les plantes alpines.....	46
2- La zone antarctique.....	47
IV-Résumé.	49
V-Références	49

Abréviations : leur sens est donné dans le texte. Ci-dessous la signification des plus courantes est indiquée.

- A**, assimilation nette de CO₂ par une feuille intacte ;
- C** et **O**, respectivement fraction molaire de CO₂ et de O₂ en solution dans le chloroplaste ;
- DFQP**, densité de flux quantique photosynthétique (dans le visible) ;
- oT**, optimum thermique d'un processus donné ;
- PPN**, productivité primaire nette ;
- PSI, PSII**, photosystème I et II respectivement ;
- Tair**, Température de l'air ;
- Tf**, température d'une feuille.

Effet de la température sur la photosynthèse

I- Généralités : Température de feuille et transpiration.

La température est l'un des facteurs principaux qui gouverne la productivité des plantes (voir Fig-T1). Pris à l'échelle de la biosphère on constate, malgré des mesures probablement insuffisantes, une liaison claire entre la production primaire nette (PPN) de forêts prises à différentes latitudes et la température moyenne qui y prévaut : la PPN est la plus élevée dans les régions équatoriales. Avec la disponibilité en eau, la température est bien l'un des facteurs majeurs qui limite la productivité des écosystèmes terrestres.

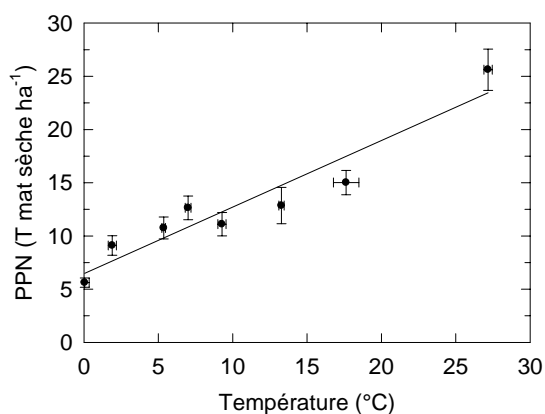


Fig-T1.1 Production primaire nette (PPN) en fonction de la température. Les observations sont faites dans différents écosystèmes terrestres des Pôles à l'équateur. D'après Breckel (1999)

L'effet qu'exerce la température sur les réactions biochimiques est bien connu : son élévation augmente leur vitesse en accroissant l'agitation moléculaire et par conséquent la probabilité de rencontre des molécules qui réagissent entre elles ; elle fournit l'énergie d'activation nécessaire aux réactions.

Dans les régions tempérées, la température de l'air et des végétaux est sujette à de fortes variations saisonnières et journalières qui sont parallèles à la quantité d'énergie solaire arrivant à la surface du sol : les changements rapides de la température des feuilles, comme on peut en mesurer durant une journée, suivent habituellement les variations de l'ensoleillement.

La température d'une feuille dépend de l'énergie qu'elle reçoit et de celle qu'elle élimine. L'énergie reçue vient principalement du rayonnement solaire mais aussi du rayonnement de grande longueur d'onde émis par les objets environnants.

Comme le montre l'exemple ci-dessous, la transpiration élimine une fraction non négligeable de l'énergie absorbée.

La chaleur de vaporisation de l'eau à 20°C étant de 2 452 joules par gramme, on calcule qu'une feuille maintenue à 20°C, qui absorbe 300 W m^{-2} et perd $3 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ($= 3 \times 18 \text{ mg} = 0,054 \text{ g H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), élimine en transpirant $0,054 \times 2 452 \text{ J m}^{-2} \text{ s}^{-1} = 132,4 \text{ W m}^{-2}$, c'est-à-dire, presque la moitié de l'énergie absorbée.

Le restant est principalement dissipé par conduction dans la couche limite suivant un gradient de température, puis convection au-dessus de la couche limite. Une toute petite partie de cette énergie seulement, de 1 à 2%, est stockée dans la photosynthèse.

Chez les plantes qui transpirent abondamment la température des feuilles peut être de 1 à 2°C inférieure à celle de l'air. Par contre, chez celles dont les stomates sont fermés à la suite d'une contrainte hydrique elle peut être de plusieurs degrés au-dessus de la température ambiante lorsque l'air est calme et que l'élimination de la chaleur absorbée ne se fait pas, ou peu, par convection. L'un des rôles de la transpiration est bien de refroidir les surfaces photosynthétisantes dont l'activité ne peut se faire qu'à la lumière, c'est à dire dans des conditions où un apport d'énergie peut potentiellement augmenter leur température.

Deux exemples, montrant que la relation entre la transpiration d'une feuille en condition constante et la différence de température entre l'air et la feuille ($T_{air}-T_f$) est linéaire, sont donnés dans les encadrés de la Fig-T2.

Dans le premier, une feuille de Tournesol (*Helianthus annuus* Fig-T2A), est placée dans une enceinte très ventilée sous un éclairage moyen ($DFQP = 500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) : l'apport d'énergie est faible et lié à une grande capacité d'élimination par convection de la partie absorbée.

Dans le second, une feuille de Haricot (*Phaseolus vulgaris*, Fig.-T2B) se trouve dans une enceinte peu ventilée sous un fort éclairage ($DFQP = 1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) : l'apport d'énergie est élevée et liée à une faible élimination par convection de l'énergie absorbée par la feuille.

De plus la transpiration de la feuille de Haricot est environ deux fois plus faible que celle de la feuille de Tournesol.

La baisse de transpiration de la feuille de Tournesol est obtenue en coupant le pétiole (la feuille n'est plus alimentée en eau). Cette baisse est précédée d'une augmentation brutale due à la coupure de la colonne d'eau dans les vaisseaux permettant l'alimentation de la feuille. Une deuxième augmentation, de plus faible amplitude, se produit 30 à 40 minutes plus tard. Elle témoigne de l'utilisation d'eau se trouvant dans un autre réservoir, probablement dans les cellules elles mêmes. La transpiration suit les variations de l'ouverture des stomates (non montrée sur la Fig-T2). A suit les variations de la transpiration. Cette variation de la transpiration et de l'assimilation du CO_2 après coupure d'une feuille est appelée l'effet Ivanoff, du nom de son découvreur (Ivanoff, 1928).

La température de la feuille reste inférieure de 1°C à celle de l'air, même lorsque la transpiration est très faible,

La baisse de transpiration de la feuille de Haricot est obtenue par l'acide abscissique (ABA) qui déclenche la fermeture rapide des stomates. La température de la feuille, lorsque la transpiration a atteint son minimum, est supérieure à celle de l'air de 14°C environ

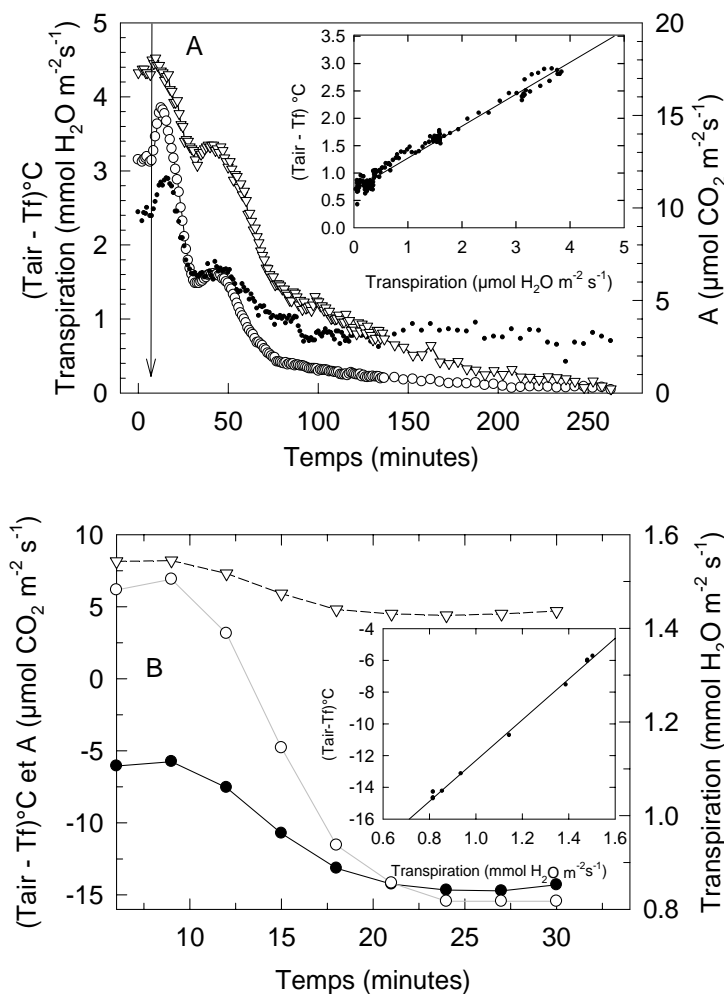


Fig-T2 : Variations de la transpiration (O), de l'assimilation nette de CO_2 A (∇) et de $T_{air}-T_f$, différence entre la température de l'air et la température de la feuille, (\bullet) en fonction du temps. Fraction molaire de CO_2 dans l'air ambiant : 350 ppm environ.

A : Au moment indiqué par la flèche la feuille est coupée et se déshydrate. Ces mesures sont faites sur une feuille d'*Helianthus annuus*, placée dans une chambre d'assimilation très ventilée et maintenue sous une $DFQP$ de $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Remarquez que la transpiration de la feuille atteint un maximum de $4 \text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Température moyenne de l'air durant l'observation : 23°C environ.

B : La mesure est faite sur une feuille coupée de *Pharbitis nil* dont le pétiole est placé dans un bēcher rempli d'eau. Au dēbut de l'observation, de l'acide abscissique (ABA) est ajoutē pour obtenir une concentration de 10^{-5}M dans le bēcher. La $DFQP$ est de $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ et la chambre d'assimilation moins ventilēe que dans A. Remarquez que la transpiration de la feuille atteint un maximum de $1.4 \text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Température moyenne de l'air durant l'observation : 17°C environ (d'aprēs Cornic et Miginiac, 1983)

Les deux Figs. Insērēes montrent que la diffērence (T_a-T_f) est bien liēe linēairement à la transpiration. Remarquer l'intersection sur l'axe vertical : en ce point l'intersection est positive Fig-T2A (ventilation ēlevēe autour de la feuille qui reçoit une $DFQP$ de $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, et trēs nēgative Fig-T2B (ventilation rēduite autour de la feuille qui reçoit une $DFQP$ de $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

On comprend aisément que des plantes qui subissent une sécheresse puissent également être soumises à un stress thermique, parce que leur transpiration est faible.

Si l'on se place à l'échelle d'un peuplement végétal, comme celui d'une forêt de la région parisienne (Delpierre, résultats non publiés), on voit, en pleine saison de croissance, que l'évapotranspiration élimine jusqu'à 80% de l'énergie totale (Fig-T2bis ; $LE+H$ est une estimation du rayonnement global). Comme environ les 2/3 de l'eau perdue par la forêt passent par la transpiration il est clair que ce processus est important pour la régulation de la température des surfaces photosynthétisantes, même dans un environnement tempéré.

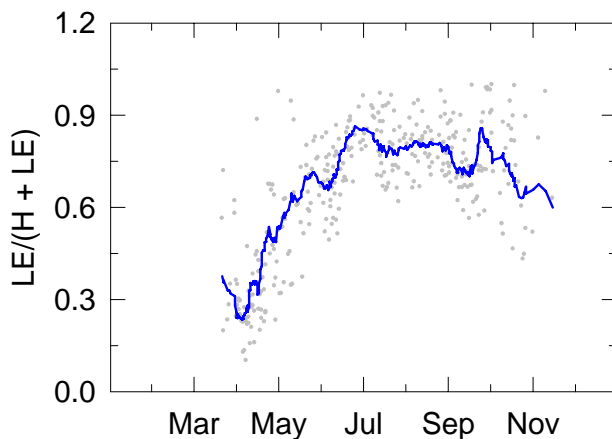


Fig-T2bis. Variation du flux de chaleur latente LE , (évapotranspiration) rapporté à la somme ($LE +$ flux de chaleur sensible, H). $LE+H$ représente l'énergie totale dissipée par une chênaie de 150 ans (Forêts de Barbeau) proche de la localité de Fontainebleau. Trois années de données de flux sont compilées (méthode des corrélations turbulentes : échantillonnage haute fréquence, 20 Hz, des teneurs en CO_2 et H_2O atmosphérique et de la vitesse du vent). Seules les journées sans précipitation sont considérées. La forêt de Barbeau n'est pas sous contrainte hydrique (en termes de disponibilité eau du sol). La ligne continue représente la moyenne mobile des données (D'après Delpierre et al., résultat non publié).

Le problème de l'eau est crucial pour la majorité des plantes terrestres : il doit y avoir une optimisation de leurs pertes en eau pour assurer une assimilation du carbone la meilleure possible dans un environnement donné. Les mouvements d'ouverture et de fermeture des stomates assurent ce compromis entre deux exigences qui paraissent *a priori* opposées : maintenir l'hydratation des cellules (ce qui demande une fermeture des stomates) tout en assurant la croissance de la plante (ce qui demande des stomates ouverts). Le compromis à trouver paraît en fait plus compliqué que cela, et une transpiration élevée est aussi nécessaire au maintien de la température des feuilles sous des valeurs non létales. Vue à l'échelle de la biosphère, on voit d'ailleurs que la densité stomatique (possibilité de transpiration élevée) est en moyenne la plus forte dans la végétation tropicale (température et ensoleillements les plus élevés). Elle tend à décliner chez les plantes distribuées vers les pôles. Cela suggère bien une relation entre le flux de radiations solaires, la température et la morphologie des plantes (Beerling et al., 2001). C'est à l'intérieur de ce premier « compromis thermique » que s'exercerait le deuxième entre l'hydratation des tissus et la production.

II-Variation de la photosynthèse avec la température.

Les plantes réagissent aux variations de température en ajustant immédiatement leur activité aux nouvelles conditions. Lorsque les changements du climat thermique sont persistants, les ajustements en jeu impliquent des modifications plus ou moins rapides et durables du métabolisme. La photosynthèse met en jeu des processus de diffusion, des réactions biochimiques complexes et la capture de l'énergie de la lumière avec sa transformation en énergie utilisable. La diffusion et le côté biochimique du processus (incluant le transfert d'électrons et de protons dans la membrane thylacoïdienne) sont sensibles à la température. La capture et le transfert de l'excitation dans les antennes jusqu'aux centres réactionnels PSI et PSII, incluant la séparation de charge qui en résulte, n'est pas sensible à la température dans la gamme physiologique, c'est à dire environ entre 0 et 50°C.

A-Action à court terme.

1-Réponse thermique de l'assimilation de CO₂ par les feuilles (A) : Comparaison des plantes en C3 et en C4. Dans les deux cas, A augmente avec la température jusqu'à une valeur maximum puis décroît ensuite (Fig-T3).

Dans un air contenant 21% de O₂ (+ N₂) et 350 ppm de CO₂ (condition proche de la normale actuelle), la photosynthèse du Pois (plante en C3; Fig-T3A), plus qu'un optimum thermique (oT), présente une plage thermique optimale avec un maximum peu marqué vers 22 °C. Par contre la photosynthèse du Maïs (plante en C4; Fig-T3B) montre une température optimale de fonctionnement bien nette (environ 27 °C). Ces deux exemples sont caractéristiques de ce que l'on observe couramment chez les plantes en C3 et C4.

Les mesures faites dans un air contenant 1% de O₂ (+ N₂) et 350 ppm de CO₂ montrent que l'oxygène atmosphérique n'affecte pas la photosynthèse du Maïs quelque soit la température de la feuille ; en particulier l'oT de la photosynthèse reste le même dans cette condition. Par contre, l'oT du Pois est alors très marqué et déplacé vers 30 °C. De plus, l'oxygène atmosphérique n'exerce son action inhibitrice sur A qu'au dessus de 17 °C ; il est sans effet sous cette température (voir plus bas). Ces observations montrent que oT chez les plantes en C3 dépend de la présence ou de l'absence de photorespiration : il est le plus élevée en l'absence de photorespiration. A nouveau, ceci est bien représentatif des plantes en C3 et en C4.

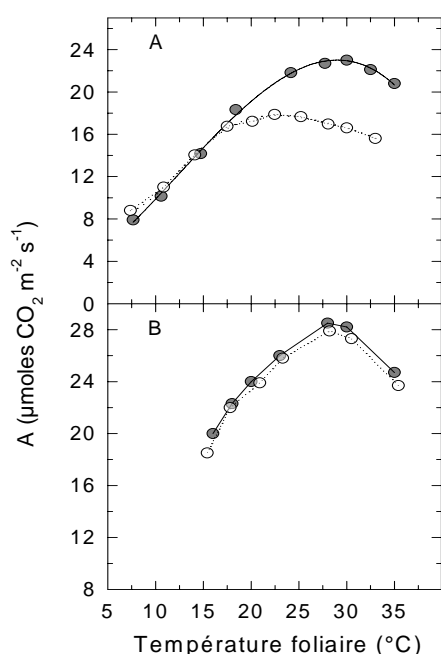


Fig-T 3. Variations de A en fonction de la température foliaire mesurées chez le Pois (Fig.T2A) et chez le Maïs (Fig.T2B) dans un air contenant 21% (○) ou 1% (●) de O₂. Durant les mesures la densité de flux quantique est proche de la saturation (1150 µmoles m⁻² s⁻¹), la fraction molaire de CO₂ est normale (350 ± 7 ppm) et la différence de pression de saturation de vapeur d'eau dans l'air est de 1 ± 0,5 kPa. Les plantes sont cultivées sous un PFD de 250 µmoles m⁻² s⁻¹ (16 heures de lumière par jour) à une température de 24°C le jour et 20°C la nuit (Cornic, non publié).

2-Variations du transfert d'électrons dans la membrane des thylacoïdes et des photophosphorylations. Mesures in vivo et in vitro.

a-In vitro. L'activité de la chaîne de transfert d'électrons mesurée in vitro sur des thylacoïdes isolés présente également un oT bien marqué (Stidham et al. , 1982 ; Yamasaki et al., 2002). Par contre, si l'activité du PSII, mesurée à l'aide d'une quinone (Phényl-*p*-benzoquinone = PBQ), a un oT identique à celui de l'activité de la chaîne de transfert d'électrons, l'activité PSI n'est pas inhibée aux températures élevées (supérieures à 30°C, jusqu'à 45°C) où elle reste stable, voire augmente. Les changements d'activité de la chaîne de transfert d'électrons dans le thylacoïde, produits par des variations de température, sont donc principalement gouvernés par les modifications de l'activité du PSII.

Les photophosphorylations non cycliques ont un oT très semblable à celui du fonctionnement de la chaîne de transfert d'électrons qui lui est couplé. Leur diminution après avoir atteint leur oT peut être aussi le résultat d'une augmentation de la fluidité de la membrane thylacoïdienne à température élevée (Stidham et al. , 1982) qui devient alors, pour cela, plus perméables aux protons. Cependant ce point ne paraît pas crucial puisque les photophosphorylations cycliques centrées sur le fonctionnement du PSI sont moins inhibées par les fortes températures que les phosphorylations non-cycliques.

b-In vivo. Le transfert d'électrons dans la membrane des thylacoïdes peut être estimé sur une feuille intacte en utilisant des mesures d'émission de la fluorescence chlorophyllienne (voir Emission de la fluorescence chlorophyllienne-mesure et utilisation, Fig6). Ces mesures se font en même temps que celles de l'assimilation nette de CO₂ et permettent aussi l'estimation de la vitesse d'oxygénation du RuBP, vo (Voir Effets du CO₂ sur la photosynthèse).

Le flux d'électrons dans la membrane thylacoïdienne du Pois a un optimum thermique plus élevé que celui de A (Fig-T4). vo augmente régulièrement avec la température et son oT est supérieure à 28°C. Une fraction croissante des électrons produits par l'activité PSII est utilisée pour réduire l'oxygène via la fonction oxygénase de la Rubisco : cela contribue à la diminution de l'assimilation nette de CO₂, qui s'amorce vers 23°C. D'autre part on voit que la fixation photosynthétique de O₂ (vo) est très voisine de la fixation photosynthétique de CO₂ lorsque la température est proche de l'optimum thermique.

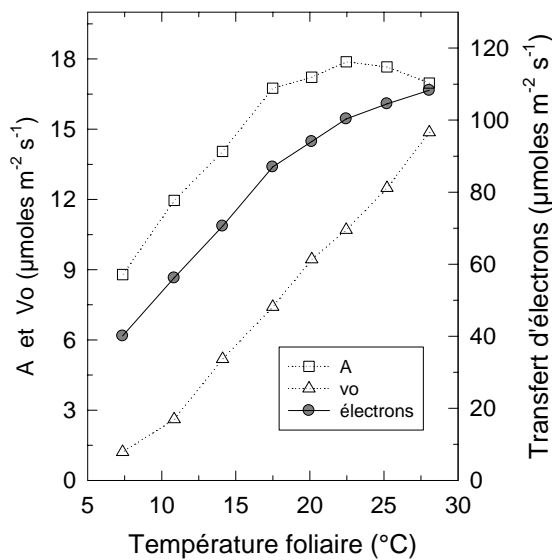


Fig-T4. Variation de A, de l'absorption de O₂ par la fonction oxygénase de la Rubisco(vo) et du transfert d'électrons dans les thylacoïdes en fonction de la température d'une feuille de Pois. Les conditions de la mesure et de la culture des plantes sont voisines de celles Fig-T3. L'oxygénation du RuBP et le flux d'électrons sont calculés en mesurant sur la même feuille et en même temps l'émission de la fluorescence chlorophyllienne et l'assimilation de CO₂ (Cornic, non publié).

Yamasaki et al. (2002) montrent de la même façon, sur le blé d'hiver, que le flux d'électrons augmente avec la température, atteint un oT, pour une température qui varie selon les conditions de croissance entre 20 e 30 °C, puis décroît ensuite.

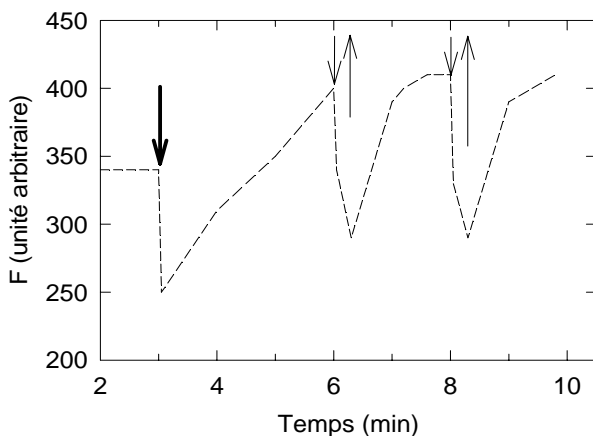


Fig-T5. Variation d'émission de la fluorescence chlorophyllienne sur une feuille intacte ayant été préalablement soumise à 42 °C. La flèche épaisse indique le passage de la feuille à l'obscurité. Les 2 couples de flèches fines indiquent la durée d'un éclaircissement rouge sombre destiné à exciter préférentiellement le PSI (d'après Haldimann et Feller, 2005). Voir le texte pour les explications détaillées du traitement.

Le flux cyclique autour du PSI d'électrons est stimulé par les températures élevées. Havaux (1996) montre qu'un bref passage de feuilles de pomme de terre à 40 °C multiplie par 10 environ la vitesse de ce transfert.

Haldimann et Feller (2005) réalisent l'observation illustrée Fig.T5 sur des feuilles de Pois cultivés à la température jour/nuit de 25 °C/18 °C.

Dans cette expérience, la température d'une feuille, dont la photosynthèse est stationnaire à 25°C sous une DFQP de 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, est fixée à 42°C durant 30 minutes avant de repasser rapidement à 25°C sous la même lumière. On mesure l'émission de la fluorescence chlorophyllienne (F) sous une très faible lumière modulée constante (voir « Émission de la fluorescence chlorophyllienne-mesure et utilisation »).

La feuille passe à l'obscurité au moment indiqué par la flèche épaisse. F diminue très rapidement avant d'augmenter durant 3 minutes environ.

La feuille est alors éclairée par un faisceau de lumière rouge sombre dont la longueur d'onde maximum est autour de 750 nm : elle excite beaucoup le PSI et très peu le PSII. F diminue rapidement montrant que le PSI excité a oxydé le pool des plastoquinones et ouvert des centres PSII (d'où la baisse de fluorescence). Après cet épisode de rouge sombre, F augmente à nouveau, montrant que des centres PSII se ferment à l'obscurité, en raison de la réduction du pool des plastoquinones par un réducteur venant du stroma, probablement le NAD(P)H, via la NDH (NADPH déshydrogénase) du thylacoïde.

Les auteurs concluent que l'épisode à température élevée a ouvert une voie de fourniture d'électrons, du stroma au pool des plastoquinones, susceptible d'alimenter un transfert cyclique autour du PSI. Si les feuilles ne sont pas traitées à 42 °C, F se stabilise rapidement aux alentours de 260, valeur « Fo » atteinte lorsque tous les centres PSII sont ouverts (pas d'injection d'électrons dans le pool des plastoquinones à partir du stroma).

3-Pourquoi l'oxygénation du RuBP augmente avec la température ? Considérant les propriétés cinétiques de la Rubisco on écrit que la vitesse de carboxylation, v_c , divisée par la vitesse d'oxygénation du RuBP, v_o est :

$$v_c/v_o = S(C/O)$$

où S le facteur de spécificité s'écrit :

$$(V_c K_o)/(V_o K_c).$$

où V_c et V_o sont respectivement les vitesses maximales de carboxylation et d'oxygénation du RuBP, K_c et K_o respectivement les constantes de Michaelis pour la fixation du CO_2 et de l' O_2 sur le RuBP et C et O la concentration de CO_2 et d' O_2 dissous dans les chloroplastes.

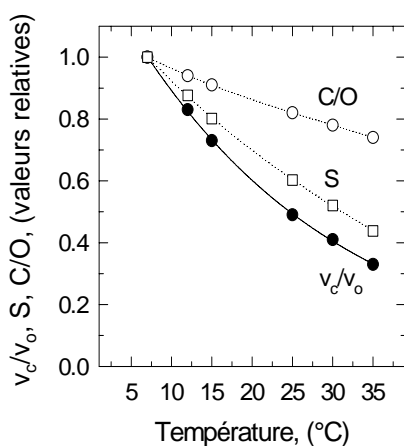


Fig-T6. Variations de v_c/v_o (rapport de la vitesse actuelle de carboxylation de l'oxygénation du RuBP ; ●), de S (facteur de spécificité de la Rubisco ; □) et de C/O (rapport de la concentration de CO_2 et de O_2 dissous dans l'eau ; ○) en fonction de la température (d'après Jordan et Ogren, 1984).

Le rapport v_c/v_o diminue lorsque la température augmente (Fig-T6) : l'oxygénation de RuBP devient alors relativement plus grande. Cette diminution est due

- (1) principalement à la décroissance S (Fig-T6) qui est
- (2) amplifiée par la diminution plus rapide de C que de O.

Les variations des teneurs en CO_2 et en O_2 dans les espaces intercellulaires d'une feuille intacte sont faibles, voire négligeables, lorsque la température est modifiée. On conclut que les valeurs du rapport C/O sont principalement gouvernées par le rapport du coefficient de solubilité de ces deux composés. (voir « diffusion du CO_2 dans la feuille »).

La diminution de S avec la température (Voir, « mécanismes d'assimilation du CO_2 ») résulte de l'augmentation de K_c , c'est à dire de la baisse de l'affinité de la Rubisco pour le CO_2 ; en effet K_o ne varie pas, ou peu, tandis que V_c augmente plus vite que V_o (Tableau.C3 3, « mécanismes d'assimilation du CO_2 »).

4-Pourquoi, à partir de son optimum thermique, l'assimilation de CO_2 diminue lorsque la température s'abaisse. ? L'une des explications est, bien sûr, la diminution de l'activité des enzymes du CPRC lorsque la température s'abaisse : les réactions biochimiques dépendent fortement de la température.

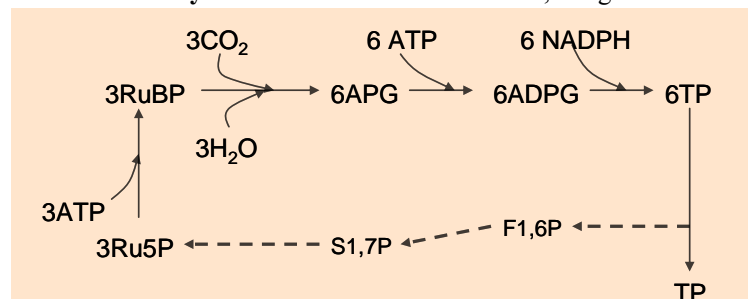
Une autre est aussi le ralentissement de l'activité de l'activité PSII et de la chaîne de transfert d'électrons, dont le résultat est une baisse de la réduction du $NADP^+$, et qui peut par ce biais limiter le turn over du cycle photosynthétique de réduction du carbone (CPRC).

L'analyse de la concentration des métabolites du CPRC montre, chez les plantes en C3, que d'autres phénomènes peuvent aussi intervenir. Les renseignements donnés ci-dessous viennent essentiellement de travaux réalisés par Stitt et Grosse (1988) et Labate et al (1990). Pour mieux comprendre ce qui suit les renseignements donnés dans l'encadré ci-contre et la lecture du chapitre consacré aux mécanismes de la fixation du CO_2 peuvent être nécessaires.

Chez une plante en C3 soumise au froid dans un air dont la teneur en CO_2 est environ de 350 ppm, le rapport TP/RuBP de la concentration de trioses phosphates à celle du Ribulose 1,5-Bisphosphate augmente généralement (grande diminution de la concentration de RuBP et diminution plus réduite de celle de TP) , indiquant que la vitesse de régénération du RuBP est plus faible. Ceci peut au moins avoir deux causes.

(1) Une diminution d'activité de certaines enzymes du CPRC. Chez l'avoine, l'augmentation du rapport TP/RuBP aux basses températures est concomitante d'une grande diminution du rapport APG/TP. Cela veut dire qu'il y a suffisamment d'ATP et de $NADPH + H^+$, mais qu'il y a un blocage efficace après la formation des TP. Comme on observe aussi une augmentation du F1,6-BP on conclut que la baisse d'activité de certaines enzymes catalysant des réactions en aval de la formation de cet hexose bisphosphate est critique (Fructose 1,6-bisphosphatase ; sédoheptulose 1,7-bisphosphatase, enzymes responsables de la formation du Ru5P etc...) et que la fourniture d'énergie n'est pas limitante.

(2) Une diminution de la synthèse de saccharose variable selon les espèces. En effet, lorsque la température est basse, la FBPase cytosolique devient plus sensible au F2,6-BP (fructose 2,6 bisphosphate) qui est l'un des inhibiteurs majeurs de son activité. Ceci entraîne une limitation de l'activité photosynthétique par le phosphate inorganique, P_i : les TP non utilisés et les autres intermédiaires du



Rappel schématique du cycle photosynthétique de réduction du carbone (CPRC) pour faciliter la compréhension des effets du froid sur la photosynthèse. Seules les grandes étapes sont indiquées. Les flèches en pointillés résument les réactions qui permettent la régénération du RuBP. APG : acide 3- phosphoglycérique ; ADPG : Acide 1, 3-diphosphoglycérique ; TP : triose phosphate ; RuRP : Ribulose 5-phosphate ; F1,6P Fructose 1,6-bisphosphate ; S1,7P : Sédoheptulose 1,7-bisphosphate.

Lorsque 3 molécules de CO_2 et H_2O sont fixées sur le RuBP, une molécule de triose phosphate est exportée hors du CPRC (restant dans le chloroplaste ou passant dans le cytoplasme) et 3 molécules de Ru5P sont synthétisées. Après phosphorylation elles donnent 3 molécules de RuBP.

L'exportation d'une molécule de TP dans le cytoplasme se fait contre l'importation d'une molécule de phosphate inorganique, P_i . Cela contribue à maintenir stable la concentration de P_i dans le chloroplaste. Le TP exporté permet, entre autre, la synthèse de saccharose dans le cytoplasme.

CPRC, séquestrent le Pi qui n'est alors plus disponible pour la synthèse d'ATP. Dans le même ordre d'idée certains ont pensé que le point crucial de tout ce mécanisme serait la sensibilité du transporteur de phosphate à la température : lorsque celle-ci est faible la baisse d'activité du transporteur entraîne une restriction des exportations de TP dans le cytoplasme et par conséquent une baisse de la synthèse du saccharose. De fait on constate généralement au froid une diminution du rapport ATP/ADP et une accumulation de métabolites phosphorylés.

Évidemment les deux situations peuvent coexister avec des amplitudes différentes selon les plantes et les autres conditions de l'environnement

La diminution de la disponibilité en Pi aux températures froides est illustrée par des observations montrant que la manipulation rapide de la teneur en Pi dans la feuille peut changer rapidement la valeur de A mesurée à une teneur en CO₂ voisine de 350 ppm sous un fort éclaircissement (DFQP = 1000 μmol m⁻² s⁻¹ ; Labate et Leegood, 1988). Ainsi, à 10 °C, des feuilles coupées d' *Hordeum vulgare*, dont l'extrémité inférieure se trouve dans l'eau et qui présentent une assimilation de CO₂ de 10 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹, ont une assimilation d'environ 15 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹ lorsqu'on leur fournit du Pi via le courant transpiratoire.

Les raisons de la diminution de photosynthèse lors d'une baisse abrupte de la température sont moins analysées chez les plantes en C4. Quelques expériences faites sur le Maïs par Baker et al. (1988) montrent qu'une exposition à des températures inférieures à 10 °C pendant 6h sous une lumière élevée, provoque à la fois une baisse du rendement quantique maximum de l'assimilation du CO₂ (Φ_{mCO₂}) et de la pente à l'origine de la relation A/Ci, l'efficacité de la carboxylation (CE). Les variations de Φ_{mCO₂} mesurent l'effet produit par le traitement sur les réactions strictement limitées par la lumière, tandis que celles de CE sur les réactions strictement limitées par le CO₂. Les auteurs concluent qu'à la fois la photochimie et le métabolisme carboné sont affectés par le traitement. Comme CE retrouve plus vite sa valeur d'origine que Φ_{mCO₂} lorsque les plantes traitées sont replacées à température ordinaire, les auteurs ajoutent que c'est le métabolisme carboné récupère le plus rapidement son fonctionnement d'origine.

Il est possible que des enzymes impliquées dans le système de concentration du CO₂ dans les gaines périvasculaires comme la PEP-carboxylase (PEPC), la NADP-malate déshydrogénase, la pyruvate Pi dikinase (PPDK) soient inhibées au froid (Edwards et al., 1985). En particulier la PEPC et la PPDK, tétramériques à température ordinaire, pourraient se désactiver à basse température en donnant des formes dimériques et monomériques.

5-Pourquoi, à partir de son optimum thermique, l'assimilation de CO₂ diminue lorsque la température augmente? Chez les plantes en C3, l'augmentation de la photorespiration, due à la fois à la baisse de S (facteur de spécificité de la Rubisco) et du rapport C/O, diminue la fraction des électrons produits par le PSII utilisée pour la réduction du CO₂. L'augmentation de la respiration à sa part également, puisque ce qui est mesuré est l'assimilation nette de dioxyde de carbone (A = Ab - Photorespiration - Respiration : voir chapitre « Effet du CO₂ sur la photosynthèse).

Cependant, à l'évidence, d'autres facteurs sont en jeu, puisque A

(1) mesurée dans une atmosphère contenant 1% de O₂ sur une plante en C3 (faible oxygénation du RuBP), ou

(2) mesurée dans une atmosphère normale chez une plante en C4 diminue après être passée par une valeur maximum.

Le ralentissement de l'activité PSII concomitante à celle de la chaîne de transfert d'électrons du PSII au PSI peut être en cause (diminution des fournitures de NADPH+H⁺ et d'ATP).

La désactivation de la Rubisco joue aussi certainement un rôle important. En effet, Weis et Berry (1988) ont vu sur des feuilles de Cotonnier le niveau d'activation diminuer de 1 (Rubisco entièrement activée) à 30 °C à 0,5 (demi-activation) à 42°C avec ou sans photorespiration (comparaisons faites entre les mesures réalisées dans une atmosphère contenant 1% ou 21% de O₂). De même Law et al (1999) constatent à température élevée (au dessus de 25°C) sur des feuilles de cotonnier et de blé l'existence d'une relation linéaire entre la baisse d'activation de la Rubisco et la diminution de l'assimilation nette de CO₂.

La Rubisco est activée par le CO₂ et le magnésium. Cette activation est réversible et la forme carbamylée de l'enzyme (forme active) est en équilibre avec sa forme non carbamylée (forme inactive). Pour être activée la Rubisco doit d'abord se lier avec la Rubisco activase. La liaison avec cette dernière change sa conformation, et permet le départ d'inhibiteurs (RuBP, xylulose 1,4-bisphosphate (X1,4-BP), Carboxyarabinitol) des sites où doivent se fixer le CO₂ et le Mg⁺⁺.

Pour exercer ce rôle, l'activase doit d'abord être phosphorylée (voir chapitre « mécanismes de l'assimilation du CO₂ »). Crafts-Brandner et Salvucci (2000) montrent sur le cotonnier que la température optimale pour fonctionnement de la rubisco activase est d'environ 10° C inférieure à celle de la rubisco. Probablement l'activase est plus faiblement phosphorylée à température élevée. Le résultat est donc une décarbamylation (baisse de l'activation) de la Rubisco au dessus de l'optimum thermique de la rubisco activase. A cela s'ajoute le fait que les « ratés de catalyse » de la Rubisco augmentent avec la température et des quantités de plus en plus importante de X-1,4-bisphosphate, inhibiteur de l'enzyme, sont synthétisées (Voir plus bas section IIB) (Salvucci ME et Crafts-Brandner SJ, 2004).

CEPENDANT NOTER que la désactivation de la rubisco pourrait être secondaire à la diminution du transfert linéaire d'électrons qui serait responsable de la déactivation de l'isoforme de la Rubisco activase sensible à l'état rédox du stroma (voir plus bs section B1).

Chez les plantes en C4, l'exemple du maïs qui a été récemment analysé, met également en évidence l'importance de l'état d'activation de la rubisco. Crafts-Brandner et Salvucci (2002) constatent

(1) que l'état d'activation de la PEPc est peu sensible à la température même lorsque les feuilles sont maintenues au-dessus de 40°C et

(2) que l'activité de la pyruvate Pi dikinase est insensible à des températures aussi élevées que 45°C.

(3) Par contre, là aussi, l'état d'activation de la Rubisco diminue lorsque la température est supérieure à 33°C pour se trouver voisin de 0 vers 45°C.

(4) Enfin, au dessus de 33°C, la variation de l'état d'activation de la rubisco est étroitement corrélée à la diminution de l'assimilation de CO₂.

Comme on peut s'y attendre après une telle observation, la teneur en APG diminue alors que celle du RuBP s'accroît lorsque la température foliaire augmente. De plus, dans le cas analysé, l'énergisation de la membrane se fait au-dessus de 33°C et le rendement quantique maximum du PSII mesuré par le rapport Fv/Fm n'est pas encore affecté à 45°C, température pour laquelle A est voisin de zéro, ce qui rend improbable une limitation provoquée par une baisse de la fourniture d'énergie (ATP et NADPH+H⁺).

6-Effet de facteurs de l'environnement sur la réponse thermique de la photosynthèse. La réponse de la photosynthèse foliaire à la température est modifiée par les autres variables de l'environnement. Ces modifications sont particulièrement importantes chez les plantes en C3. Elles peuvent toutes se comprendre si l'on garde à l'esprit, d'une part le jeu qui existe au niveau de la Rubisco entre les fonctions oxygénase et carboxylase, et d'autre part la valeur de la respiration par rapport à celle l'assimilation de dioxyde de carbone.

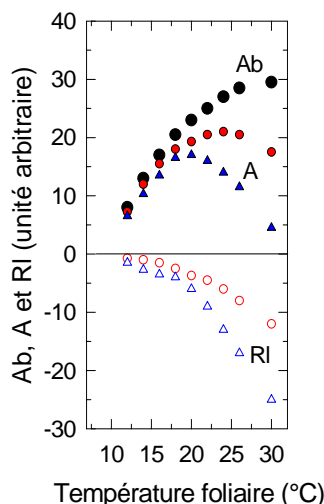


Fig-T7. Schéma montrant les variations de l'assimilation brute de CO₂, Ab, et de l'assimilation nette de CO₂ mesurée à une forte (●) ou faible (▲) fraction molaire ambiante de CO₂. La respiration à la lumière à une forte (○) et à une faible (△) fraction molaire de CO₂ est aussi indiquée. A pour une température donnée et pour une fraction molaire de CO₂ ambiante s'obtient en faisant la différence Ab et RI à la même température et à la même fraction molaire ambiante de CO₂. On suppose que la concentration de RuBP dans les chloroplastes est saturante (éclairage limitant).

La Fig-T7 peut aider à comprendre. Dans l'expérience schématisée on suppose

que la lumière est limitante (le RuBP dans la feuille est saturant) et

que deux mesures sont faites à deux fractions molaires de CO₂ différentes, l'une forte (figurés rouges) et l'autre faible (figurés bleus), dans un air contenant 21% de O₂.

Comme le RuBP est saturant, on n'attend pas que Ab, la photosynthèse brute (figurés noirs), soit modifiée dans les deux conditions de mesures (voir chapitre « Effets à court et à long terme du CO₂ sur la photosynthèse »)..

Pour toutes les températures, RI est plus faible lorsque la fraction molaire de CO₂ est élevée (photorespiration plus faible). Dans les deux cas la variation de A en fonction de la température est donnée par Ab-RI. Comme RI est la plus élevée lorsque la fraction molaire de CO₂ est faible, l'oT de A est aussi le plus faible dans cette condition.

a-La teneur de l'air en CO₂. La Fig-T8 montre, dans le cas du Haricot, comment la teneur en CO₂ de l'air interfère avec la température pour contrôler l'assimilation du dioxyde de carbone.

L'oT de A est supérieur à 32 °C dans un air contenant 21% de O₂ et 800 ppm de CO₂. Il diminue avec la teneur de l'air en CO₂ pour être inférieur à 9 °C lorsqu'elle est de 100 ppm. Ceci s'explique par la stimulation de la photorespiration favorisée par la baisse du rapport C/O aux faibles teneurs en CO₂. *A contrario*, l'oxygénation du RuBP est très inhibée dans un air contenant 800 ppm de CO₂ et les variations de A en fonction de la température dans ces conditions sont probablement très proches de celles du flux d'électrons dans les membranes des thylacoïdes. Cette observation est conforme avec le résultat Fig-T3A qui montre qu'en l'absence de photorespiration l'oT de A est déplacé vers les températures élevées.

On prévoit donc que l'augmentation actuelle de la fraction molaire de CO₂ dans l'air ambiant sera suivie par une augmentation de oT. De façon semblable, la faible fraction molaire dans l'air ambiant (jusqu'à 180 ppm !) durant les derniers épisodes glaciaires, entraînait de part les propriétés cinétiques de la rubisco un oT situé vers les faibles températures. On peut être tenter de suivre le professeur Pangloss assurant à Candide que tout est le mieux dans le meilleur des mondes possibles.

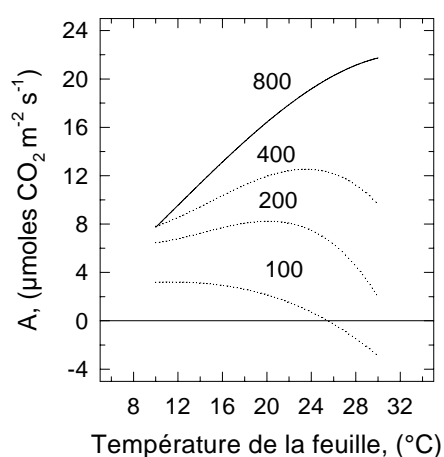


Fig-T8 Relations entre A et la température foliaire mesurée sous une densité de flux quantique de 600 μmoles m⁻² s⁻¹ et à différentes fractions molaires de CO₂ dans l'air ambiant (indiquées sur la Fig.). Les mesures sont faites sur des Haricots cultivés en serre à la température de 25/27°C. (Résultats obtenus par les étudiants du module de maîtrise Réponses et Adaptations des Végétaux aux Contraintes de l'UFR scientifique d'Orsay : promotion 1999).

b-L'état hydrique des feuilles. La baisse de l'assimilation de CO₂ chez les feuilles soumises à une déshydratation est principalement due à la fermeture des stomates. Comme les mécanismes de la photosynthèse sont résistants à la sécheresse, cette fermeture entraîne une baisse de la concentration de CO₂ dans les chloroplastes, la concentration en dioxygène n'y étant pas modifiée significativement (Chapitre « diffusion du CO₂ dans la feuille »). Le rapport C/O à la lumière diminue donc dans ces conditions. La réponse thermique de A doit donc être aussi modifiée.

C'est effectivement ce que l'on observe au moins chez les plantes en C3.

L'exemple Fig-T9 concerne des feuilles de pois maintenues dans un air contenant 21% de O₂ et 350 ppm de CO₂. L'oT de A passe graduellement de 23°C à 10°C environ, lorsque le contenu relatif en eau décroît de 100% à 57% (la feuille a alors perdu 43% de son eau).

En conséquence le manque d'eau affecte plus l'assimilation du CO₂ lorsque la température est élevée que lorsque la température est basse.

Le transfert d'électrons dans les thylacoïdes estimé en mesurant l'émission de la fluorescence chlorophyllienne est ici donné en valeur relative.

Sa réponse à la température sur des feuilles présentant un RWC de 82% est identique à celle observée sur des feuilles bien hydratées, bien qu'alors A soit considérablement affectée. Cela montre bien l'existence dans

la feuille d'un autre pool d'accepteurs qui sont réduits par les électrons produits par le PSII. Il s'agit très probablement du dioxygène utilisé pour oxygéner le RuBP (voir « effet de la contrainte hydrique sur la photosynthèse »).

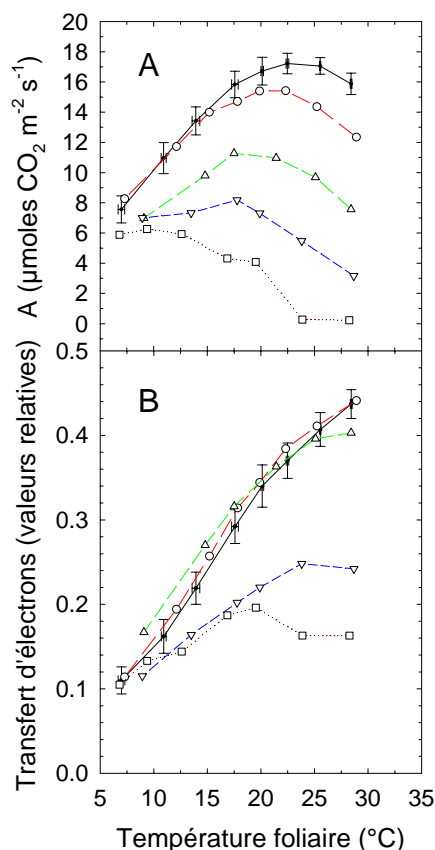


Fig-T9. Variations de A (Fig-T8A) et du flux d'électrons dans les chloroplastes de feuilles intactes estimé en même temps par la mesure de l'émission de fluorescence chlorophyllienne (Fig-T8B) en fonction de la température, durant une déshydratation : feuilles sans déficits hydriques : ● ; feuille présentant un contenu relatif en eau de 90% (○), 82,5% (Δ), 74% (▽) et 57% (□). Les mesures sont faites dans des conditions semblables à celles de la Fig-T3. Le déficit de pression de vapeur d'eau est maintenu à $0,8 \pm 0,4$ kPa. (Cornic et al. 1999)

Le flux d'électrons diminue lorsque la feuille a perdu 26% de son eau (RWC = 74%) et plus.

Bien que la preuve n'en soit pas apportée ici, cette baisse est causée par une diminution de la vitesse du renouvellement du RuBP, conséquence de la diminution de la concentration de CO₂ dans les chloroplastes. Il suffit en effet de placer des feuilles dont le RWC est d'environ 70% dans un air à teneur élevée en CO₂ (0,5 à 1%) pour rétablir le flux d'électrons au niveau de celui mesuré sur des feuilles bien hydratées.

Dans le cas des pertes d'eau extrêmes (RWC = 57%), on voit néanmoins que le flux d'électrons se stabilise, voire diminue, pour les températures foliaires les plus élevées, tandis que l'assimilation nette de CO₂ est alors très faible.

c-L'éclairement.

L'effet de l'éclairement sur l'OT de A (Fig-T10A) est très substantiel. Mesuré sur une feuille de Pois placée dans un air contenant 350 ppm de CO₂ et 21% de O₂, il passe de 23 à 19 puis 14°C lorsque la densité de flux quantique est successivement abaissée de 545 à 274 puis 108 µmoles m⁻² s⁻¹.

Le flux d'électrons dans les membranes des thylacoïdes est évidemment le plus élevé sous la DFQP la plus forte (Fig-T10B); Il diminue avec l'éclairement lorsque la température est supérieure à 16°C; pour des valeurs inférieures à 16°C, et sous les DFQP de 545 et 274 µmoles m⁻² s⁻¹, il est limité par la température. On remarque, sous 108 µmoles m⁻² s⁻¹, qu'il présente peu de variations avec la température, passant de 33 µmoles m⁻² s⁻¹ vers 28°C, à 18 µmoles m⁻² s⁻¹ aux environs de 7°C.

En particulier, le rôle de la respiration, lorsque la DFQP est de 108 µmoles m⁻² s⁻¹, est probablement très important

(1) puisque le flux entrant de CO₂ dans cette condition est le moins grand,

- (2) que l'oxygénation et la carboxylation du RuBP sont tous deux sévèrement limitées par l'éclairement et
 (3) qu'enfin la respiration est probablement moins inhibée par la lumière.

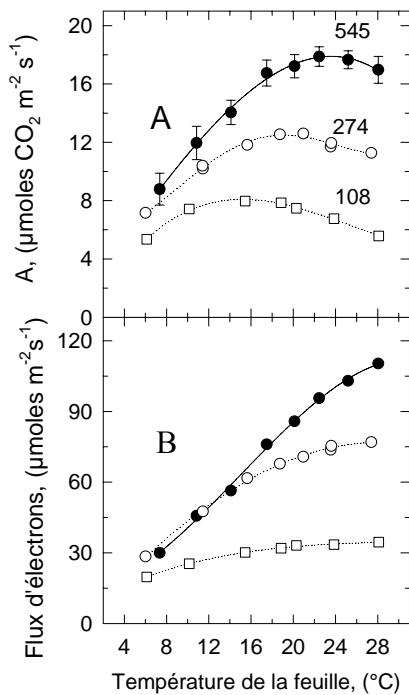


Fig-T10. Variations de A (Fig-T9A) et du flux d'électrons, estimé en même temps par la mesure de l'émission de fluorescence chlorophyllienne (Fig-T9B), en fonction de la température foliaire. Les mesures sont faites sur le Pois sous une densité de flux quantique de 545 (●), 274 (○) et 108 (□) $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Les conditions durant les mesures et la culture des plantes sont similaires à celles données dans la Fig-T3 (Cornic, non publié)

B-Action à long terme.

Les plantes occupent sur notre globe des habitats dont les températures sont très contrastées. La réponse de leur activité photosynthétique à la température reflète le régime thermique qu'elles subissent. Ceci est apparent chez des espèces différentes dont les aires de répartitions sont différentes, mais aussi observable chez la même espèce si son aire géographique est très grande. En règle générale les plantes issues des milieux froids ou des saisons froides ont une photosynthèse plus élevée à basses températures, tandis que celles se trouvant dans les milieux chauds, ou se développant durant la saison chaude, ont une photosynthèse plus élevée à hautes températures. De même l' θ_T de A est le plus bas chez les premières et le plus élevé chez les secondes.

1-Capacité d'acclimatation de la photosynthèse à différents régimes thermiques. La Fig-T11 illustre ce phénomène dans le cas du Pois cultivé en conditions contrôlées à 10°C et à 25°C.

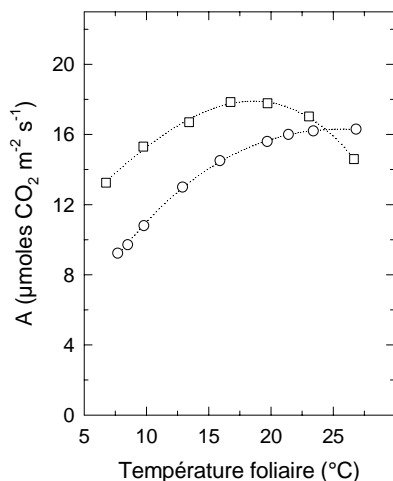


Fig-T11. Relations entre A et la température foliaire mesurée sur des feuilles de Pois cultivées à 25°C (O) ou à 10°C (□) (photopériode de 16H). Pour les conditions de mesure voir la Fig-T3. (Cornic, non publié).

Dans le premier cas l'oT de A est d'environ 16°C, tandis qu'il est supérieur à 25°C dans le second. On remarque aussi que les valeurs de A chez les plantes cultivées à 10°C sont plus élevées que celles cultivées à 25°C lorsque les

Lorsque la température de croissance change de façon durable l'oT change dans la même direction. Berry et Björkman (1980) rapportent, entre autre, le cas de *Hammada scoparia*. Ce buisson que l'on trouve dans le désert du Néguev, présente un oT de 29°C en début de printemps, de 41 °C durant les mois les plus chauds et de 28°C en Automne : les variations de oT durant la période d'activité sont donc calquées sur les variations saisonnières de la température.

Les modifications de l'oT peuvent être rapides et de grandes amplitudes. Ainsi, chez un clone de bord de mer d'*Encelia californica*, un changement de température de croissance de 30°C (température constante le jour et la nuit) à 15°C durant le jour et 2°C durant la nuit pendant trois jours est suffisant pour l'abaisser d'une dizaine de degrés. Parfois une température rigoureuse pendant une seule nuit suffit pour déplacer l'oT de 4 ou 5°C. Tous ces changements peuvent se mesurer chez les feuilles en croissance et chez les feuilles adultes, la réponse étant de plus grande amplitude chez les feuilles en croissance.

La plasticité de la réponse thermique varie selon les espèces. Chez des plantes normalement localisées dans des milieux frais, il y a une dépression généralisée de A lors de l'acclimatation aux températures élevées, et ce, bien qu'il y ait une augmentation de l'oT (Fig-T12A). Le bénéfice des changements est alors douteux et l'appareil photosynthétique est souvent endommagé dans les nouvelles conditions. D'autres plantes localisées habituellement en milieux chauds montrent une réponse semblable lors de l'acclimatation à des températures fraîches : mais il s'agit cette fois d'une diminution de l'oT qui est accompagnée d'une diminution de A à toutes les températures. A nouveau le bénéfice des modifications est douteux. Ces plantes ont une faible plasticité thermique (Fig-12B).

Des plantes qui restent actives toute l'année et dont certaines comme *Nerium oleander* conservent leurs feuilles au moins deux ans présentent une grande plasticité : l'oT est modifié avec la température de croissance sans qu'il se produise de dépression importante de la photosynthèse. Dans ce cas l'ajustement aux nouvelles conditions apporte un gain pour la plante. Le Pois dont le cas a été discuté Fig-T11, bien qu'étant une annuelle, est un exemple de cette plasticité. Il est difficile actuellement de corréliser cette plasticité à un type d'habitat ou un type biologique.

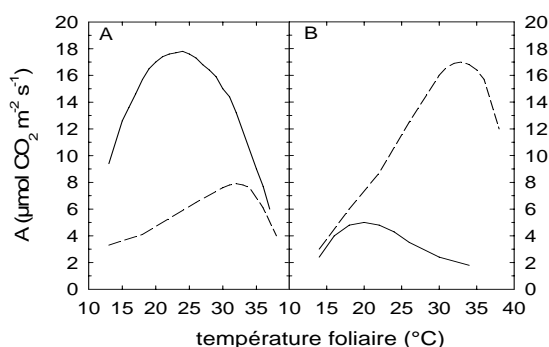


Fig-T12. Schéma montrant la relation entre A et la température foliaire chez des plantes cultivées à basses températures (—) et chez les mêmes plantes cultivées à température élevée (----). A : plante de milieux frais, cela peut être *Atriplex sabulosa* ; B : plante de milieux chauds, cela peut être *Tridestomia oblongifolia* (Berry et Björkman, 1980). On remarque, dans ces cas que l'adaptation à une température différente de celle qui prévaut en moyenne dans les conditions naturelles d'origine, provoque une dépression de A à toutes les températures. Comparez avec la Fig-T10.

2-Différences écotypiques vs grande plasticité dans l'acclimatation. Ceci concerne des populations de la même espèce qui ont des localisations différentes et qui subissent des conditions climatiques contrastées. Deux possibilités sont considérées.

(1) La distance entre ces populations a permis parfois, chez certaines espèces, le développement d'écotypes, c'est à dire d'individus qui ne présentent pas la même réponse face aux changements de l'environnement.

(2) Dans d'autres cas les individus montrent des capacités d'acclimations exceptionnelles qui expliquent l'étendue de l'aire de répartition.

Oxyria digyna est une Polygonaceae présente en Europe, dans les zones alpines, parmi les éboulis des montagnes granitiques. Mais on l'a trouve aussi dans les régions arctiques. L'optimum thermique des individus issus des populations arctiques est inférieur à celui des individus provenant des populations alpines, et ce, même lorsqu'ils sont cultivés côte à côte, dans des conditions identiques. L'histoire est la même pour *Solidago virgaurea*. Cette espèce a une aire très étendue : on la trouve des zones arctiques jusqu'à nos régions tempérées. Les études faites en Scandinavie ont permis de constater que les individus « arctiques » cultivés à côté des individus « tempérés » avaient un oT toujours plus bas que ces derniers.

Atriplex lentiformis est une plante en C4 qui forme des buissons. Elle vit en Californie, dans le désert de la vallée de la mort, mais aussi sous le climat moins rude de la côte. Les individus des populations du désert ont un oT plus élevé que celui des individus des populations côtières. Ces derniers présentent une forte réduction de la photosynthèse à toutes les températures lorsque l'on essaie de les acclimater à des conditions de température similaire à celles qui sont supportées par les populations du désert. Les populations côtières ont perdu la capacité de s'adapter à des températures élevées durant une microévolution. Les populations du désert peuvent par contre s'acclimater efficacement aux températures basses.

Heliotropium curassivicum (Borraginaceae) plante qui pousse dans notre pourtour méditerranéen, se trouve aussi en Californie, où elle forme des populations allant de la côte au plein désert. Elle ne montre pas de différence écotypique, mais possède par contre une forte plasticité. Son oT peut changer de 2°C pour toutes modifications de 3°C de la température de croissance entre 20 et 40°C et ce, sans modification de la valeur de A à la température optimale (Berry et Björkman, 1980)

En résumé, l'acclimation de la photosynthèse à des conditions thermiques différentes présente une grande variabilité qui reste encore très largement à explorer. De plus les raisons du changement rapide de l'oT lorsque la température de l'air varie, sont peu analysées.

3- La sensibilité thermique de la rubisco activase n'est pas la même chez des plantes issues de milieux dont la température moyenne est différente. L'optimum thermique de l'assimilation du CO₂ mesuré dans un air contenant 350 ppm sous une lumière saturante est de 12°C chez *Deschampsia antarctica*, l'une des deux angiospermes antarctiques, et de 28°C chez *Larrea tridentata*, que l'on trouve dans les déserts du sud ouest américain.

La réponse thermique de l'activation de la Rubisco est très proche de celle de A dans les deux cas

La réponse thermique de la Rubisco complètement activée, isolée de ces deux plantes, est tout à fait identique.

La cinétique d'inactivation de la Rubisco isolée de ces deux plantes et incubée à 40°C dans des conditions catalytiques est la même.

Par contre l'optimum thermique de la rubisco activase issue de *L. tridentata* est de 10 °C plus élevée que celui de la Rubisco activase obtenue à partir de *D. antarctica* (Salvucci et Crafts-Bander, 2004).

Ces observations sont en faveur d'une limitation exercée par la Rubisco activase (voir aussi § ci-dessus) dont le rôle serait probablement déterminant pour fixer la température optimale de l'assimilation du CO₂ chez deux plantes issues de milieux contrastés.

4- La sensibilité du PSII aux températures élevées est modifiée chez des plantes issues de milieux dont la température moyenne est différente. La Fig-13 illustre les résultats, déjà anciens, obtenus par Schreiber et Berry (1977) sur deux plantes en C4 : *Atriplex sabulosa* (plante de milieux frais) et *Tridestomia oblongifolia* (plante de milieux chauds). Ils étudient le rendement quantique maximum de l'assimilation nette de CO₂ de feuilles intactes (Φ_{CO_2}), sur lesquelles ils mesurent aussi, les modifications de Fo (voir chapitre « Emission de la fluorescence chlorophyllienne-Mesure et utilisation).

La mesure du rendement quantique maximum les met dans une situation où le fonctionnement photosynthétique est strictement limité par la lumière : ces auteurs regardent comment les réactions primaires de la photosynthèse sont affectées. Ils constatent que Φ_{CO_2} diminue fortement au-dessus de 40 °C pour *A. sabulosa* (plante de milieu frais) et au-dessus de 49°C pour *T. oblongifolia* (plante de milieu chaud). Cette diminution du rendement quantique de la photosynthèse correspond dans les deux cas à une augmentation brutale de Fo indiquant que des dommages se sont produits au niveau du PSII.

Dans le même travail ils montrent que le rendement quantique maximum de l'activité PSI mesuré sur des thylacoïdes isolés de feuilles prétraitées à différentes températures n'est pas modifié jusqu'à 60°C chez *A*

sabulosa et *T oblongifolia* alors que le rendement quantique maximum du PSII mesuré sur les mêmes thylacoïdes est fortement inhibé lorsque la température de pré-traitement est au-dessus de 40°C chez *A sabulosa* et au-dessus de 47°C chez *T oblongifolia*.

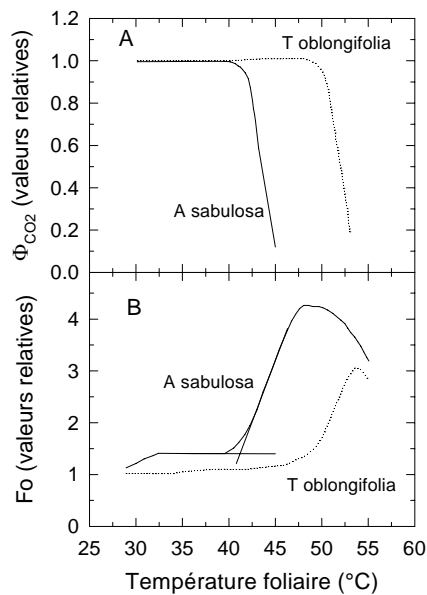


Fig-T13. A : Effet de la température foliaire sur le rendement quantique maximum de *A* mesuré sur *Atriplex sabulosa* (—) et *Tridestomia oblongifolia* (-----) , plantes en C4. Les valeurs sont données par rapport à la valeur mesurée à 30°C. B : Variation de F_o avec la température. La température à laquelle on observe l'augmentation brutale de F_o est mesurée, comme indiqué pour *A sabulosa*, à l'intersection de l'extrapolation linéaire de la variation avant et après cette augmentation (d'après Berry et Björkman, 1980).

Chez des feuilles traitées à des températures élevées, l'augmentation de F_o est toujours accompagnée d'une baisse de F_m , avec, comme résultat, une diminution de F_v/F_m . Il apparaît que le versant oxydant du PSII est très sensible aux températures élevées et que sa destruction rend compte des changements observés : aux fortes températures, les grana se désagrègent (les membranes ne sont plus accolées). L'augmentation brutale de F_o pourrait être due aussi à la dissociation des antennes collectrices du centre réactionnel du PSII ainsi qu'à l'inactivation du PSII lui-même.

Récemment Salvucci et Crafts-Brandner (2004) montrent de façon similaire que F_v/F_m est plus sensible aux températures élevées chez *D. antarctica* et *Lysipomia pumilla* originaires de régions froides que chez *Sismondia chinensis*, *larrea divaricata* et *Gossypium hirsutum*, originaires de régions chaudes.

III-Effets des températures extrêmes (gel et chaleur).

L'une des clefs pour la compréhension des extrêmes thermiques est la connaissance des effets qu'ils produisent sur les membranes biologiques. Ces dernières sont en particuliers le siège de la transduction de l'énergie lumineuse en énergie chimique dans les chloroplastes, et de la récupération de l'énergie portée par des substrats issus de la photosynthèse, dans les mitochondries.

Elles contribuent aussi à la compartimentation des activités cellulaires en les localisant dans différents organites : le fonctionnement de l'ensemble reposant sur des échanges de matière et d'informations entre ces entités. De même, le fonctionnement de la plante ne se fait que grâce à des échanges entre différents types cellulaires. Dans les deux cas, cette communication se fait nécessairement à travers les membranes, qui délimitent les compartiments, et par l'intermédiaire de transporteurs protéiques qui y sont inclus, ou encore de récepteurs qu'elles portent.

Les membranes biologiques sont surtout constituées de lipides. Ces derniers forment une bicouche composée d'acides gras insolubles, à l'intérieur des membranes, dont chacun est accroché à une tête polaire faisant face à un environnement aqueux.

Une baisse de température diminue la fluidité des lipides et par conséquent celle des membranes biologiques.

Une hausse de température, au contraire, augmente la fluidité des membranes.

Pour une température fixée, la fluidité des membranes dépend en premier lieu du degré de saturation des acides gras qui entrent dans la formation des lipides. Lorsque les acides gras sont saturés (ne possèdent pas de double liaisons) ils ont un point de fusion élevé et les membranes dont ils sont une partie sont rigides. Lorsqu'ils

ne sont pas saturés (une ou plusieurs doubles liaisons) leur point de fusion est situé à température plus basse et les membranes dans lesquelles ils se trouvent sont plus fluides par comparaison

On comprend bien l'importance de la fluidité membranaire pour le fonctionnement de la photosynthèse (et de la respiration). Les complexes protéiques qui constituent la chaîne de transduction de la lumière en énergie chimique, inclus dans une bicouche lipidique, doivent « communiquer » entre eux, parfois sur de grandes distances : Les plastoquinones qui transportent les électrons et les protons du PSII vers le *Cytb₆f* diffusent d'un complexe à l'autre à l'intérieur même de cette couche ; une augmentation de la rigidité de cette dernière peut freiner le transfert d'électrons. D'autre part, la membrane doit être suffisamment fluide pour permettre la rotation de l'unité CF_o de l'ATPase (voir chapitre sur le transfert d'électrons dans la membrane du thylacoïde), mais aussi suffisamment rigide pour maintenir la structure du système avec les complexes protéiques bien à leur place. Si cela est particulièrement frappant dans le cas du chloroplaste, toutes les membranes présentent une fluidité optimale pour des raisons similaires.

La membrane du thylacoïde est particulièrement fluide : elle contient une forte teneur d'acide gras possédant 2 ou trois doubles liaisons. Ce sont surtout des glycérolipides qui ont une tête hydrophile formée d'un sucre, le galactose par exemple, et dont les acides gras sont au 2/3 formés par l'acide α -linoléique (16 :3) ou une combinaison de cet acide et de l'acide hexadécatriénoïque (16 :3). Ces deux acides gras rentrent aussi dans la composition de 90% du MGDG (monogalactosyldiacylglycérone), lipide majeur du thylacoïde.

Les organismes poïkilothermes, dont font partie les plantes, ont développé des mécanismes permettant de moduler la fluidité des membranes en fonction de la température et des mécanismes protégeant ces membranes contre les effets des extrêmes. L'un des exemples les plus frappants d'une modulation rapide de la fluidité des membranes est celui des cyanobactéries (Murata et Los, 1997) chez lesquels la désaturation des acides gras se produit seulement lorsque les lipides sont formés, et non sur les acides gras seuls.

Chez ces organismes une baisse de 10 à 15°C de la température de culture arrête la croissance et la synthèse des acides gras pendant 10 heures environ. Durant cette période les acides gras des membranes sont désaturés. Lorsque leur degré d'insaturation devient suffisant, les cellules reprennent leur croissance et la synthèse d'acides gras redémarre. Si par contre la température de culture est augmentée, leur degré d'insaturation diminue parce qu'il n'y a plus de désaturation des lipides existants et parce qu'il se produit une synthèse rapide d'acides gras saturés.

A-Les plantes au froid.

Dans certains milieux, comme dans les montagnes, les régions arctiques, ou simplement dans nos régions, les plantes sont soumises, occasionnellement, ou régulièrement de façon saisonnière, à des températures basses. La plupart d'entre elles sont capables de résister aux températures supérieures à 0°C. Cependant beaucoup de mésophytes de nos régions tempérées peuvent être endommagées à partir de 15°C. Plus que résister au froid, elles évitent ces effets en ajustant leur cycle de vie aux périodes clémentes de l'année. Les températures basses ou élevées peuvent borner leur aire de répartition. Des plantes, comme le Maïs, d'origine tropicale ou subtropicale, dont la limite nord de culture en Europe est marquée par l'occurrence trop fréquente de températures fraîches. Le seigle, au contraire, est une plante qui résiste bien aux températures fraîches, voire au gel sévère (Guy, 2003) et son aire de répartition remonte plus au nord.

Les plantes qui ne résistent pas aux températures fraîches ne résistent pas non plus au gel et sont tuées dès que la glace se forme dans les tissus. C'est le cas du concombre et du Haricot qui ne peuvent pas survivre aux premières gelées de l'automne. D'autres, par contre, comme des céréales d'hiver, des choux, la grande Fétuque, peuvent survivre à des températures de -25 °C. C'est le cas aussi de beaucoup d'espèces ligneuses. Des cas extrêmes ont été reportés, comme celui de *Silene acaulis*, qui forme des coussins sur les rochers dans les Alpes et qui, en hiver, peut résister à la température de l'azote liquide (77 K = -196 °C) (Körner, 1995).

La tolérance au froid peut également être très variable dans une même espèce : ainsi des populations d'*Arabidopsis thaliana* venant de biotope allant de la Scandinavie aux îles du Cap Verde montre une tolérance au froid bien corrélée avec les températures d'hiver. (Hannah et al., 2006).

1-Le froid et le stress oxydatif sont en interaction (interaction froid-lumière). Le froid et la lumière interagissent pour endommager l'appareil photosynthétique. A basse température on note une augmentation de la susceptibilité du PSII aux forts éclaircissements (Voir chapitre sur l'« effet de la lumière sur les plantes ») et souvent une photo-oxydation de la chlorophylle qui se manifeste par un jaunissement des feuilles. Cet effet est dû à la production d'espèces actives d'oxygène dans ces conditions : les enzymes du CPRC sont inhibées au froid, tandis que l'énergie lumineuse continue à être absorbée par l'appareil photosynthétique. Cela conduit à un état de réduction des transporteurs de la chaîne photosynthétique, condition favorable à la production d'espèces actives d'oxygène (voir chapitre « Transfert d'électrons dans la membrane du thylacoïde »). Elles sont produites

- (1) à la fois au niveau du PSII et du PSI où la chlorophylle à l'état triplet peut être désactiver en présence de d'oxygène à l'état triplet pour donner de l'oxygène singulet,
- (2) au niveau du PSI l'ion super-oxyde est produit par réduction directe de l'oxygène (réaction de Mehler).

L'ion super-oxyde est le substrat de la SOD qui donne du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), à son tour réduit en H_2O et O_2 par l'action de différentes peroxydases notamment l'ascorbate peroxydase et la glutathion peroxydase. Le lecteur se reportera au chapitre « transfert d'électrons dans la membrane du thylcoïde » pour le détail des réactions.

La sensibilité aux fortes lumières associées au froid est différente selon les espèces.

Par exemple, l'assimilation nette de CO_2 chez une plante sensible au froid, comme le concombre (*Cucumis sativus* L.), s'annule après 2 heures à $5^\circ C$ et sous une DFQP de $1000 \mu mol m^{-2} s^{-1}$.

Par contre, ce traitement est sans effet chez une plante résistante comme le pois (*Pisum sativum* L.), où une illumination de 16 heures dans les mêmes conditions est nécessaire pour obtenir une inhibition de 75% seulement.

Chez le concombre, on observe à la lumière une oxydation (photo-oxydation) rapide des lipides. Cette photo-oxydation est inhibée après une incubation des feuilles traitées en présence d'atrazine (inhibiteur de l'activité PSII) : elle est donc bien liée à un transfert d'électrons dans les membranes thylacoïdiennes. Elle est causée probablement par la réaction de Mehler (Wise et Naylor, 1986). Une photo-oxydation des lipides est mesurable aussi chez le Pois, mais seulement après 6 heures de lumière. Dans les deux cas, une exposition au froid sous une forte lumière produit une désorganisation des chloroplastes, et, lorsque l'exposition est suffisamment longue, une dégradation des cellules elles mêmes.

Le chloroplaste est pourvu d'antioxydants dont l'oxydation protège les membranes photosynthétiques de la photo-oxydation. Si l'ascorbate et le glutathion sont parmi les plus connus et les plus étudiés, d'autres comme la lutéine, l' α -tocophérole, le β -carotène etc.. ne sont pas moins importants pour éliminer ces espèces actives. Wildi et Lütz, (1996) remarquent que la quantité d'antioxydants présente une forte variation diurne nocturne, avec un pic dans la journée, aux heures les plus ensoleillées : ce qui suggère bien un rôle protecteur. De plus Wise et Naylor (1987) constatent, chez des plantes soumises au froid, que l' α -tocophérole (vitamine E) des thylacoïdes est oxydé avant les caroténoïdes et les chlorophylles et concluent qu'il protège l'appareil photosynthétique de la peroxydation.

L'oxydation de ces antioxydants chez des plantes soumises au froid indique clairement le changement de l'état rédox de la cellule. Ce dernier est souvent suivi en mesurant le rapport entre les formes oxydées et réduites de l'ascorbate, du glutathion. On le suit également en mesurant l'état d'activation d'enzymes (comme la malate déshydrogénase à $NADP^+$) qui nécessite la réduction de ponts dissulfures pour devenir active (par exemple Priault et al., 2006).

En effet l'accroissement de l'état oxydé du chloroplaste peut conduire aussi à une inactivation complète des enzymes dont le fonctionnement dépend de leur état réduit, modulé par l'activité du système ferrédoxine/thiorédoxine.

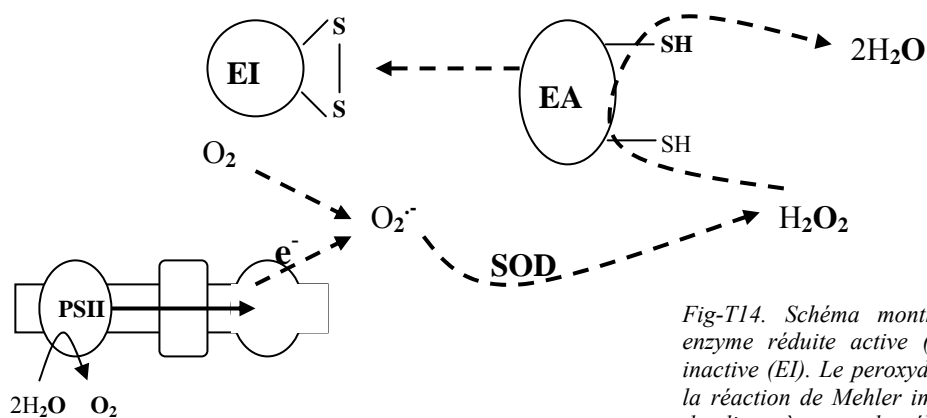


Fig-T14. Schéma montrant la désactivation d'une enzyme réduite active (EA) en une enzyme oxydée inactive (EI). Le peroxyde d'hydrogène est produit via la réaction de Mehler impliquant la réduction directe du dioxygène par les électrons (e^-) produits lors de l'oxydation de l'eau par le PSII. Le rectangle entre le PSII et le PSI sur la membrane thylacoïdienne représente le cytochrome b_6f .

Ainsi, la photosynthèse de feuilles de tomates mises au froid diminue en parallèle avec l'accroissement de l'inactivation de la FBPase et de la SBPase (les concentrations de F 1,6-BP et de S 1,7-BP augmentent). Il est possible de réactiver ces enzymes *in vitro*, après leur extraction de feuilles traitées au froid, en ajoutant au milieu réactionnel du DTT (dithiothreitol), capable de réduire à nouveau les ponts di-sulfures oxydés par les espèces actives oxydantes produites par les feuilles (Fig-T14). On comprend pourquoi l'action inhibitrice du peroxyde d'hydrogène sur l'activité de certaines enzymes du CPRC avait été observée anciennement (Kaiser, 1979).

Si la modification rédox est de faible amplitude, elle contribue souvent à moduler l'expression du génome et donc à ajuster la plante à des conditions nouvelles (voir section sur le transfert d'électrons dans la membrane du thylacoïde).

Si elle se produit rapidement et que son amplitude est trop grande elle provoque aussi des dommages induisant une baisse d'activité, voire une destruction des cellules.

La cible principale des fortes lumières est le PSII à température ordinaire. Mais l'activité PSI peut être aussi affectée chez les plantes à basse température. Cette photoinhibition du PSI ralentit le passage d'équivalents réducteurs par le système ferrédoxine/thiorédoxine et favorise le maintien à l'état oxydé des enzymes du CPRC, ce qui, par retour contribue, avec la baisse de synthèse du NADPH+H⁺, à la diminution de la fixation photosynthétique de CO₂

2-Le gel. La tolérance au froid des plantes se mesure en les plaçant à différentes températures pour déterminer, après retour à température ordinaire (de 20 à 25°C), la condition pour laquelle on observe 50% de mortalité : on mesure ainsi la TL₅₀ (TL = Température Létale).

On mesure aussi souvent la quantité d'électrolytes perdus par des tissus qui ont été placés à des températures inférieures à 0°C. Là aussi les mesures se font, après l'épisode de froid, autour de 20°C. On calcule alors l'EL50 (EL pour électrolyte): c'est-à-dire la température pour laquelle on a 50% de perte d'électrolytes. Le 100% de perte étant apprécié en détruisant les tissus par un passage dans l'eau bouillante. Ce que ce test apprécie est donc bien l'intégrité des membranes : les membranes qui laissent passer librement les électrolytes n'exercent aucun contrôle sur les flux qui les traversent. Les membranes sont bien les lieux principaux des dommages, et, lorsque la glace se forme dans les cellules, ils sont irréversibles.

Le froid peut avoir au moins deux actions sur les membranes :

- (1) modifier l'arrangement de la trame lipidique qui les constitue,
- (2) provoquer la formation de cristaux de glace qui agissent comme autant de petites aiguilles perforatrices. La glace qui se forme dans les espaces intercellulaires, en adhérant aux parois cellulaires et aux membranes, peut aussi provoquer leur rupture. Dans les deux cas cela a pour effet de perturber leur fonctionnement

Enfin le gel provoque la dénaturation de protéines et se trouve toujours associé à une sécheresse cellulaire.

Les mécanismes de résistances sont variés : ils vont de la production de protéines ou d'autres composés, glucidiques par exemple, pour stabiliser les membranes, à la modulation de la température à laquelle l'eau va s'organiser en cristaux de glace.

a- Phénomène de surfusion (supercooling en anglais). La température de l'eau qui se refroidit lentement peut être considérablement inférieure à 0°C (jusqu'à - 38 °C pour l'eau pure, mais habituellement jusqu'à -5, -10°C) avant que la glace ne se forme. La température remonte brutalement à 0°C lorsque les premiers cristaux de glace apparaissent. Ce réchauffement, d'une température négative jusqu'à 0°C, est dû à la libération de la chaleur de fusion.

Ce phénomène de surfusion est courant chez les plantes. La température à laquelle se forme la glace, lorsqu'elles subissent régulièrement des périodes de froids est souvent comprise entre -2°C et -3°C, voire -12°C comme c'est le cas d'une des 2 angiospermes antarctiques, *Dechampsia antarctica*. Chez les plantes ligneuses, de certaines régions comme le Canada, ou de zones montagneuses comme celles de l'Europe, l'eau peut même être encore à l'état liquide vers -30°C. Cela est souvent suffisant pour éviter les effets létaux du froid.

b-Variation de la température foliaire dans un milieu où la température de l'air diminue régulièrement. La Fig-T15 donne une représentation schématique du phénomène de surfusion observée sur une feuille (Ball et al., 2002). La feuille est insérée dans une chambre dans laquelle il est possible d'abaisser la température de l'air régulièrement, sa variation étant linéaire en fonction du temps.

La température de la feuille diminue suivant la décroissance de la température de l'air jusqu'à ce qu'elle atteigne la valeur T_n (température de nucléation) à laquelle les premiers cristaux de glace se forment dans le

compartiment extra cellulaire. Il se produit alors une libération de chaleur due à la condensation de l'eau liquide et de la vapeur d'eau en glace. La température de la feuille monte brutalement jusqu'à la température T_f .

La glace se forme d'abord à l'extérieur de la cellule dans les vaisseaux du xylème.

Si la congélation se fait d'abord dans les vaisseaux du xylème, c'est parce qu'il s'y trouve le plus grand volume d'eau disponible : la congélation, qui se produit avec une certaine probabilité, fonction de la présence de particules (germes de congélation) servant de point de départ à la formation des premiers cristaux et du degré de surfusion, apparaîtra d'abord dans un volume d'eau important.

C'est là aussi que la concentration en solutés de l'eau est la plus faible. Et par conséquent là où le point de congélation est le plus élevé.

On montre que ΔT , la différence de température de congélation entre l'eau pure et une solution aqueuse non ionisée est :

$$\Delta T = CK_C$$

où C est la concentration molaire (moles L^{-1}) du soluté et K_C (l'indice C pour congélation) un coefficient dont la valeur est $1,86 \text{ } ^\circ\text{C} (\text{mole } L^{-1})^{-1}$. K_C est une valeur expérimentale : la température de congélation d'une solution molaire aqueuse non ionisée est effective à $-1,86^\circ\text{C}$.

Pourquoi la température s'élève de T_n à T_f ?

On peut calculer l'élévation de température d'une masse donnée d'eau en surfusion lorsqu'elle gèle. Pour cela il faut connaître :

- (1) la chaleur spécifique de l'eau, C^{eau} , qui est de $4,2 \text{ J g}^{-1} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ et
- (2) la chaleur latente de fusion de la glace (L^g) qui est de 334 J g^{-1} .

La congélation qui est le phénomène inverse de la fusion et qui se déroule lorsqu'une certaine quantité d'eau (1 gramme, par exemple) en surfusion passe à l'état de glace, libère exactement cette même quantité d'énergie.

On a :

$$L^g / C^{\text{eau}} = 334 \text{ J g}^{-1} / 4,2 \text{ J g}^{-1} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1} = 80^\circ\text{C}$$

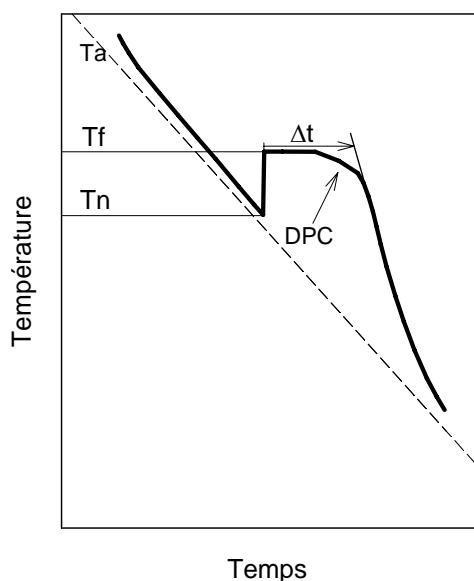


Fig-T15. Variation de la température moyenne d'une feuille (trait plein) soumise à une baisse régulière de la température de l'air (T_a , tiretés) dans une chambre thermostatée. L'eau demeure à l'état liquide pour de température de quelques degrés sous 0°C (surfusion). La température de la feuille augmente rapidement jusqu'à T_f (libération de la chaleur de fusion) lorsqu'elle atteint T_g (température où se forme les premiers cristaux de glace). DPC : Diminution de la température de congélation due à l'augmentation de la concentration en soluté des cellules. Voir texte pour plus d'explication. D'après Ball et al., (2002)

La chaleur générée par ce phénomène diffuse rapidement aux tissus environnants à partir de la petite quantité de glace formée. La masse de tissu ainsi réchauffée dépasse de loin la masse d'eau qui se congèle alors. Le rapport entre la masse de tissu réchauffée ainsi à la masse de tissu qui est congelée, lorsque la feuille est à la température T_f est estimé par :

$$80^\circ\text{C} / (T_f - T_n)^\circ\text{C}$$

Il se produit une baisse du point de congélation de l'eau cellulaire. Sécheresse induite par le froid.

Comme la congélation continue à T_f (la température de l'air diminuant), les pertes de chaleurs n'entraînent pas d'abord de changements de température mais seulement de la fraction d'eau gelée dans la feuille. La température reste stable. Si rien ne changeait, autre que la fraction d'eau gelée, la température resterait stable pendant l'intervalle Δt (Fig-T14). Dans cette situation la congélation cesserait rapidement et la température des tissus entièrement congelés diminuerait selon la relation suivant la période Δt .

Cependant l'eau de la cellule sort vers le milieu extracellulaire où la congélation commence. En effet pour des mêmes (où de semblables) températures négatives la glace a un potentiel chimique plus bas que l'eau liquide. La cellule se déshydrate donc. Cette déshydratation provoque une augmentation de la concentration des solutés qu'elle contient, et donc une baisse du point de congélation de l'eau cellulaire. Cette baisse du point de congélation de l'eau cellulaire est visible sur la Fig-T14 dans la période Δt par la baisse de T_f marqué DPC (dépression du point de congélation) et indiquée par une flèche (Ball et al., (2002) pour plus de détails).

Températures basses et manque d'eau sont liées. Généralement, les plantes qui peuvent supporter une forte déshydratation sont des plantes résistantes au froid. Chez des arbres, comme le Bouleau, un cornouiller américain (*Cornus sericea*) et le tremble, qui ont des aires s'étendant jusque dans les zones arctiques, la presque totalité de l'eau cellulaire peut passer dans le compartiment extracellulaire où se forme la glace, ne laissant pratiquement que l'eau liée aux membranes et aux protéines (Burke et al.1976). On a souvent dit que la plus basse température à laquelle une plante pouvait survivre était liée à sa capacité à survivre à la déshydratation imposée par la formation de glace dans les compartiments extracellulaires.

La déshydratation induit une diminution du volume cellulaire (plasmolyse, ce qui produit des contraintes sur le plasmaleme puisque la couche bilipidique dont il est formé n'est que très peu élastique. La microscopie électronique permet de distinguer deux cas principaux.

(1) La continuité de la membrane originelle n'est pas conservée, et il se forme des vésicules autour d'un « corps cellulaire principal ». Dans ce cas, lors du dégel, qui est associé à une expansion cellulaire en raison de la disparition de la sécheresse, le matériel membranaire qui entoure les vésicules doit être réincorporé rapidement à la membrane principale, ou bien encore du nouveau matériel membranaire doit être synthétisé suffisamment rapidement. Une lyse cellulaire peut se produire si ces deux processus ne sont pas suffisamment rapides. La lyse cellulaire, se produisant sur des feuilles, se traduit dans la nature par l'apparition de grandes plages vertes sombres accompagnée d'une apparence flasque, malgré la bonne hydratation. Cela peut s'observer en fin de saison de croissance lorsqu'il se produit un gel nocturne suivi par une belle journée.

(2) La formation d'invaginations ou d'extrusions qui donnent au contour de la cellule un aspect très tourmenté. Dans ce cas il y a une augmentation du rapport (surface de la cellule)/(volume de la cellule).

A cela s'ajoute le fait que la paroi cellulosique qui entoure les cellules forme un cadre rigide : la diminution du volume cellulaire peut entraîner une rupture des connections qui unissent les cellules d'un même tissu, via les plasmodesmes, provoquant des dommages additionnels. Cela peut expliquer pourquoi on a trouvé, chez quelques espèces, que les protoplastes (ce sont des cellules végétales isolées après digestion enzymatique de leur cadre cellulosique. D'où l'absence de plasmodesmes) étaient plus résistants au gel que les tissus dont ils avaient été isolés.

Examen de la réponse chez un eucalyptus.

La Fig-T16 montre une telle expérience faite sur une feuille intacte d'eucalyptus. La température de surface de la partie médiane de cette feuille est mesurée grâce à une caméra vidéo dans l'infrarouge (Ball et al., 2002). La température de formation des premiers cristaux de glace, $T_n = -3.2^\circ\text{C}$ environ, tandis que la température de la feuille en équilibre avec la température de l'air lorsque l'eau de la feuille se congèle, $T_f = -0.7^\circ\text{C}$. Ainsi la formation des premiers cristaux de glace se produit avec une surfusion de 2.5°C ($3.2 - 0.7$).

Le refroidissement n'est pas homogène sur la surface de la feuille. Dans le cas présenté (Ball et al., 2002), les premiers cristaux de glace se forment à la base du limbe, à proximité du pétiole, à l'intérieur des vaisseaux du xylème. La glace s'étend rapidement dans l'apoplasme, puis au reste du limbe. On met en évidence alors des cristaux qui se sont développés sur la paroi des cellules du mésophylle. Les cellules se déshydratent et leur volume diminue.

Dans cet exemple la température foliaire se stabilise à $-0,7\text{ }^{\circ}\text{C}$ après la montée de T_n à T_f . A partir de cette valeur on peut estimer (équilibre entre l'eau cellulaire et apoplastique) la concentration de solutés dans les cellules comme

$$C = 0,7\text{ }^{\circ}\text{C} / 1,86\text{ }^{\circ}\text{C}(\text{mole L}^{-1})^{-1} = 0,38\text{ mole L}^{-1}$$

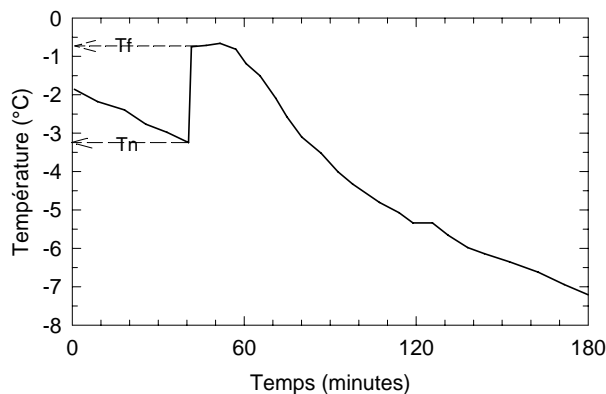


Fig-T16. Variation de la température de surface de la partie médiane d'une feuille attachée sur une plantule d'*Eucalyptus pauciflora* lors d'un gel en conditions contrôlées. T_g et T_f sont indiquées par les deux flèches (voir Fig-T14). (D'après Ball et al. 2002)

On peut calculer le potentiel osmotique correspondant, Ψ_s , car sa variation en fonction de la concentration suit approximativement la loi des gaz parfait :

$$\Psi_s V = nRT$$

$$\Psi = (n/v) \times RT$$

avec R , la constante des gaz parfaits ($= 0,0831\text{ bar L}^{-1}\text{ K}^{-1}$) et T la température absolue en K et V le volume du symplasme (ensemble des cellules unies entre elles par les plasmodesmes) .

$$\Psi = 8.6\text{ bars} = 0,86\text{ Mpa}$$

c-Les germes de congélation (Lundheim, 2002). Les agents autour desquels l'eau va s'organiser en structures qui ressemblent à des cristaux de glace, et qui ainsi sont responsables de sa cristallisation, sont des germes de congélation. Ces germes de congélation peuvent être des poussières, mais être aussi de nature biologique. En particulier, on sait que des plantes infestées par des microorganismes sont beaucoup plus sensibles au gèle et que cela n'est en rien dû à une réduction de leur résistance en raison de l'infection. De même les plantes se trouvant dans une zone polluée et chez lesquelles on trouve quelques microparticules dans les espaces intercellulaires sont plus sensibles au gel.

Pseudomonas syringae a été le premier microorganisme identifié comme germe de congélation. Mais l'on connaît maintenant un grand nombre de lignées bactériennes, venant au moins d'une dizaine d'espèces, qui ont cette propriété. Des germes de congélation ont été trouvés chez de nombreux organismes incluant des Bivalves, des gastéropodes, des reptiles, des amphibiens, des champignons, des algues, des plantes supérieures etc... Presque tous les germes de congélation d'origine biologiques sont protéiques. La première structure cristalline s'organise autour de séquences particulières dont certaines sont très conservées. La disposition des acides aminés qui les constituent permettrait une disposition locale des molécules d'eau en structures voisines de celle des cristaux de glace. Les phospholipides membranaires interviennent aussi, en permettant probablement l'ancrage et un positionnement adéquat des protéines membranaires jouant le rôle de germes de congélation. Dans d'autres cas, les cristaux peuvent se former autour de sphérules de phosphate de calcium ou autour de couches d'alcool aliphatique.

Le rôle biologique de ces germes de congélation n'est pas clair.

On a supposé que *Pseudomonas syringae* pouvait tirer quelques avantages de la formation de glace induite par sa présence dans une plante hôte. En effet la destruction des cellules de l'organe infesté lui donne libre accès aux éléments nutritifs de l'hôte. De plus la formation de cristaux le protège du gel en induisant sa déshydratation (voir section précédente).

Chez les insectes, on a supposé *a contrario* qu'ils permettaient la formation de glace dans des compartiments où les dommages occasionnés par les cristaux étaient faibles ou nuls, fonction qu'ils pourraient d'ailleurs aussi remplir chez les plantes. Dans ce dernier cas la production par la cellule de germes de congélation dans le milieu extracellulaire la protège de la congélation. Cependant il est souvent difficile de dire qu'un germe de congélation repéré chez un organisme à une valeur adaptative : en effet souvent les protéines impliquées ont une autre fonction et, de plus, des germes de congélation sont trouvés chez les organismes qui sont sensibles au gel et qui dans les conditions naturelles ne sont jamais soumis à de basses températures. Les organismes utilisant les germes de congélation pour s'ajuster au froid utiliseraient en fait un potentiel déjà existant pour d'autres raisons (économie de moyen).

Dans certains cas l'adaptation au froid paraît même être le résultat d'une disparition des germes de congélation. Ainsi, chez une plante en rosette des Andes (*Espeletia schultzei*), on a observé que la température de formation des premiers cristaux de glace était corrélée avec l'altitude (par conséquent avec la température moyenne de l'habitat). C'est à l'altitude la plus élevée que la Tg est la plus basse, suggérant

- (1) que des germes de congélation disparaissent dans ces conditions et indiquant
- (2) que la résistance de cette plante au froid est due à l'augmentation de la plage thermique dans laquelle l'eau peut rester liquide (Rada et al., 1987).

De même, chez des algues de bord de mer, on observe (Lundheim, 1997) que les espèces vivant dans la partie haute de la zone littorale présentent une Tg plus basse que celles qui se trouvent le plus proche de la mer et qui par conséquent bénéficient durant l'hiver d'une température plus clémente.

Lorsque la quantité des germes de congélation augmente chez des organismes affrontant les basses températures, ils paraissent souvent synthétisés en excès. C'est le cas des feuilles adultes de Seigle chez lesquelles Tg ne varie pas avec la température de croissance.

3-Mécanismes d'acclimatation au froid. La tolérance aux stress oxydatifs observée au froid, de même que la tolérance au gel, peuvent être induites en réponse à des températures fraîches au-dessus de 0 °C (de 1 à 5 °C).

Par exemple, le Blé qui est habituellement tué par un gel modéré (-5 °C) peut survivre, après une acclimatation à 5 °C, à des températures de -20 °C. L'Épinard cultivé à 20 °C, puis acclimaté quelques jours à 5 °C, devient très résistant aux effets conjugués des fortes lumières et du froid. L'induction de la tolérance au gel par un traitement à un froid modéré (2 à 5 °C) dépend beaucoup des espèces considérées : les plantes des régions tropicales ne peuvent en effet pas survivre à un gel ni même à une température fraîche (10 ° à 15 °C). D'autre part, chez quelques espèces, comme le Blé et le Seigle, seules les feuilles qui se sont développées au froid sont plus tolérantes.

Cette tolérance disparaît chez le Seigle préalablement cultivé à températures fraîches et transféré 3 jours à 20°C. Cependant il y a aussi une diversité de cette dé-acclimatation puisqu'elle demande au moins trois semaines chez la renoncule des glaciers et ne s'observe pas chez *Soldanella alpina*.

a-L'acclimatation au froid nécessite la lumière. La lumière en association avec les températures basses est nécessaire à cette acclimatation (Levitt J, 1980). Dans les conditions naturelles, l'endurcissement au froid est lié au raccourcissement des jours lorsque la mauvaise saison arrive. Les plantes qui ne perçoivent pas la longueur des jours sont incapables de s'acclimater au froid.

Dans une étude récente sur *Arabidopsis thaliana*, Wanner et Junttila (1999) montrent de plus que le déroulement de la photosynthèse est nécessaire à l'endurcissement au froid. En effet des plants d'*A. thaliana* traités avec du DCMU (inhibiteur de l'activité PSII) et exposée sous un flux quantique de 100 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ne montrent aucune acclimatation au froid. De même, si le flux quantique qu'ils reçoivent n'est seulement que de 5 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ou s'ils sont maintenus à l'obscurité.

Les mêmes auteurs montrent aussi que la température durant la photosynthèse journalière n'est pas cruciale si elle n'est pas suivie par une nuit froide. Lorsque la photopériode est de 12 heures,

l'endurcissement est voisin chez les plantes maintenues en continu à 1°C
et chez celles qui sont soumises à 21°C durant la journée et à 1°C durant la nuit.

Par contre les plantes ne sont pas endurcies si elles sont placées à 1°C durant la journée et 21°C durant la nuit.

La photosynthèse à 1°C ou 21°C est responsable de l'acclimatation en synthétisant des produits qui peuvent disparaître rapidement lorsque la température nocturne est élevée.

L'acclimatation au froid chez *A. thaliana* s'avère strictement corrélée à la concentration des sucres solubles (principalement : saccharose, glucose et fructose) qui augmente immédiatement après le passage à 1°C à la lumière. Une température nocturne de 1°C ralentit la consommation des sucres par la respiration et maintient leur concentration élevée dans la feuille. Une température nocturne élevée suivant une journée à 1°C entraîne une diminution rapide des sucres dans la feuille en stimulant la respiration.

Il est intéressant de noter que l'endurcissement au gel est déjà bien marqué après 16 heures de lumière à 1°C. Or dans ces conditions, seule la concentration des sucres solubles a augmenté. La concentration de proline, qui est aussi élevée chez cette plante au froid, n'augmente qu'après plus de 24 heures d'endurcissement : les auteurs concluent que la proline ne ferait que renforcer la tolérance au froid d'*A. thaliana* déjà acquise par l'augmentation de la concentration des sucres solubles.

Les fortes lumières sont en interaction avec l'acclimatation au froid : l'exposition aux lumières excédentaires, à température normale, augmente la résistance au froid. Cette acclimatation est probablement le résultat de la production d'espèces actives d'oxygène et de la réduction du pool des plastoquinones dans ces conditions : ces signaux influencent les mécanismes de transduction du signal « basse température » et donc les réponses physiologiques des plantes aux températures fraîches.

b-l'acclimatation au froid est liée à l'accumulation de solutés ; relation avec la résistance à la dessiccation. La tolérance au froid est reliée à l'accumulation de composés divers par les plantes (voir aussi §a ci-dessus). Ce sont souvent des polyols, du glycérol mais aussi des glucides, comme le tréhalose le saccharose (voir aussi le chapitre effets de la contrainte hydrique sur la photosynthèse). Ces substances abaissent, bien entendu, le point de congélation de l'eau dans la cellule, mais également, se lient aussi aux membranes, empêchant l'eau d'y parvenir et par conséquent d'y former des cristaux. La proline que l'on trouve en abondance dans les choux après l'hiver pourrait avoir ce rôle. Il est classique de mettre en relation chez les plantes pérennes vivant dans les régions où la période froide est marquée, l'augmentation de la concentration de solutés dans la plante lors de l'arrivée de la mauvaise saison avec l'augmentation de la résistance au froid ; cette acclimatation est réversible et la concentration de solutés diminue avec la résistance au froid lorsque la belle saison s'annonce.

La protection assurée par les produits synthétisés sous l'effet du froid est loin d'être comprise. L'une des raisons pourrait être l'augmentation même de la concentration en solutés dans les cellules qui abaisse la température de congélation de l'eau qui s'y trouve. Comme résultat de l'abaissement du point de congélation de l'eau cellulaire, les premiers cristaux de glace qui se forment dans la plante, lorsque les températures deviennent rudes, se trouvent dans l'apoplasme où la concentration en solutés est plus faible. Le potentiel de l'eau congelée étant faible, l'eau sort de la cellule, ce qui augmente en retour sa concentration en solutés et diminue encore le point de congélation de l'eau restante ; mais en même temps provoque sa déshydratation.

Les bryophytes sont des organismes poikilohydriques, c'est-à-dire qui ne peuvent contrôler leur perte en eau car leurs organes photosynthétiques ne sont pas pourvus de stomates. Ils ont une grande tolérance à la sécheresse. Dans les conditions naturelles on a reporté des TL50s entre -6°C et -25°C en été. Et ces TL50s augmentent encore en hiver (Rütten et Santarius, 1993) en parallèle aussi avec un accroissement de la concentration en sucres solubles. On sait que l'ABA est rapidement synthétisé chez les plantes soumises à contrainte hydrique (voir chapitre « effet de la contrainte hydrique sur la photosynthèse »). Il n'est, par conséquent pas étonnant que les chercheurs aient essayé de voir l'effet produit par un apport exogène de cette hormone (pulvérisations sur les organes aériens ou ajouts par voie racinaire) sur la résistance au gel. Ainsi Nagoa et al. (2005) montrent que la résistance au gel de protonéma de *Physcomitrella patens*, maintenus à 23°C, est augmentée par un traitement exogène avec 10 µM d'ABA : la TL50 passe de -2°C avant le traitement à -12°C et -16°C après, respectivement 1 et 2 journées : dans ce cas l'ABA provoque également un accroissement de la concentration en sucres solubles, concomitante à une dégradation de l'amidon contenu dans les chloroplastes.

Chez les plantes supérieures (dont la très grande majorité est homéohydrique) soumises à la sécheresse il y a aussi une augmentation de la résistance au gel, et ce, en l'absence de période de froid. La résistance au gel augmente aussi après un traitement par L'ABA exogène à température ordinaire. Par exemple, l'EL50 de *Solanum commersonii* cultivé sous l'alternance jour nuit de 20°C/15°C (avec une DFQP de 450 µmol m⁻² s⁻¹ durant les 14 h de jour) qui est de -4°C passe à -10°C après un traitement de 15 jours avec de l'ABA (10⁻⁵M) donné dans les mêmes conditions de croissance. La réponse présente une variabilité spécifique, puisque *Solanum tuberosum* n'est pas endurci au froid par un traitement similaire à L'ABA (Chen et al., 1983). Une culture à 5°C (même photopériode que précédemment) ne modifie pas la EL50 de *S. tuberosum* qui demeure à -3°C tandis qu'elle fait passer celle de *S. commersonii* de -5°C à -10°C. De façon générale les plantes qui peuvent s'endurcir

au gèle présentent une forte augmentation transitoire de la teneur en ABA lors de leur passage à des températures fraîches : l'acquisition de la résistance au froid et la synthèse d'ABA sont liées.

c-L'acclimatation au froid est liée à la synthèse d'enzymes du métabolisme carboné photosynthétique. Lorsqu'une plante en C3 cultivée à température normale subit une température fraîche, la diminution de photosynthèse s'accompagne à la fois d'une inhibition d'activité des enzymes participant au CPRC et d'un ralentissement de la synthèse de saccharose, qui entraîne une diminution du Pi disponible pour le passage des TP du chloroplaste vers le cytoplasme (le Pi est alors séquestré dans les chloroplastes : voir section B4 ci-dessus).

Par exemple, la photosynthèse d'*A thaliana* cultivé à 23°C et placé à 5°C est rapidement inhibée de 75% environ (Strand et al. 1999). Parallèlement il y a une réduction des activités de quelques enzymes du CPRC (Rubisco, glyceraldéhyde phosphate déshydrogénase, aldolases, transcétolases, phosphoribulokinase) et de la voie de synthèse du saccharose (SPS, FB Pase cytosolique). Ces feuilles synthétisent surtout de l'amidon.

Ces plantes sont laissées 10 jours à 5°C pour estimer l'incidence de la durée au froid sur la synthèse de saccharose et le fonctionnement du CPRC.

(1) Chez les feuilles adultes on constate une augmentation marquée du niveau des transcrits et de la quantité de FB Pase cytosolique et SPS. De plus La synthèse de saccharose, comparée à celle de feuilles avant traitement au froid, augmente relativement à celle d'amidon.

(2) Chez les feuilles jeunes au moment du passage à 5°C, et qui se développent au froid, on constate une activité photosynthétique qui est proche de celle mesuré à 23°C avant passage au froid. De plus les activités des enzymes étudiées sont fortement augmentées : multipliées par 10 pour la SPS, par 6 pour la FB Pase cytosolique, et par 2-3 pour les enzymes du CPRC.

Ces feuilles contiennent plus de composés phosphorylés et 3 fois plus de Pi disponible que les feuilles développées à 23°C : la sortie du Pi normalement stockée dans la vacuole doit donc être favorisée. Les photophosphorylations et l'activité du transporteur de Pi ne sont donc probablement pas limitées. Tout concourt pour augmenter l'assimilation du dioxyde de carbone et restaurer l'exportation de trioses phosphates. Ces feuilles présentent une synthèse de saccharose équivalente à celle des plantes restées à 23°C.

En résumés les feuilles développées à 5°C présentent aussi un accroissement du volume cytoplasmique et une baisse de celui des vacuoles. Cela est perceptible par la diminution de la quantité d'eau dans les feuilles lorsque celles-ci ne souffrent d'aucun déficit hydrique. L'augmentation relative du volume cytoplasmique est à mettre en relation avec la forte augmentation des protéines foliaires et de la masse spécifique des feuilles sèches qui passe de 2,1 à 7,1 mg cm⁻² sans que la teneur en amidon n'augmente (la valeur élevée de la surface spécifique de la feuille est due en grande partie à la stimulation de la synthèse des protéines au froid). Les auteurs notent que l'acclimatation des feuilles adultes à 23°C placées à 5°C est incomplète (les réponses décrites plus haut pour les feuilles jeunes dont la croissance s'est faite à 5°C sont dans ce cas de moindre amplitude).

De façon générale, les feuilles des plantes que l'on trouve dans des environnements froids (haute montagne, zone polaire) sont plus épaisses (masse spécifique élevée) et ont des teneurs en chlorophylle ($\mu\text{mol chl. m}^{-2}$) et en protéines (mg m^{-2}) plus grandes. Si cela est à relier en partie à l'augmentation du nombre de cellules par unité de surface (accroissement du nombre de couches cellulaires dans les parenchymes), cela est aussi dû à un accroissement du volume cytoplasmique. Souvent les vacuoles sont fragmentées et les parois cellulaires plus rigides et épaisses. Enfin l'activité de ces feuilles n'est pas limitée par la disponibilité en Pi.

Il est intéressant de remarquer que le passage au froid d'une plante s'accompagne souvent, dans un premier temps, d'une diminution des transcrits des gènes *CAB* (chlorophyll A/B-binding protein) et *RBCS* (gène codant pour la petite sous-unité de la rubisco) dont la teneur augmente à nouveau lors de l'acclimatation, et ce, bien que la concentration de sucres solubles s'accroît alors dans la feuille. Ceci est surprenant, puisque l'on sait que l'expression de ces gènes est réprimée à température ordinaire lorsque la concentration des sucres solubles augmente : à l'évidence cette régulation disparaît à température basse, ou bien la compartimentation des sucres dans la cellule y est différente, et ceux-ci ne peuvent atteindre les sites actifs de la régulation

d-L'acclimatation au froid provoque un changement du degré de saturation des acides gras. Le niveau d'insaturation des acides gras dans les glycérolipides varie selon la température de croissance : une baisse de cette dernière entraînant une diminution de leur saturation compensant la décroissance de la fluidité membranaire qui se produit alors. On montre aussi que le degré d'insaturation est corrélé avec le maintien, à basse température, de l'activité des enzymes liées aux membranes (Nishida et Murata, 1996).

Les deux acides gras principaux des membranes thylacoïdiennes sont l'acide α -linoléique (18 :3) et l'acide hexadécatriénoïque (16 :3). Ils représentent les 2/3 environ des acides gras qui entrent dans la composition de cette membrane et plus de 90% de ceux qui constituent le MGDG (monogalactosyldiacylglycerol), lipide majeur du thylacoïde.

Routaboul et al (2000) apportent la démonstration directe que leur teneur dans la membrane thylacoïdienne est très importante pour le maintien de la photosynthèse de plantes cultivées au froid. Pour cela ils étudient un mutant d'*A. thaliana* qui cumule 3 mutations affectant 3 gènes dont les produits interviennent dans la désaturation des acides gras. Le triple mutant est donc dépourvu de ces deux acides gras qui sont remplacés par leur homologues plus saturés, 18 :2 et 16 :2. La croissance de la plante mutante n'est pas modifiée à 22°C sous une DFQP de 100 à 150 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$. De même, Φ_{PSII} sur cette plante à basse température pour quelques heures, est peu différent de celui mesuré sur le type sauvage dans les mêmes conditions. Les auteurs concluent que la modification n'affecte pas à court terme le fonctionnement de la photosynthèse à basse température.

Par contre, les modifications sont très importantes lorsque le triple mutant est cultivée à 4°C pendant plusieurs jours : forte baisse de la teneur en chlorophylle, système thylacoïdien désorganisé dans les feuilles qui se forment et forte diminution de Φ_{PSII} . Les acides gras considérés sont donc importants lors de la biogenèse et la maintenance des chloroplastes durant la croissance à faible température.

Le degré d'insaturation des acides gras dans le chloroplaste protège le PSII de la photoinhibition à basse température. On suppose dans ce cas que cela est dû à la facilitation des processus de réparation des dommages causés. Leur efficacité implique le transfert d'une pré-protéine D1 dans la membrane des thylacoïdes, vers son site d'« ancrage » dans les grana, (voir chapitre « effet de la lumière sur la photosynthèse ») : elle dépend donc de la fluidité du milieu dans lequel se fait le transfert.

e-L'acclimatation au froid induit aussi la synthèse de protéines spécifiques. Le froid allume ou module l'expression de gènes spécifiques. On estime qu'environ 10% des gènes connus actuellement pour être activés par la sécheresse le sont aussi par le froid.

Les gènes induits par le froid sont classés, pour le besoin de l'exposé, en deux groupes.

Un premier qui code pour des protéines qui protègent directement les cellules.

Certaines pourraient, pense-t-on, augmenter la tolérance au froid en modérant les effets de la déshydratation qu'il induit. Dans cette catégorie, on trouve les protéines LEA (Late-embr-yogenesis abundant), dont on sait qu'elles sont synthétisées juste avant la dessiccation survenant durant la formation des graines,

dont certaines apparaissent chez les plantes soumises à un sévère manque d'eau et dont la synthèse peut être déclenchée par un apport exogène d'ABA.

D'autres ont une fonction connue qui peut manifestement être utile lors d'une acclimatation au froid.

C'est le cas d'une désaturase (agissant sur les acides gras) (FAD8, chez *A. thaliana*) et d'une protéine assurant le transfert de lipides dans les membranes (blt4, chez l'orge). Toutes deux peuvent, en effet, intervenir directement en modifiant la composition des membranes assurant ainsi une fluidité optimale aux basses températures.

C'est le cas, chez diverses plantes, de chaperonnes (HSP, heat shock proteins ; HSP70 et HSP90) qui pourraient protéger les protéines présentes dans les cellules de la dénaturation par le gel.

C'est le cas, enfin, de protéines possédant au moins une fonction antigél, les AFPs (anti freeze proteins), et qui sont similaires à celles qui ont été décrites chez les animaux. Cependant le mode d'action de beaucoup de protéines induites au froid reste encore à déterminer, comme des protéines COR (cold regulated) qui forment une classe de petites molécules très solubles protégeant les membranes (probablement comme les protéines LEA) lors de la baisse de température.

Un deuxième régule l'expression et la transduction du signal « froid » et est constitué par des facteurs de transcriptions.

En particulier, chez *A. thaliana* ils agissent sur des éléments d'ADN régulateur du fonctionnement de gènes induits par les stress, comme le CRT (C-repeat) encore appelé le DRE (dehydration responsive element), qui contiennent une ou plusieurs copies d'une séquence de bases CCGAC conférant une réponse aux températures basses et à la déshydratation ; de même l'ABRE (ABA responsive element) dont le fonctionnement dépend de l'ABA et qui peut être indépendant du froid.

Trois facteurs de transcription se lient au CRT/DRE ils sont connus sous des nom de CBF1,2,3 (CRT binding factor,1,2,3) ou DREB1 A,B,C (DRE Binding 1, A,B,C). Il est à noter que le CRT/DRE se lie aussi à au moins deux facteurs de transcription (DREB2, A,B) qui sont induits par la sécheresse seulement et qui ne sont pas structurellement reliés au groupe de facteurs de transcription CBF/DRE1.

L'accroissement de la tolérance au gel de populations *A thaliana* recueillies des îles du Cape Verde à la Scandinavie est due a une activation de la voie des facteurs CRT (Hannah, 1996).

Le lecteur intéressé trouvera la liste d'autres protéines induites par l'acclimatation aux températures basses au moins dans les articles de revues de Thomashow (1998) et de Browse et Xin (2001), par exemple.

Les protéines antigél : AFPs (anti freeze proteins).

Environ une demi-douzaine d'AFPs est connue. Les AFPs empêchent la croissance des cristaux dans les solutions en surfusion. Elles diminuent de façon non colligative le point de congélation d'une solution, c'est-à-dire la température à laquelle un cristal de glace dans une solution en surfusion commence tout juste à croître. Elles inhibent aussi la recristallisation de la glace, définie comme la formation de gros cristaux aux dépens des plus petits. Les AFPs interfèrent avec les molécules d'eau lorsqu'elles commencent à prendre l'arrangement qui conduira à la formation d'un cristal. Elles se lient également aux cristaux de glace isolés ou aux bordures de blocs cristallins existants, les isolant de l'eau ambiante et inhibant ainsi la formation de glace. La liaison des AFPs avec les cristaux de glaces est réalisée, à la fois *via* les forces de van der Waals et des liaisons hydrogènes, à partir d'acides aminés hydrophiles arrangés pour correspondre au maillage du réseau cristallin.

Ces protéines augmentent donc la plage thermique dans laquelle se produit la surfusion. On n'a pas caractérisé de séquences particulières qui puissent conférer aux protéines des propriétés antigél. Actuellement, la seule façon de savoir qu'une protéine possède cette propriété est de voir s'il elle interagit avec la glace.

Les AFPs ont été surtout isolées et étudiées sur les insectes, les nématodes, les poissons, les araignées...mais peu chez les végétaux. On a cependant trouvé une activité antigél chez beaucoup de plantes vasculaires incluant les fougères.

Les plantes qui ne tolèrent pas la présence de cristaux de glace dans leurs tissus ne produisent pas d'AFPs.

Ainsi on n'en détecte pas dans l'apoplasme de plantes sensibles au froid comme le Maïs et le Tabac, et ce, même après qu'elles aient subi une période d'acclimatation à de températures fraîches. Elles ont été détectées dans différents organes de plantes qui subissent l'hiver sous une forme ou une autre : les bourgeons, les baies les racines les rhizomes et tubercules les troncs etc....

Chez le Seigle acclimaté des AFPs ont été trouvées dans les parois cellulaires des cellules épidermiques et des cellules du mésophylle, ainsi que dans les structures secondaires du xylème. On les trouve donc dans des sites à partir desquels la glace formée peut se propager dans la plante.

La situation n'est cependant pas si tranchée puisque l'apoplasme de plantes résistantes, comme le Soja d'hiver ou le chou, en sont dépourvus, même après une période d'endurcissement au froid. Probablement des stratégies différentes peuvent être mises en œuvre selon les plantes. Thomashow (1998) pense qu'elles seraient aussi présentes dans le compartiment intracellulaire des plantes résistantes où elles inhiberaient la formation de cristaux.

Durant l'hiver les plantes pérennes et vivaces, sont souvent protégées des trop basses températures par un manteau de neige isolant. Cependant cette protection est aussi associée à deux problèmes potentiels :

(1) les plantes sont maintenues à des températures proches du point de fusion où la glace peut recristalliser formant des gros blocs potentiellement destructeurs ;

(2) des organismes pathogènes, comme des champignons, peuvent se développer sous la neige, profitant de la température constante et de la forte humidité qui prévalent dans ces conditions.

Il est intéressant, dans ce cadre, de remarquer que les céréales acclimatées au froid sont généralement plus résistantes aux infections fongiques. De fait les AFPs sont assez semblables aux protéines qui sont normalement synthétisées en réponse à des infections et qui font partie du mécanisme de résistance aux pathogènes. Normalement, les protéines de défense contre les pathogènes sont relâchées dans l'apoplasme, en réponse à une attaque infectieuse, où elles sont capables de dégrader les parois cellulaires des champignons ou d'inhiber les enzymes qu'ils produisent. Chez le Seigle d'hiver, par exemple, on a trouvé deux AFPs qui sont des glucanases et deux autres qui sont des chitinases (Yeh et al., 2000).

Cependant on note, toujours chez le seigle d'hiver, que ces AFPs sont synthétisées en réponse au froid, à la diminution de la longueur des jours, à la déshydratation et à la production d'éthylène, mais non en réponse aux attaques de pathogènes. C'est l'éthylène produit au froid qui induit l'expression des gènes contrôlant cette

synthèse. *A contrario*, le seigle cultivé à température ordinaire et traité avec de l'acide salicylique, de l'ABA, ou encore mis en présence de moisissure des neiges, produit aussi des chitinases et des glucanases mais qui n'ont pas de fonction antigél.

Les AFPs assurent donc une protection à la fois contre la recristallisation et les attaques de pathogène dans des conditions où il est difficile pour une plante (températures inférieures à 0°C) de développer des défenses.

Les CORs

Leur étude est avancée chez *Arabidopsis thaliana*. Ce sont des protéines simples, formées seulement de quelques acides aminés avec des séquences répétées. Beaucoup d'entre elles, comme d'ailleurs les protéines LEA ont des régions capables de former des hélices α amphiphilic (c'est à dire qui ont à la fois des zones hydrophiles et des zones hydrophobes). Ces régions jouent probablement un rôle dans la stabilisation des membranes durant une période de gèle ou de sécheresse : les deux contraintes produisant une déshydratation des cellules.

Par exemple le gène *COR15a* code pour un polypeptide de 15 kD qui est dirigé vers le stroma du chloroplaste. Le polypeptide mature dont la masse molaire est de 9.4 kD est extrêmement hydrophile puisqu'il reste soluble dans l'eau bouillante.

Artus et al. (1996) ont tenté de voir si ce polypeptide pouvait protéger les chloroplastes contre les effets négatifs des basses températures. Le gène est exprimé chez *A. thaliana* dont les feuilles ou des protoplastes isolés des feuilles sont soumis à des températures allant de 0 à -11 °C durant 30 min.

L'effet du traitement sur les feuilles est évalué en mesurant le rapport Fv/Fm à température ordinaire : ce rapport est pris ici comme indiquant un état d'intégrité des chloroplastes. Chez les plantes transformées non acclimatées au froid, la tolérance aux basses températures des chloroplastes *in vivo* est augmentée de 2°C environ. Cela représente environ 1/3 de l'augmentation de la tolérance au froid induite par une acclimatation au froid de plantes non transformées. On suppose que la protéine stabilise la structure du thylacoïde au froid, bien que la façon dont elle pourrait exercer ce rôle reste évasive.

La tolérance *in vitro* des protoplastes au froid est déterminée utilisant une coloration vitale (diacétate de fluorocéine) après le traitement : les protoplastes vivants excluent le colorant. Bien que la protéine soit adressée aux chloroplastes, la survie des protoplastes isolés de feuilles des plantes transgéniques non acclimatées au froid est augmentée à des températures entre -4 et -8 °C. Cela montre bien que COR15a contribue au maintien de la stabilité du plasmaleme, tout en posant, évidemment, un problème sur son mode d'action, puisqu'elle est adressée aux chloroplastes.

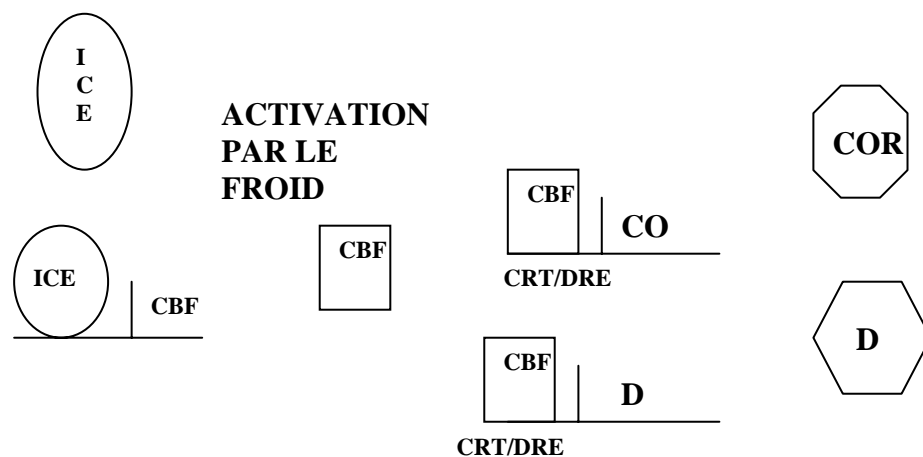


Fig-T17 Schéma indiquant sommairement quelques étapes entre la perception du froid, la synthèse des protéines COR et de quelques protéines permettant aux cellules de mieux résister à la sécheresse, D. ICE se fixe sur les promoteurs de gènes synthétisant CBF. Voir le texte ci-dessous pour les explications.

Il existe en fait peu de renseignements sur la modulation de l'expression de ces gènes par les autres facteurs de l'environnement. Le travail de Wanner et Junttila (1999) nous donne quelques éléments sur ces points. Ces auteurs montrent que les ARNm de trois gènes *COR* (*COR15*, *COR47* et *COR 78*) sont détectables 3 à 6 heures après le passage d'*A. thaliana* à 1°C et s'accumulent jusqu'à atteindre une concentration qui reste stable plusieurs jours. Ils notent aussi que la lumière ne module pas l'expression des gènes *COR* qu'ils étudient : en effet, les ARNm qu'ils codent sont présents à la lumière et à l'obscurité, et ce, en concentration identique. Puisque la lumière est nécessaire à l'endurcissement des plantes au froid, Wanner et Junttila (1999) concluent que l'expression des gènes *COR* est peut être nécessaire, mais pas suffisante dans l'accroissement de la tolérance au froid durant l'endurcissement. Cependant, ils notent, avec justesse, qu'il faudrait savoir si l'accumulation et l'activité des protéines produites par ces gènes sont dépendantes ou non de la lumière qui, alors, exercerait son rôle régulateur en aval des ARNm

Liaison entre le système CBF/DRE et la production des CORs. Plusieurs facteurs de transcriptions qui se lient au CRT/DRE ont été décrits : les CBF1,2, et 3 (voir plus haut).

La surexpression de CBF3 chez *A. thaliana* produit des plantes qui expriment une large gamme des gènes *CORs* et déclenche des changements biochimiques associés au froid, comme l'augmentation de la teneur en proline, en saccharose, raffinose, glucose et fructose. Dans ce cas l'augmentation de la teneur en proline est due, au moins en partie, à l'augmentation de l'expression d'un enzyme clé de sa synthèse (la D₁-pyrroline-5-carboxylate synthase). De plus la résistance au froid augmente et devient beaucoup plus grande que chez les plantes où, seule, *COR15* est surexprimée.

La résistance à la déshydratation est aussi accrue chez ces plantes transgéniques.

Dans ces expériences, on note que la résistance au froid est appréciée en mesurant l'importance de la fuite des électrolytes après traitement des tissus au froid (mesure de la EL50 voir ci-dessus). On conclut donc que les protéines *CORs* interviennent bien dans la protection des membranes au froid (Gilmour et al, 2000).

Les gènes *CBF* sont eux-mêmes régulés par la température. En effet, environ 15 à 30 minutes après le transfert d'*A thaliana* à 4 °C leurs transcrits commencent à s'accumuler. L'accumulation des transcrits des gènes contrôlés par l'élément cis CRT/DRE ne s'observe que 2 heures environ après le passage au froid. Un facteur de transcription, ICE, (Inducer of CBF expression), agit directement sur le promoteur de *CBF1*.

Cette protéine serait présente à température normale, mais inactive. Chez une plante mise au froid, ICE, ou une protéine qui interagit avec elle, devient active et stimule la transcription des gènes *CBF1*. Suivrait alors la stimulation des gènes sous le contrôle de CRT/DRE par CBF1 (voir Fig-T17).

Plusieurs voies de signalisation.

Les mutants *eskimo*. Il existe des mutants d'*A thaliana* qui sont tolérants au froid en l'absence de période d'endurcissement : ce sont les mutants *eskimo* (Xin et Browse, 1998). Chez les mutants *esk1*, par exemple, en prenant comme référence les caractéristiques du type sauvage, on constate que la concentration de proline est multipliée par 30, celle des sucres totaux par 2 tandis que l'expression d'un des gènes *LEA* (*LEAII*) est triplée. Par contre cette mutation n'affecte pas l'expression des gènes *COR*. La réponse des plantes au froid est bien déclenchée par le biais du fonctionnement de plusieurs voies de signalisation.

Il est à remarquer, cependant, que les tests de résistances au froid se font généralement sur des petite plantes, souvent âgées de 10 à 15 jours et élevées en boîte de pétri en conditions bien contrôlées. Il n'y a pratiquement pas de tests réalisés, aussi bien sur les mutants que sur les plantes transformées, à différents moments de la croissance et dans les conditions naturelles, ce qui importe le plus, évidemment, pour les écophysiologistes.

Les mutants *hos*. Deux mutants montrent une hypersensibilité aux basses températures, sans, cependant, de modification dans la réponse aux autres stressés biotiques (Ishitami, 1997) : ce sont les mutants *hos* (high expression of osmotically responsive genes)1 et 2. Les deux mutations affectent à la fois les voies de signalisation qui sont sous la dépendance et qui ne sont pas sous la dépendance de l'expression de CBF. De plus *hos1* montre une vernalisation constitutive (pas besoin de froid pour fleurir) tandis que la mutation *hos2* n'affecte pas la vernalisation.

En particulier, le gène *HOS1* code pour une protéine dont la répartition entre le noyau et le cytoplasme dépend de la température, au froid elle se trouve surtout dans le noyau : elle peut ainsi faire la liaison entre des événements cytoplasmiques induits par le froid et la transcription de gènes nucléaires. *HOS1* régule négativement la transcription de *CBF/DREB1*. Les transcrits de *HOS1* chutent rapidement 10 minutes après le passage au froid pour retrouver son niveau normal dans l'heure qui suit. Ceci est une indication qu'il pourrait

interagir avec *ICE*, le régulateur de l'expression de CBF (voir plus haut). Les transcrits de *HOS1* disparaissent 24 à 48H après le transfert au froid. Mais la protéine HOS1 reste dans le noyau plusieurs jours, ne disparaissant (rapidement, en 12H) qu'après le retour de la plante à une température normale.

f-Rôle du phosphate inorganique dans l'acclimatation au froid. Le rôle de la disponibilité en phosphate sur l'acclimatation au froid a été mis en évidence en utilisant deux mutants d'*Arabidopsis* *pho2-1* et *pho1-2* (*pho* pour phosphate) (Hurry et al., 2000).

Ces deux mutants diffèrent par la teneur en Pi de leurs feuilles.

Elle est 30 fois plus élevée chez *pho2-1* que chez *pho1-2*, et 3 fois plus forte chez *pho2-1* que chez le type sauvage (Tableau T1) lorsque les cultures sont faites à 23°C. De ce point de vue, la différence entre ces deux mutants est donc considérable.

La teneur en Pi disponible pour le métabolisme est voisine chez *Pho1-2* et le type sauvage, mais beaucoup plus élevée chez *Pho2-1*. Le Pi actif dans le métabolisme est estimé en fournissant par le courant transpiratoire du glucose à des feuilles, maintenues à la lumière, (feuilles coupées, dont le pétiole est placé dans un tube contenant la solution de glucose), puis en mesurant après 30 minutes l'augmentation de glucose-P et de fructose-P dans les cellules du mésophylle.

Le tableau T1 résume les effets de l'acclimatation chez les mutants comparés aux sauvages.

En particulier l'acclimatation n'augmente pas la disponibilité en Pi chez *Pho2-1* mais la multiplie par 5 chez *Pho1-2*. Le résultat est une teneur disponible de Pi identique (223 et 256 nmoles par g de matière fraîche respectivement) dans les deux cas : il y a donc une mobilisation du Pi chez *Pho1-2*, probablement à partir du Pi contenu dans les vacuoles.

On remarque que *Pho2-1* s'acclimite mal au froid et que cela s'accompagne d'un accroissement plus faible, évalué par rapport à la réponse du sauvage, d'activité d'enzymes liés au fonctionnement photosynthétique et à la synthèse du saccharose. La diminution des transcrits de *RBCS* et de *LHCB2* après passage à 5°C est très accentuée chez *Pho2-1* et presque égale à la réponse du sauvage chez *Pho1-2*.

L'accumulation de proline (qui n'est pas indiquée sur le tableau T1) est plus faible chez *Pho2-1* et augmentée chez *Pho1-2*. Les mutants *Pho2-1* qui présentent une teneur en Pi très élevée ne s'acclimatent pas ou mal. Les auteurs concluent donc que la carence en Pi est un signal important pour l'adaptation et au froid (voir la Fig.10).

Tableau T1. Le sens de la variation du paramètre étudié lors du passage de 23°C à 5°C est donné chez le type sauvage d'*Arabidopsis thaliana* (écotype Columbia) : ↑, stimulation ; ↓, inhibition. La réponse de deux mutants *pho1-2* et *pho2-1* est donnée par rapport à celle du type sauvage : +, réponse plus forte ; -, réponse plus faible ; = réponse égale ; 0, pas de changement à 5°C ; ↓, diminution à 5°C. Pi dpm : Pi disponible pour le métabolisme (d'après Hurry et al., 2000).

A 23°C	Sauvage	Pho2-1	Pho1-2
Pi total dans les feuille ($\mu\text{g g}^{-1}$ masse fraîche)	10	32	1
Pi disponible pour le métabolisme (dpm) (nmol g^{-1} masse fraîche)	55	200	51
Après acclimatation à 5°C			
Tolérance au gèle	↑	-	=
SPS et cFBPase (activité et teneur en protéine)	↑	-	+
Niveaux des transcrits de <i>RBCS</i> et de <i>LHCB2</i>	↓	---	- =
Activité de la rubisco	↑	0	+
Activités de NADP-G3P, pFBPase, aldolase par rapport à celles des transcétoylase, P-glycérate kinase et PRK	↑	↓	+
(Pi dpm à 5°C/Pi dpm à 23°C)	10	1	5

Dans ce même travail le niveau des transcrits de 4 gènes *COR* (*COR15a*, *COR 6.6*, *COR 47* et *COR 78*) est aussi suivi lors de l'acclimatation au froid (ces gènes peuvent être aussi induit par l'ABA). Les deux mutants (*pho2-1* et *pho1-2*) répondent de la même façon, et de manière identique au type sauvage : les transcrits augmentent considérablement durant le premier jour à 5°C. Cependant, après 10 jours au froid, le niveau des transcrits de *COR6.6* et de *COR 47* est à nouveau très faible. De plus chez les jeunes feuilles ayant fait leur croissance à 5°C le niveau des 4 transcrits de ces gènes *COR* est très faible. Ces faits permettent à Hurry et al. (2000)

(1) de conclure que la différence d'acclimatation à 5°C de *pho1-2* et de *pho2-1* n'est pas due à la présence des produits des *CORs* étudiés et

(2) d'avancer l'hypothèse que si les gènes *CORs* sont clairement indispensables dans les premières étapes de l'acclimatation au froid, leur rôle est certainement moins important pour le développement et le maintien de la tolérance au froid sur le long terme.

g-Perception du signal froid : importance de la fluidité membranaire et de l'entrée de Ca⁺⁺ dans les cellules lors de l'acclimatation au froid. Le rôle de la fluidité membranaire dans la perception du froid est bien établi. On fait varier cette fluidité à l'aide de différents composés chimiques et on regarde l'expression de gènes spécifiquement activés par le froid (Cold Acclimatization-Specific genes) ; dans certains cas l'on regarde aussi la variation de la tolérance au froid. Le DMSO (diméthyl sulfoxyde) rigidifie les membranes et le BA (Benzyl alcool) les fluidifie. Örvar et al.(2000) rapportent des expériences faites sur des suspensions de cellules isolées de *Medicago sativa* L.. Mises à 5°C ces cellules accumulent rapidement les transcrits de *cas30*.

(1)-Lorsque les cellules sont incubées 1 heure à 25°C en présence de BA (pour fluidifier les membranes) puis, toujours en présence de BA, mises à 4°C pendant 6 jours, les gènes *cas30* ne s'expriment pas. L'acquisition de la tolérance au froid est aussi fortement inhibée.

(2)-Lorsque les membranes des cellules sont rigidifiées en présence de DMSO, on observe à 25°C une accumulation rapide des transcrits de *cas30*. En même temps les cellules deviennent plus tolérantes aux basses températures.

(3)-Dans ces expériences l'accumulation de transcrits de gènes dont l'expression ne dépend pas du froid n'est pas modifiée au froid en présence de BA, et n'augmente pas à 25°C en présence de DMSO : il s'agit bien d'un effet spécifique de la fluidité membranaire.

(4)-Lorsque ces suspensions de cellules sont mises à 5°C, on observe immédiatement une entrée de Ca⁺⁺ dans le cytoplasme de la cellule. Sur des organes intacts les ions calcium viennent de l'apoplasme. En présence de BA à 4°C (membranes fluides malgré le froid) l'entrée de Ca⁺⁺ dans la cellule est inhibée. En présence de DMSO (membranes rigides) le calcium entre dans la cellule à 25°C. Le BA et le DMSO aux concentrations utilisées n'affectent pas la viabilité des cellules.

Certains composés, comme la cytochalasine D (CD) et le jasplakinolide (JK), peuvent moduler l'organisation du cytosquelette. CD déstabilise et JK stabilise les microfilaments d'actine.

Sur des cellules à 4°C, JK inhibe l'accumulation de transcrits de *cas30* et l'entrée de Ca⁺⁺ dans le cytoplasme ; il diminue également l'endurcissement aux basses températures induit par un traitement à 4°C.

Sur des cellules à 25°C, CD provoque l'accumulation de transcrits de *cas30* et l'entrée de Ca⁺⁺ dans la cellule.

L'ensemble de ces résultats suggère bien que la rigidification des membranes par le froid et la réorganisation des microfilaments du cytosquelette (inhibé par JK qui stabilise le cytosquelette) sont toutes les deux requises pour l'expression de *cas30* et l'entrée de Ca⁺⁺ dans la cellule.

Les mêmes auteurs montrent, lors du passage au froid des cellules, que les événements s'organisent comme suit :

- (1)-rigidification de la membrane,
- (2)-réorganisation du cytosquelette,
- (3)-entrée du Ca⁺⁺ dans le cytoplasme,
- (4)-expression de gènes spécifiques etc.....

En effet,

(1)-l'expression de *cas30* à 25°C en présence de DMSO (rigidifiant la membrane) et de CD (déstabilisant le cytosquelette) est inhibée par un chélateur de Ca⁺⁺ et

(2)-l'expression de *cas30* à 25°C en présence de DMSO est inhibée par le JK qui stabilise les filaments d'actine du cytosquelette.

Dans un article de revue Browse et Xin (2000) disent leur certitude sur l'existence de plusieurs voies de signalisation. Ils notent en effet (de manière similaire à ce qui a été fait ci-dessus section 3° page 25)

- (1)-que l'expression des gènes *COR* peut dépendre ou non de l'ABA,
- (2)-que les mutants *eskimo1* ont une tolérance constitutive considérable au froid (sans endurcissement à basse température) et ce sans expression des gènes *COR*
- (3)-que les mutants *sfr* (sensitive to freezing) ne conservent qu'environ 50% de la capacité d'acclimatation au froid.

Ils soutiennent aussi qu'il existe plusieurs « thermomètres » liés aux membranes et qui allumeraient l'une ou l'autre des voies

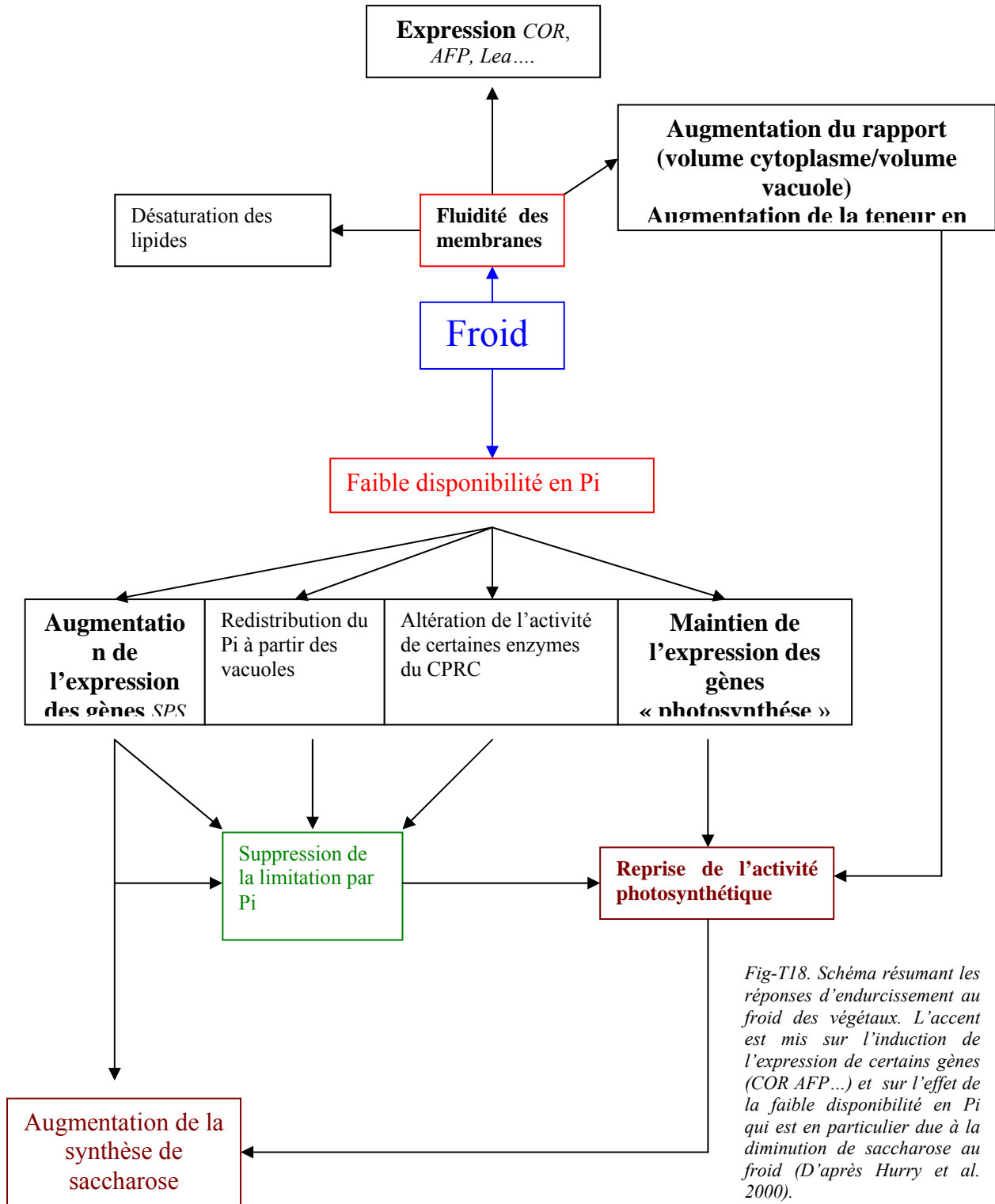


Fig-T18. Schéma résumant les réponses d'endurcissement au froid des végétaux. L'accent est mis sur l'induction de l'expression de certains gènes (*COR* *AFP*...) et sur l'effet de la faible disponibilité en Pi qui est en particulier due à la diminution de saccharose au froid (D'après Hurry et al. 2000).

h-Résumé et essai de synthèse. Le schéma Fig-T18 est un résumé qui remet en perspective les informations qui viennent d'être données. Il s'appuie sur une synthèse faite par Hurry et al. (2000).

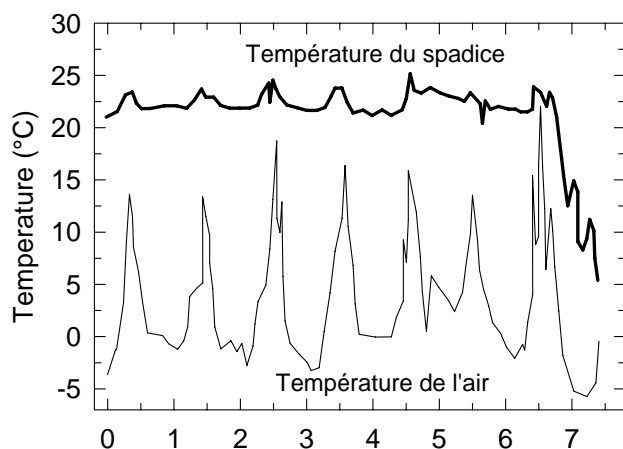
Le froid modifie la fluidité membranaire, ce qui déclenche l'expression de certains gènes, la désaturation de lipides et une augmentation relative du volume cytoplasmique. Ces réactions sont principalement importantes pour augmenter la résistance aux températures inférieures à 0°C (Synthèse des AFPs des CORs.), mais sont aussi liées à un meilleur fonctionnement aux températures fraîches (désaturation des lipides, augmentation relative du volume cytoplasmique) nécessaires à cette résistance (synthèse d'hexoses, de proline...).

Comme l'a montré le travail de Hurry et al. (2000) la diminution de la synthèse de saccharose au froid est également centrale dans le tableau. Elle provoque une baisse de la disponibilité en Pi et un ralentissement de la photosynthèse. La baisse de la concentration du Pi disponible est un signal qui est à l'origine de modifications qui vont tendre à restaurer l'activité aux faibles températures en augmentant la synthèse de saccharose et la disponibilité en Pi.

4-Thermogenèse et thermorégulation chez les plantes. Cette section pourrait être placée dans la section précédente, puisqu'il s'agit de regarder ici des mécanismes qui favorisent la présence des plantes durant les périodes froides. En effet certaines d'entre elles comme *Nelumbo nucifera* (le lotus sacré, Nelumbonaceae), *Arum maculatum* (l'arum tacheté, Araceae), *Annona reticulata* (le cœur de bœuf, Annonaceae), des Magnoliacées et des Palmiers (voir Seymour (2001) pour une liste plus exhaustive) présentent des températures florales qui peuvent dépasser de 30°C la température ambiante. Ainsi chez *Symplocarpus foetidus* (le chou puant, Araceae), au Canada, la plante fleurit en faisant fondre la neige qui l'entoure (Seymour et Blaylock, 1999).

L'augmentation de température des organes floraux entraîne le dégagement de substances odoriférantes qui attirent les insectes pollinisateurs. Dans le cas des arums et du *Symplocarpus foetidus*, les fleurs femelles portées par un spadice arrivent à maturité avant les fleurs mâles : ce système favorise la pollinisation croisée. La production de chaleur n'est apparemment pas contrôlée dans la plupart des cas et la température de la fleur varie en fonction de la température ambiante. Cependant, au moins chez le lotus (Seymour et Schultze, 1998) et le *Symplocarpus foetidus* (Ito et al., 2003) la température de la fleur est régulée restant presque constante malgré de très fortes variations ambiantes.

La Fig-T19 présente l'exemple du *Symplocarpus foetidus* en conditions naturelles. Les mesures sont faites à l'aide d'une caméra dans l'infrarouge. Cette technique permet de voir que la production de chaleur à lieu dans le spadice. La température du spadice reste constante, aux alentours de 22°C, durant 6 jours environ, et ce malgré de très fortes variations de la température ambiante : La température du spadice excède parfois de 25°C la température ambiante dont les valeurs selon les alternances jour/nuit peuvent aller de -4°C à 20°C. Au septième jour environ la température du spadice n'est plus régulée et suit les changements de la température ambiante. C'est à ce moment là que se développent les fleurs mâles.



*Fig-T19. Variations de la température du spadice de *Symplocarpus foetidus* et de la température de l'air, durant 7 jours en conditions naturelles. Les mesures sont faites à l'aide d'une caméra dans l'infrarouge. Noter l'arrêt de la régulation au sixième jour environ. Il se produit lorsque les fleurs mâles se développent (d'après Ito et al., 2003).*

La mise en route de la thermogenèse est accompagnée par un grand accroissement de l'absorption de O₂ et du dégagement de CO₂ par le spadice. Le rapport O₂/CO₂ restant de 1 durant cette crise, on conclut que les glucides

sont majoritairement utilisés. Les plantes mobilisent leurs réserves d'amidon pour alimenter la glycolyse et le cycle des acides tricarboxyliques.

Les oxydations sur la membrane interne de la mitochondrie

(1)-pourraient se faire à l'état découplé : en effet Ito (1999) a constaté l'induction par le froid dans le spadice du Chou puant de deux gènes codant pour des protéines « découpleuses » (UCPs : uncouplings proteins). De plus il trouve que l'expression de ces deux gènes n'est pas induite dans les feuilles de ce Chou. Les UCPs sont localisées sur la membrane interne de la mitochondrie et favorisent le transfert des ions H⁺ directement à travers la couche bilipidique, découplant le transfert d'électron de la synthèse d'ATP et permettant ainsi la dissipation de l'énergie sous forme de chaleur.

(2)-pourraient aussi se faire grâce à l'engagement de la voie alternative de transfert d'électrons dont l'accepteur terminal est l'AOX (alternative oxydase, voir encadré ci-dessous). C'est d'ailleurs l'explication la plus ancienne pour la thermogenèse (Meeuse, 1975). De fait récemment Walting et al. (2006) montrent, à l'aide d'une méthode isotopique de mesure utilisant le ¹⁸O₂ que le flux à travers la voie alternative peut représenter dans le réceptacle du lotus sacré, jusqu'à 75% du flux respiratoire totale. Il est remarquable de constater, dans ce cas, que le flux aboutissant au cytochrome a3 demeure inchangé. Les auteurs expriment alors leurs doutes sur le rôle des UCPs dans la thermogenèse. On remarque cependant que l'espèce qu'ils utilisent n'est pas la même que celle sur laquelle Ito (1999) a fait ses mesures.

Respirations sensible et insensible au cyanure ; l'alternative oxydase

Les complexes permettant l'oxydation du NADH, NADPH et du succinate fournissent les électrons qui vont réduire l'oxygène dans la mitochondrie. Ils sont placés sur la membrane interne de la mitochondrie.

Le complexe I (NADH/Ubiquinone oxydoréductase) oxyde, côté matrice, le NADH produit par le fonctionnement du cycle de Krebs.

4 NAD(P)H déshydrogénases, sur la surface de la membrane interne Deux, côté matrice peuvent oxyder à la place du complexe I le NAD(P)H formé dans la matrice ; deux, côté espace interne, peuvent oxyder le NAD(P)H venant du cytoplasme via la membrane externe (il est probable que ces enzymes ne se trouvent pas toutes en même temps dans les mitochondries d'un tissu donné).

Le complexe II (une succinate/Ubiquinone oxydoréductase), oxydant le succinate en fumarate.

Dans tous les cas, les électrons produits vont réduire un pool d'ubiquinone.

Lors des phosphorylations oxydatives, le transport d'électrons (à travers divers transporteur placés principalement dans le **complexe III**) du pool d'ubiquinone vers le cytochrome a3 située dans le **complexe IV** est (1) couplé à la formation d'un gradient de protons (l'espace intermembranaire devenant acide) permettant la formation d'ATP et (2) entraîne la réduction de l'O₂ en eau. Environ 3 ATPs sont produit par O₂ consommé. Cette respiration est sensible au cyanure dont l'inhibition s'exerce au niveau du cytochrome a3.

L'alternative oxydase AOX, est un dimère de 2 polypeptides, actif à l'état réduit et inactif dans le cas contraire. Il peut recevoir des électrons directement du pool des ubiquinones et réduire directement l'O₂ en eau du côté de la matrice. Cette réduction est insensible au cyanure. Le transport d'électrons vers l'AOX diminue la formation d'ATP : 1 seul ATP est alors formé par O₂ absorbé. Le reste de l'énergie est libéré sous forme de chaleur (voir, par exemple, la revue de Rasmunsson et al. (2004) pour plus de détails).

La Fig-T20, montre bien la régulation thermique à l'œuvre chez le Chou puant (Ito et al., 2004). Les mesures sont cette fois faites en conditions contrôlées, dans des enceintes de culture, où il est aisé de faire varier la température. Une baisse de température de 16 °C à 10 °C environ provoque une diminution temporaire de la température du spadice, qui retrouve en une heure environ une température stationnaire. L'augmentation de la température, à nouveau à 16 °C, entraîne une augmentation de la température du spadice qui régule à la baisse en 45 minutes environ vers un état stationnaire.

Les variations de la température sont perçues au niveau du spadice dans lequel se trouve un régulateur de la thermogenèse qui lui permet de répondre aux changements de conditions. On voit qu'il faut environ un peu moins d'une heure pour modifier le fonctionnement des systèmes de production de chaleur. Il est remarquable de voir dans ces expériences que des variations aussi faibles que 1 °C de la température ambiante provoque des oscillations de la température du spadice.

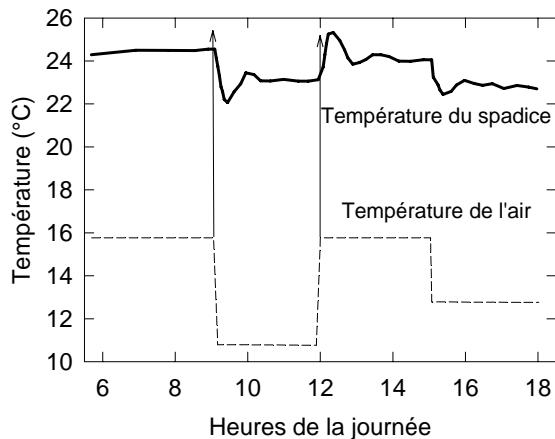


Fig-T20. Variations de la température du spadice de *Symplocarpus foetidus* lors de changements de la température de l'air. Les mesures sont faites en conditions contrôlées dans des chambres de culture (d'après Ito et al., 2004).

B-Les plantes aux températures élevées.

L'assimilation photosynthétique du CO₂ chez les plantes supérieures s'annule généralement lorsque la température atteint 45-50°C. Cependant dans la plupart des cas il est difficile d'obtenir une valeur stationnaire de A à partir de 40°C, indiquant que des processus importants pour la photosynthèse commencent déjà à être dégradés progressivement dans ces conditions.

Parmi les causes possibles expliquant cette inhibition, la destruction des membranes cellulaires a d'abord été examinée : une perte de la compartimentation cellulaire peut en effet inhiber le déroulement des grandes fonctions métaboliques. On a cependant rapidement montré que la photosynthèse était inhibée à des températures plus basses (d'environ 10°C) que celles auxquelles se produisaient les dommages membranaires. De même, il est apparu que l'enveloppe du chloroplaste était plus résistante à la température que les membranes formant les thylacoïdes : c'étaient donc bien les processus se déroulant à l'intérieur du chloroplaste qui étaient endommagés par les températures élevées. La résistance de la respiration aux fortes températures est aussi plus élevée : le dégagement de CO₂ à l'obscurité continue à augmenter pour des températures inhibant totalement la photosynthèse.

Dans les champs la température peut être par beau temps de 10°C supérieure à la température de l'air et dépasser 40°C fluctuant de 8 à 10°C en quelques secondes. Cette situation est exacerbée lorsque les plantes souffrent de sécheresse et qui présentent pour cela une faible transpiration. La transpiration exerce, en effet, un fort contrôle sur la température des feuilles (voir § I A, généralités) et permet d'éviter leur échauffement excessif dans les conditions naturelles. Le cas du *Gossypium barbadense*, cultivée (pour le coton) dans les zones sèches du Sud ouest américain et au Mexique où les températures de l'air peuvent atteindre régulièrement 35 à 40 °C durant la période de croissance, paraît exemplaire à cet égard. Dans ce cas, en effet, la sélection en vue d'obtenir une augmentation des récoltes en cultures irriguées a produit des génotypes dont la conductance stomatique est très élevée. Radin et al. (1994) montrent bien que la bonne productivité dans des environnements chauds observée chez cette plante dépend largement de l'augmentation de la conductance stomatique, qui permet une forte transpiration maintenant la température des feuilles dans une gamme non dommageable pour la plante.

1-Une courte période à température élevée affecte durablement la photosynthèse : un exemple. Schrader et al. (2004) ont examiné récemment l'effet produit par une brutale élévation de température sur l'activité photosynthétique d'une feuille de *Gossypium barbadense* en conditions contrôlées (Fig-T21.). Leur but était de simuler des variations rapides observées en plein champ.

Cette expérience met en lumière les facteurs qui limitent la photosynthèse dans ces conditions.

Comme on peut s'y attendre (voir Fig-T3) l'assimilation de CO₂ diminue rapidement lorsque la température passe de 30 à 42 °C en 30 secondes pour atteindre 40 % de sa valeur à 30 °C après 5 minutes. Le retour à 30 °C ne se traduit que par une augmentation graduelle de A qui est inhibée encore d'environ 30% après 10 minutes. Globalement ce traitement inhibe la photosynthèse foliaire,

directement pendant la période à 42°C et

indirectement lors du retour aux conditions initiales : des processus affectés à 42 °C deviennent alors limitant à 30 °C. Les effets de ce traitement sont réversibles, cependant, ils concourent à une diminution de l'assimilation de CO₂ dont la durée dépasse largement la période de forte température.

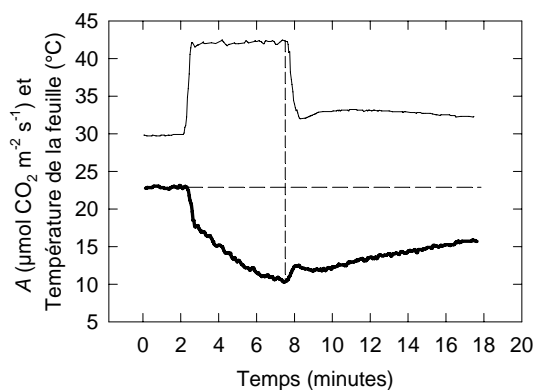


Fig-T21 . Variation de l'assimilation de CO₂ par une feuille de *Gossypium barbadense* au court du temps (trait épais). La variation de la température de la feuille durant la même période est aussi indiquée (trait fin). Les tirets verticaux indique la baisse de la température foliaire de 42 à 30°C environ et les tirets horizontaux la valeur stationnaire de A à 30°C avant le traitement à 42°C. Densité de flux quantique durant la mesure : 1500 µmol m⁻² s⁻¹ (d'après Schrader et al., 2004).

Compte tenu du nombre de pics à température élevée auxquels se trouve soumis le *G. barbadense* dans les champs Il est évident que les effets rémanents de ces périodes de fortes températures sont importants pour le fonctionnement de la photosynthèse dans ces conditions.

Quels sont les processus qui concourent à la baisse de A pendant et après la période à 42°C?

Quels sont les processus qui concourent à la baisse de A lors du retour à 30 °C ?

Ces questions sont abordées en mesurant A à différentes fraction molaire de CO₂ à 30 °C, puis à 42 °C et après retour à 30 °C (Wise et al., 2004).

Le passage à 42°C représente le traitement à température élevée. Il comprend une première phase durant lequel la feuille est d'abord rapidement chauffée et laissée 5 minutes à 42 °C, puis une seconde avant de qui dure environ 12 minutes temps nécessaire à la réalisation des mesures.

Le passage à 42 °C provoque, à 30 °C, la diminution de A pour des valeurs de C_i supérieures à 100 ppm (30 °C mesure 2, Fig-T22A). L'inhibition est d'environ 30% lorsque C_i = 700 ppm. Par contre lorsque C_i est inférieure à 100 ppm les mesures se superposent à celles obtenues avant le choc thermique suggérant que les changements éventuels de l'activité de la Rubisco (proportionnels à la pente à l'origine des relations (Fig-T22A), ne sont pas cruciaux). Cependant des processus affectés par le choc thermique imposent une limitation au dessus de 100 ppm.

Durant le choc thermique les valeurs de A sont toujours inférieures à celles durant la première mesure à 30 °C. Elles augmentent avec l'accroissement de C_i pour tendre vers les valeurs de la première mesure à 30 °C. La fonction oxygénase est stimulée à 42 °C, et l'augmentation continue de A avec C_i traduit probablement son inhibition progressive. De fait, les auteurs montrent, dans les premières secondes du choc thermique une baisse de la concentration de RuBP dans les chloroplastes qui est certainement due à une augmentation de la photorespiration ; une modélisation des flux montre que cette diminution est due à la stimulation d'environ 150%. La concentration de RuBP augmente ensuite montrant une stabilisation des effets du choc.

Les valeurs relatives du flux d'électrons sont mesurées par Φ_{PSII}. Les plus fortes valeurs s'observent à 42 °C : cela est dû à la stimulation de la photorespiration. Après retour à 30 °C les flux d'électrons est diminué de 30% environ. D'autre part il atteint un plateau pour C_i ≅ 200 ppm, alors que le plateau à 30 °C avant le traitement est apparent lorsque C_i ≅ 350 ppm.

Cette inhibition imposerait une limitation supplémentaire sur l'assimilation de CO₂ après le choc thermique.

L'analyse de courbes A/Ci faites en champs durant le même travail a montré qu'à la teneur actuelle de CO₂ dans l'atmosphère A était limitée par la régénération du RuBP, due probablement à la baisse de l'activité de réactions se déroulant sur les thylacoïdes et indispensables à sa régénération (Wise et al., 2004)).

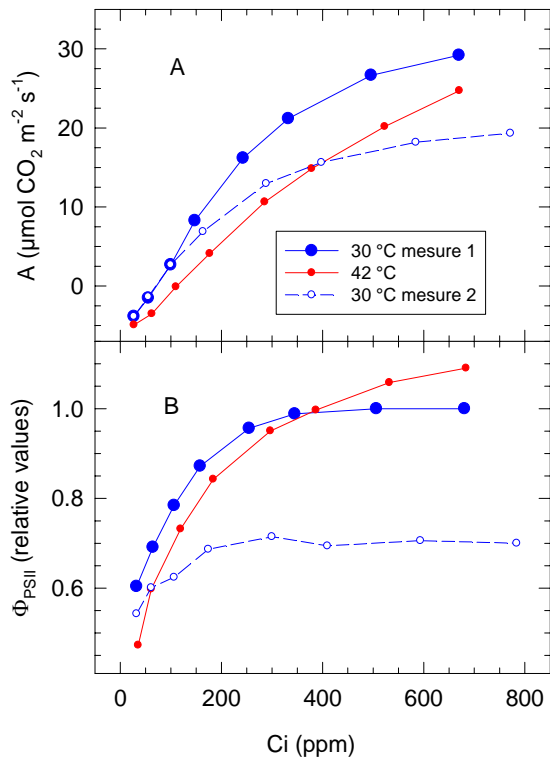


Fig-T22. A : relations entre A et Ci avant (bleu, cercles pleins), pendant (rouge, cercles pleins) et après (rouge, cercles vides) le passage d'une feuille de cotonnier à 42°C. Les mesures « avant et après » sont faites à 30°C). DFQP durant les mesure : 1200 µmol m⁻² s⁻¹.

B : relations entre le rendement quantique opérationnel Φ_{PSII} et Ci. Le symbolisme est le même que ci-dessus. (D'après Wise et al., 2004)

Résumé de ce qui se passe sur la feuille de cotonnier durant et après un choc thermique.

Après 7 secondes à 42 °C : peu de changements.

L'état d'activation de la Rubisco et les concentrations d'ATP et d'ADP demeurent inchangées. Les concentrations d'autres métabolites comme l'acide 3-phosphoglycérique (APG), le glucose 6-phosphate (G6P), le Fructose 6-phosphate (F6P) ne sont que marginalement affectées. Les variations rapides de températures, telles qu'on peut les observer en plein champ (voir section précédente) n'affectent pas considérablement le fonctionnement de l'appareil photosynthétique. Bien que cette expérience ne nous dise rien sur leurs effets cumulatifs.

Après 3 minutes à 42°C : se produisent quelques effets marquants. La baisse d'activité de la chaîne de transfert d'électrons est le moteur malgré la baisse de l'activation de la Rubisco.

(1) L'activation de la Rubisco diminue de 35% environ, entraînant une augmentation de la concentration de RuBP (moins utilisé) et une diminution de la concentration d'APG (dont la vitesse de synthèse décroît).

(2) Les concentrations de F6P et de G6P diminuent aussi comme résultat du ralentissement de la synthèse d'APG. Cependant les concentrations d'ATP de d'ADP ne changent pas.

(3) A ce stade la perméabilité de la membrane thylacoïdienne aux protons est accrue, mais le transfert cyclique des électrons autour du PSI est induit. Ces deux phénomènes ont des actions contraires, et qui se compensent, sur la synthèse d'ATP. Il se produit une phosphorylation des antennes mobiles du PSII qui migrent alors vers le PSI augmentant l'excitation arrivant que reçoit ce dernier. L'activation du PSI pourrait contribuer à réduire l'état réduit du stroma, en recyclant des électrons vers le flux cyclique.

(4) Le stroma est plus oxydé, comme on peut le voir par la baisse d'activation de la NADP-MDH. L'augmentation de l'oxydation du stroma est due au ralentissement de la chaîne de transfert d'électrons et à l'augmentation du flux cyclique autour du PSI. En effet si ce n'était pas le cas, la baisse de consommation de

NADPH engendrée par la baisse de l'activation de la Rubisco devrait entraîner une augmentation de l'état réduit du stroma : plus de pouvoir réducteur disponible pour cela puisqu'il n'est plus utilisé pour la réduction du CO₂.

(5) l'isoforme de la Rubisco activase régulée par l'état rédox est alors désactivée (Zhang et Portis, 1999).

L'inactivation de la Rubisco apparaît comme secondaire à l'inhibition d'activités liées à la chaîne de transfert d'électrons.

Schrader et al (2004) argumentent sur le fait que dans plusieurs autres situations, indépendantes de variations thermiques, l'activation de la Rubisco semble, de fait, remplir cette fonction régulatrice, contribuant à l'homéostasie du système : par exemple, lorsque l'on réduit l'éclairement reçu par une feuille, la concentration de RuBP diminue dans un premier temps pour augmenter dans un second lorsque la Rubisco se désactive.

Situation semblable à celle que l'on trouve ici.

De plus, l'inactivation partielle de la Rubisco a plusieurs conséquences :

elle amène l'oxygénation du RuBP sous son potentiel et mitige ainsi les fuites de carbone, *via* la photorespiration, inévitables à cette température.

Elle maintient dans des limites compatibles avec son utilisation et sa dégradation la formation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) dans les peroxysomes due à la stimulation de la photorespiration.

La Rubisco activase apparaît indispensable à la plante pour supporter les températures élevées.

Cela est de plus montré par l'étude d'un Tabac (*Nicotiana tabaccum*) transformé (le gène de la Rubisco activase étant inséré en position antisens) privé de Rubisco activase, fait apparaître que

-l'assimilation de CO₂ à températures élevées décroît comme chez la plante sauvage (pas besoin de la désactivation de la Rubisco pour observer cette diminution et suggérant que l'inhibition de l'activase chez le mutant est secondaire),

-l'assimilation de CO₂ ne récupère pas d'un passage de la feuille à 44 °C alors que le type sauvage récupère rapidement de façon presque complète.

Une minute après l'épisode à 42°C.

Les concentrations d'ATP et d'ADP n'ont toujours pas varié et l'assimilation de CO₂ a déjà augmenté parce que la photorespiration a diminué (augmentations du rapport «O₂/CO₂» et du facteur de spécificité de la Rubisco pour ces deux gaz). Le flux cyclique des électrons autour du PSII s'estompe peu à peu et l'état d'activation de la Rubisco a déjà un peu augmenté.

2-Phosphorylation des protéines et synthèse des chlorophylles.

a-Phosphorylation des protéines. Rokka et al. (2000) ont montré aussi qu'une augmentation graduelle de la température de feuilles d'épinard de 22 à 42°C entraîne une rapide déphosphorylation des protéines D1 et D2 et de CP43 du PSII. Lorsque les feuilles sont soumises à un choc thermique brutale la déphosphorylation est très rapide (de 5 à 10 minutes) et demeure très spécifique : en effet les antennes collectrices du PSII restent phosphorylées.

Cette déphosphorylation spécifique des protéines du centre réactionnel PSII lorsqu'il y a un choc thermique peut jouer un rôle régulateur important, un peu similaire à ce que fait la déphosphorylation de D1 et de D2 chez des plantes soumises à fortes lumières (voir chapitre « Effet de la lumière sur la photosynthèse »). La phosphorylation ne protège pas D1 de la photoinhibition, elle ne fait qu'empêcher la protéolyse de la D1 endommagée.

Ainsi une déphosphorylation des protéines du centre réactionnel PSII en réponse à une brutale élévation de température permettrait leur recyclage rapide et préparerait la réparation du système souffrant de la température élevée.

La déphosphorylation est faite par une déphosphorylase se trouvant dans la membrane thylacoïdienne et qui est surtout localisée dans les zones non accolées. La migration des PSII vers les zones non accolées lors d'un choc thermique (voir plus haut) amène le substrat à proximité de l'enzyme. Dans les conditions normales son activité est probablement inhibée

par la TLP40 (thylakoid lumen PPIase), une protéine qui se trouve dans le lumen, qui exerce un effet sur la déphosphorylation de certaines protéines du PSII et qui interagit avec la face interne de la membrane des thylacoïdes régulant ainsi l'activité de la phosphatase membranaire.

Elle est décrochée de la membrane aux températures élevées, libérant l'activité de la phosphatase.

b-Synthèse de chlorophylle. L'effet de la chaleur sur ce processus a été étudié en examinant le verdissement de plantules étiolées à différentes températures. Il est vite apparu que la synthèse des chlorophylles était inhibée par la chaleur. Ainsi la synthèse des chlorophylles totales (a + b) est inhibée de 70% environ chez des plantules étiolées de concombre mises à la lumière dans une chambre de culture à 42°C. Une étude complète faite sur le concombre et le maïs (Tewari et Tripathy, 1998) montre que cette inhibition est due à une forte diminution de la synthèse d'acide A-aminolevulique (ALA). Dans ces conditions l'ALA déshydratase et la porphobilinogène désaminase sont aussi partiellement inhibées. Curieusement l'uroporphyrinogène décarboxylase est stimulée et les coproporphyrinogène oxydase et protoporphyrinogène oxydase ne sont pas affectées. Le système de synthèse est donc affecté principalement à la source : la synthèse d'ALA. On peut donc déduire que la synthèse des cytochromes est aussi affectée par les chocs thermiques.

2-Importance du degré d'insaturation des acides gras. La fluidité de la membrane thylakoïdienne augmente avec la température et cela peut détruire son organisation complexe. Une augmentation du degré de saturation des acides gras dans les thylacoïdes peut entraîner une augmentation de la tolérance aux températures élevées. D'anciens travaux, réalisés sur des plantes pérennes du Mohave et des zones sèches australiennes, rapportés par Berry et Björkman (1980), indiquent en effet que l'augmentation de la température de croissance est corrélée à un accroissement du degré de saturation des lipides. Récemment, Murakami et al (2000) ont construit un Tabac transgénique dans lequel l'expression d'un gène codant pour la désaturase chloroplastique (ω -3 désaturase) est inhibée. Cette enzyme convertit les acides gras ayant 16 ou 18 carbones et contenant 2 doubles liaisons (16 :2 et 18 :3) en acides gras contenant 3 doubles liaisons (16 :3 et 18 :3) en désaturant respectivement la liaison carbone 12 et 13 de ces chaînes aliphatiques.

Les plantes transformées montrent une forte diminution des acides α -linoléique (18 :3) et hexa caténoïque (16 :3). Elles présentent une croissance normale lorsqu'elles sont cultivées durant 45 jours à 36°C sous une densité de flux quantique de 50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, condition fatale aux plantes non transformées : en effet, après ces 45 jours, le poids frais de leurs parties aériennes est de 120 mg environ, tandis qu'il n'est que de 13 mg chez ces dernières. Les auteurs vérifient évidemment qu'il n'y a pas de différence de croissance entre transformées et non-transformées lorsque la température de croissance est de 25°C. Les plantes transformées résistent aussi à une température de croissance de 47°C, conditions dans laquelle les plantes non transformées se fanent en 2 jours et jaunissent complètement en 3 jours.

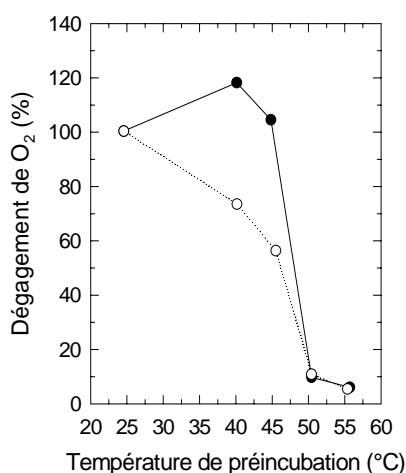


Fig-T23. Variation du dégagement de O₂ à la lumière en présence de CO₂ sur des feuilles de Tabac transgénique chez lequel l'expression d'un gène codant pour la désaturase chloroplastique (ω -3 désaturase) est inhibée (—) et sur celles du type sauvage (----) en fonction de la température durant 5 minutes de prétraitement. Noter que chez les plantes transgéniques les acides gras sont en moyenne plus saturés. Les mesures sont faites immédiatement après le prétraitement à la température de 25°C, voir le texte pour les autres conditions (d'après Murakami et al. 2000).

L'activité photosynthétique (mesurée comme dégagement de O₂ en présence d'une fraction molaire saturante de CO₂, sous une lumière rouge (entre 655 et 760 nm) de 100 wm^{-2} environ, résiste mieux aux fortes températures comme le montre la fig-T23. Dans les deux cas cependant elle est voisine de 0 à 50°C. En accord avec ce qui précède, la variation du rapport Fv/Fm (rendement quantique maximum du PSII) en fonction de la température lors du prétraitement est la même chez les sauvages et les transformées : les auteurs en concluent que le niveau d'acides triéoniques dans les lipides chloroplastiques ne contribue pas directement à la résistance du PSII aux températures élevées mais peut moduler l'activité photosynthétique dans ces conditions.

3-Un bref épisode à forte température induit un durcissement rapide du PSII. Ceci peut être illustré par des mesures de Havaux (1993) sur de la pomme de terre (*Solanum tuberosum*) cultivée en serre à la température de 25°C le jour et de 20°C la nuit et durcit par un traitement de 2H à 35°C (Fig-T24)

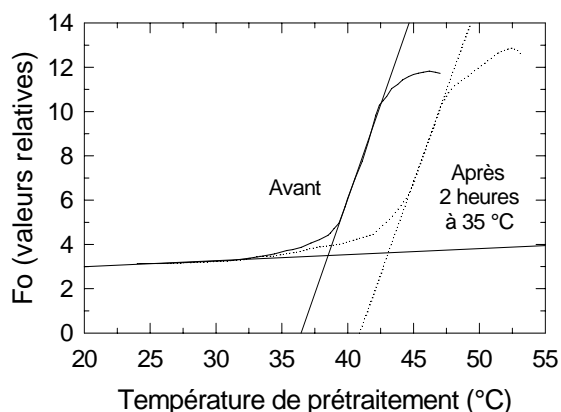


Fig-T24. Variation de Fo mesurée à l'obscurité sur des feuilles de pomme de terre en fonction de la température. Les mesures sont faites avant et après un durcissement des feuilles à la température de 35°C à l'obscurité. Deux heures à 35°C sont suffisantes pour avoir le maximum d'effet (Havaux, 1993).

L'augmentation de la température critique au dessus de laquelle il se produit la grande augmentation de Fo est très rapide et terminée après 30 minutes environ d'exposition à 35 °C. Elle est par contre réversible doucement : lorsque les plantes traitées sont remises à 25°C il faut en effet plus de 24H pour qu'elles récupèrent leur réponse d'origine. Les épisodes de températures élevées peuvent donc être importants pour la réponse des plantes en conditions naturelle. L'amplitude de la réponse dépend de la variété : Havaux (1993) note en effet que l'endurcissement à un épisode de forte température, mesuré par la méthode décrite Fig-T24, est de plus grande amplitude chez une variété de pomme de terre venant du Sahel que chez la variété, courante en Europe, qu'il utilisait habituellement pour ses mesures.

Havaux et Tardy (1996) observent que le traitement à 35 °C sous lumière modérée est responsable d'une dé-époxydation de la violaxanthine en anthéra- puis en Zéaxanthine qui s'accumule (voir chapitre « Effet de la lumière sur la photosynthèse » pour un schéma du cycle des xanthophylle). La longueur de la molécule de zéaxanthine correspond exactement à l'épaisseur de la membrane du thylacoïde : Sa présence augmente probablement la rigidité de cette membrane en jouant le rôle d'un rivet moléculaire. Deux des observations faites par ces chercheurs sont cohérentes ces idées.

(1) Une période de forte lumière à 25°C, qui provoque la formation de zéaxanthine (voir « Effet de la lumière sur la photosynthèse ») augmente la résistance du PSII aux fortes chaleurs.

(2) Le flux linéaire d'électrons est considérablement plus inhibé aux basses températures sur des feuilles préalablement traitées deux heures à 35°C. En effet, le prétraitement induisant une augmentation de la rigidité membranaire, augmente la susceptibilité de l'activité thylacoïdienne aux températures voisines de 0°C (voir ci-dessus la section sur le froid).

(3) L'assimilation de CO₂ d'une feuille de *Gossypium barbadense* suite à un choc thermique de 1 minute de 42 °C est environ deux fois plus inhibé lorsque ce traitement a lieu à l'obscurité. L'énergisation des membranes à la lumière protège bien l'appareil photosynthétique contre les températures élevées (Schrader et al., 2004).

4-Un bref épisode à haute température induit des dommages oxydatifs. Dans des environnements arides les plantes sont souvent soumises pendant la journée à des températures élevées durant de brèves périodes, allant de quelques minutes à une heure, ou un peu plus long. Comme dans ces environnements la transpiration est faible, il

n'est pas rare de mesurer des températures foliaires supérieures de 10 à 15°C à la température de l'air. L'effet de tels chocs thermiques sur la peroxydation des lipides et le taux de survie a été étudié récemment par Larkindale et Knight, (2002) en utilisant des plantules d'*Arabidopsis*. Un passage d'une heure à la température de 40°C provoque une peroxydation rapide des lipides, visible dès le premier jour après ce traitement chez des plantules maintenues à 20°C. Dans la série d'expériences présentée Tableau 2, la teneur en lipides peroxydés est multipliée par 7 trois jours après le choc thermique. Parallèlement le taux de mortalité des plantes traitées augmente considérablement : seulement 21% des plantules survivent 24 heures après le choc et toutes sont mortes 3 jours après.

Tableau 2. Effet d'une heure à 40°C ou de 1 heure à 30 °C suivie d'une autre heure à 40°C sur la peroxydation des lipides de plantules d'*Arabidopsis*. La peroxydation des lipides est évaluée en mesurant la quantité de malonadehyde (MDA) formée par le traitement (1 dans le tableau (l'unité)= 20 ng MDA par g de poids frais). Les plantules sont mises à 20°C après les traitements. Entre parenthèse se trouve le % de survivants après les traitements. Noter l'endurcissement produit par un passage d'une heure des plantules à 30°C. Les traitements se font sous la lumière de croissance (d'après Lardinkale et al., 2002).

Traitement	1 jour après	2 jours après	3 jours après
20°C constant	1 (100)	1 (100)	1 (100)
1 ^H à 40°C	1,6 (21)	3,7 (12)	6,9 (0)
1 ^H à 30°C puis 1 ^H à 40°C	1,6 (52)	1,7 (18)	1,2 (17)

Si les plantes sont placées une heure à 30°C avant de passer à 40°C, la peroxydation des lipides est beaucoup plus faible et le taux de survie plus élevé. Il y a donc un endurcissement des plantes contre les effets des fortes températures lorsqu'elles subissent d'abord une température élevée mais non létale. Dans ces conditions il se produit toute une série de réactions qui augmente la tolérance des plantes aux fortes températures (voir plus bas). Les voies conduisant à cette tolérance sont mal connues. On sait

(1) que cette tolérance est augmentée par des produits qui induisent la production temporaire d'espèces active d'oxygène et

(2) qu'elle implique aussi une série de messagers secondaires comme l'acide salicylique, l'acide abscissique, le calcium et l'éthylène.

En particulier si l'on traite des plantes (Pomme de terre, Maïs, Brome) avec de l'acétyle d'acide salicylique ou de l'ABA donnés en « spray » on augmente la tolérance aux fortes températures. Dans la même ligne Larkindale et knight (2002) montrent que des mutants d'*Arabidopsis* insensibles à l'éthylène ou à l'ABA sont très sensibles au choc « forte température » et que des inhibiteurs des canaux calciques sensibilisent aussi la plante au choc thermique. L'ensemble de ces données donne l'impression d'une multiplicité de voies de signalisation dans l'acquisition de la tolérance aux fortes températures.

Le choc « forte température » donné à l'obscurité ne produit pas de peroxydation des lipides ni de mortalité parmi les plantules d'*Arabidopsis* traitées : la lumière est nécessaire pour cela (Tableau 3). Les espèces actives d'oxygène sont probablement produites par l'activité photosynthétique.

Tableau 3. Effet d'une heure à 40°C appliquée à la lumière ou à l'obscurité sur la peroxydation des lipides, évaluée comme précédemment, et sur le taux de survie des plantules trois jours après les traitements. L'expérience est faite sur des plantules d'*Arabidopsis*. La peroxydation des lipides est évaluée en mesurant la quantité de malonadehyde (MDA) formée par les traitements (1= 20 ng MDA par g de poids frais) (d'après Lardinkale et al., 2002).

Traitement	Teneur en MDA	% de survivants
20° constant	1	100
1 ^H à 40°C à la lumière	3	1
1 ^H à 40°C à l'obscurité	1	100

5-Mécanismes de protection.

a-La synthèse d'isoprène. L'isoprène est émis dans l'atmosphère par de nombreuses espèces ligneuses comme les chênes, les peupliers et les épicéas, bien que dans ce dernier cas l'émission soit modeste. Des plantes comme *Myrtus communis* et *Rhamnus alaternus*, qui forment des buissons dans les zones méditerranéennes, en sont également de bons émetteurs. Enfin, plusieurs espèces de mousses (du genre *Sphagnum* par exemple) et de fougères produisent aussi de l'isoprène. Globalement on estime que les émissions d'isoprène représentent $503 \cdot 10^{12}$ g de carbone annuellement, ce qui le place immédiatement derrière le méthane. L'émission d'isoprène peut atteindre chez des feuilles de *Quercus rubra* à 30°C, jusqu'à $80 \text{ nmoles m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Notons cependant que de nombreuses plantes n'émettent pas d'isoprène, le Haricot (*Phaseolus vulgaris*) est l'une d'entre elles.

Sharkey et al. (2001) montrent que l'isoprène protège l'appareil photosynthétique de *Pueraria lobata* Wild. Ohwi contre l'effet des températures élevées. Pour cela ils utilisent un inhibiteur de sa synthèse, la fosmidomycine. Ils le fournissent par le courant transpiratoire, à la concentration de $4 \mu\text{M}$, à une feuille coupée le pétiole maintenu dans l'eau. En l'espace d'une heure la fosmidomycine bloque la synthèse d'isoprène, l'assimilation photosynthétique de CO_2 de la feuille (A) n'étant pas affectée durant plusieurs heures par ce traitement. L'inhibiteur est fourni à la feuille maintenue à 30°C.

Les auteurs mesurent l'inhibition de la photosynthèse produit par un passage de la feuille durant quelques minutes à 46°C en comparant, à 30°C, la valeur de A avant et après cet épisode à haute température.

Deux expériences témoins sont faites :

dans la première la feuille coupée n'est pas traitée à la fosmidomycine ;

dans la seconde elle est traitée avec de la fosmidomycine mais en même temps fumigée avec un air contenant 22 ppm d'isoprène.

Lorsque la synthèse d'isoprène a été bloquée, A est inhibée de 50% environ par l'épisode « haute température ». Chez les deux témoins l'inhibition n'est que de 10%. Les auteurs concluent que l'isoprène produit par la feuille la protège contre les fortes températures, et que l'isoprène exogène peut remplacer l'isoprène produit.

Ils confirment leur conclusion en réalisant le même type d'expérience sur des feuilles de Haricot (*P. vulgaris*). Ces feuilles ne produisent pas d'isoprène. Cependant leur activité photosynthétique est protégée des fortes températures si elles sont fumigées par un air contenant de l'isoprène. Ils montrent de plus qu'il y a une destruction des membranes cellulaires de place en place sur les feuilles qui n'ont pas été fumigées.

L'isoprène, discutent-ils, permettrait une stabilisation rapide des membranes chez les feuilles soumises à des augmentations brutales et de fortes amplitudes de la température. De fait l'on sait que la production d'isoprène augmente très rapidement chez les feuilles soumises à de telles variations et reste très élevées à fortes températures durant plusieurs minutes. Ce rôle de l'isoprène dans la stabilisation des membranes biologique à températures élevées est partagé par d'autres courtes chaînes d'hydrocarbure non saturées, puisqu'ils montrent, toujours avec le même type d'expériences, que le butadiène, le 1 butène, le *cis* 2-butène et l'éthylène sont aussi capables d'assurer ce rôle protecteur.

Récemment, Il a été montré que l'isoprène avait aussi un rôle d'antioxydant. Il protège les feuilles contre les effets de l'ozone et réduit la peroxydation des lipides chez les plantes soumises à des stress oxydatifs (Loreto et Velikova, 2001). Il peut donc protéger, comme les caroténoïdes, l'appareil photosynthétique des effets des fortes lumières (photoinhibition) en réagissant avec l'oxygène singulet formé sous l'action de la chlorophylle excitée (à l'état triplet). Il peut aussi réagir avec les radicaux OH qui se forment lorsque le peroxyde d'hydrogène est produit en trop grande quantité.

La majorité des plantes émettrices acquièrent la capacité de synthétiser l'isoprène assez tardivement dans la saison en tout état de cause toujours de quelques jours à quelques semaines après que la photosynthèse a atteint sa pleine capacité. Il est probable que plusieurs épisodes à températures élevées soient nécessaires. Ainsi dans le cas du *Pueraria lobata* étudié par Sharkey et al (2001) au moins 5 heures au-dessus de 30°C sont nécessaires pour déclencher la synthèse. De façon semblable, la capacité de synthèse d'isoprène augmente progressivement chez le bouleau soumis à des épisodes répétés à température élevée. La sécheresse également peut augmenter la capacité à produire de l'isoprène. Chez *Pueraria lobata* soumis à un stress hydrique, l'émission d'isoprène reste constant ou diminue légèrement tandis que A tend vers 0. Après réarrosage l'émission d'isoprène est bien plus élevée qu'avant la sécheresse alors que A revient à son niveau antérieur (Sharkey et Loreto, 1993). La synthèse d'isoprène paraît bien être une réponse de la plante aux contraintes de l'environnement.

b-Les heat-shock protéines (les HSPs) et autres protéines. La réponse à la chaleur se traduit par la production de protéines spécifiques que l'on appelle les « heat shock proteins » ou HSPs. Elles sont classées selon leur masse moléculaire (en kDa) et l'on distingue les HSP100s, les HSP90s, les HSP70s, les HSP60s et les

HSPs de faible masse moléculaire (entre 10 et 30 kDa). Les plantes sont caractérisées par une grande production de ces petites HSPs suivant une exposition à forte température. La plupart des HSPs fonctionnent comme des chaperones. Certaines Chaperones (HSP70s, HSP60s) permettent l'établissement correct de la structure tertiaire des protéines. Les protéines sont « dépliées » dans plusieurs occasions :

- (1) au moment où les ribosomes fabriquent les longues chaînes d'acides aminés ;
- (2) lorsque les protéines sont transférées d'un compartiment cellulaire à un autre ;
- (3) lorsque les conditions de l'environnement cellulaires sont telles que les interactions qui maintiennent la structure sont détruites (Chaleur, froid –voir ci-dessus- augmentation de la concentration saline et donc aussi contrainte hydrique, etc.).

Dans cette situation les différents éléments des chaînes polypeptidiques peuvent interagir entre eux, et former des constructions inefficaces, ou bien s'agréger à d'autres chaînes polypeptidiques également dépliées, et empêcher la formation des protéines actives.

Les chaperonnes agissent en formant un manchon autour des parties hydrophobes des chaînes ou en séquestrant la protéine naissante, lui permettant d'acquérir sa structure définitive à l'abri d'interactions cellulaires possibles. Des chaperonnes comme les HSP100s réactivent les protéines qui se sont agrégées. D'autres enfin activent la dégradation des protéines dont la structure finale ne s'est pas établie correctement. La plupart des HSP100-60s sont présentes dans la plante, même en l'absence de choc thermique. D'autres protéines, qui ne sont pas des HSPs sont aussi synthétisées à températures élevées.

La démonstration que les HSPs ont un rôle crucial dans la thermotolérance chez les plantes n'a été faite que dans quelques cas, en utilisant des plantes transgéniques, où certaines HSPs étaient sur-exprimées ou sous exprimées.

(1)-HSP101 et la thermotolérance chez *Arabidopsis thaliana*. Queitsch et al. (2000) montrent que l'altération dans l'expression HSP101 modifie la thermotolérance acquise et la tolérance intrinsèque. Des plantules d'*A. thaliana* non transformées ou transformées, sur-exprimant ou sous-exprimant la HSP101, sont exposées 2 heures à 45°C (température létale) avec ou sans un durcissement préalable à 38°C pendant 90 minutes.

Toutes les plantes (transformées ou non) sont tuées à 45°C, si elles n'ont pas été exposées préalablement à 38°C.

Après une exposition à 38°C, seules les plantes qui sous-expriment la protéine sont tuées à 45°C.

On voit donc que la HSP101 intervient bien dans l'acclimatation aux fortes chaleurs. Les auteurs notent prudemment que la sur-expression et la sous-expression de cette HSP ne modifie pas la croissance des plantules à température ordinaire (15-30°C). Enfin les graines de plantes sous exprimant la HSP101, contrairement aux graines des plantes sauvages et à celles des plantes sur-exprimant cette protéine, ne supportent plus les températures élevées durant leur germination.

(2)-Les HSPs de faibles poids moléculaires et la résistance de l'appareil photosynthétique à la chaleur. Les HSPs de faible masse moléculaire sont généralement produite en réponse à des contraintes thermiques, et ce, très rapidement, souvent en une ou deux heures.

Heckathorn et al. (1998) montrent directement que la HSP chloroplastique de faible masse moléculaire peut protéger l'activité thylacoïdienne des effets des fortes températures. Ces auteurs isolent des chloroplastes de jeunes plants de tomates cultivés à 25°C le jour et 18°C la nuit, les cassent, pour rendre accessible les thylacoïdes, et les mettent à incuber à 25°C ou 47°C. Dans cette dernière condition ils ajoutent ou non au milieu réactionnel la protéine isolée à raison d'une concentration estimée de 14 molécules par centre PSII, puis ils mesurent l'activité totale de la chaîne de transport d'électrons qu'ils comparent avec l'activité mesurée à 25°C. En l'absence de la HSP le transfert d'électrons est inhibé de 90% à 47°C, tandis qu'en sa présence l'inhibition n'est que de 23%. La HSP chloroplastique a donc protégé l'appareil photosynthétique. Dans le cas étudié, seule l'activité PSII est inhibée par les fortes températures. C'est donc l'activité PSII que la HSP protège. Les auteurs supposent que son action se fait au niveau du complexe oxydant l'eau.

Il est étonnant de voir que le transfert d'électrons mesuré sur des thylacoïdes à 47°C, fortement inhibé à cette température, est restauré très rapidement à une valeur voisine de celle que l'on mesure à 25°C lorsque l'on ajoute la HSP au milieu réactionnel : cela montre bien son efficacité (Fig-T25).

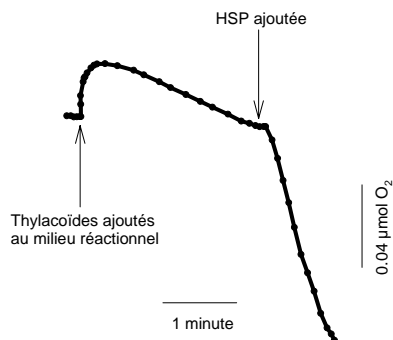


Fig-T25. Evolution, en fonction du temps, de la réduction de l'oxygène par des thylacoïdes isolés mis en présence de Méthyl viologène. Le flux d'électrons dans la chaîne photosynthétique est proportionnel à la vitesse de réduction de l'oxygène. Les thylacoïdes de plantes non-endurcies (ne présentant pas la HSP de faible masse moléculaire dans les chloroplastes), sont mis d'abord à 47°C. Le flux d'électrons qu'ils présentent est alors inhibé. Après deux ou 3 minutes dans cette situation, la HSP de faible masse moléculaire est ajoutée. Le flux d'électrons est rapidement restauré à une valeur proche de celle que l'on peut mesurer à 25°C sur des thylacoïdes extraits de feuilles similaires (d'après Heckathorn et al., 1998)

Cette observation est en accord avec des observations plus anciennes, comme celle faite par Park et al (1997), chez *Agrostis vulgaris*, et qui montrent que la résistance à la chaleur est corrélée à l'accroissement de cette HSP dans le chloroplaste. De fait Downs et al. (1998) montrent chez une grande variété de plantes incluant des C3, des C4, des CAM, des mono et des dicotylédones que la capacité à produire cette HSP de faible poids moléculaire lors d'un choc thermique, est corrélée à la capacité à tolérer la chaleur.

5-Interaction entre les fortes températures et la sécheresse. Fortes températures et contraintes hydriques sont souvent associées dans les conditions naturelles.

Comme le montre la Fig-T26 (Havaux, 1992) la déshydratation enduret les plantes contre les effets de la chaleur. Cet endureissement est considérable puisqu'il aboutit à une augmentation de 7°C de la température nécessaire pour obtenir 50% d'inhibition du rendement quantique maximum du PSII. Cet effet de la déshydratation est mal compris.

Havaux (1992) propose plusieurs pistes qui restent encore à explorer.

Certains auteurs ont vu que le manque d'eau pouvait entraîner un changement dans la composition des lipides des chloroplastes. Cette modification lipidique, si elle a lieu lorsque la résistance à la chaleur est accrue par la déshydratation, pourrait renforcer la stabilité du PSII à températures élevée.

Des chloroplastes placés à températures élevées sont partiellement ou complètement protégés lorsque l'on ajoute au milieu réactionnel des composés qui s'accumulent normalement durant une contrainte hydrique, comme des sucres simples et des protéines. En accord avec cette observation on sait que l'élévation expérimentale du potentiel osmotique de feuilles (par infiltration de solution contenant des sucres solubles) augmente la résistance aux températures élevées.

L'augmentation de la concentration en sels a également les mêmes effets protecteurs.

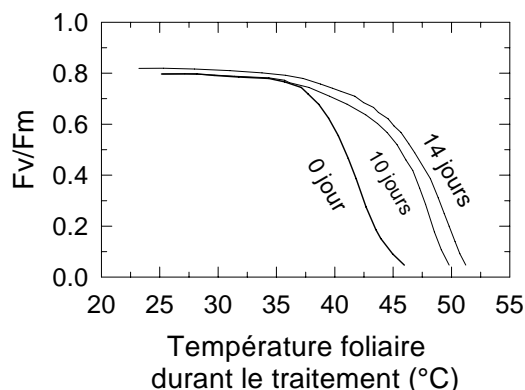


Fig-T26. Variation de F_v/F_m à l'obscurité en fonction de la température, mesurée sur des feuilles de pomme de terre avant (0 jour) et après 10 et 14 jours de sécheresse (arrêt de l'arrosage) (d'après Havaux 1992).

Plusieurs mécanismes peuvent donc potentiellement augmenter la stabilité des membranes aux fortes températures chez les plantes soumises à une sécheresse. Il est possible que certains d'entre eux soient opérationnels durant des déshydratations mêmes rapides, car l'une des conséquences de la déshydratation d'une feuille est l'augmentation de concentration de quelques uns des solutés qu'elle contient (cations en particuliers) comme simple résultat de la perte d'eau.

C-Un bref aperçu sur des milieux froids.

Dans cette section on montre que l'étude des plantes vivant dans des environnements extrêmes est toujours importante à prendre en considération, car elle permet d'aborder la variété des réponses physiologiques aux mêmes combinaisons de facteurs environnementaux contraignants. Les milieux alpin et antarctique sont des milieux contraignants. En effet on y observe une diminution de la variabilité végétale : seules quelques plantes peuvent vivre en haute altitude ou à proximité du pôle sud. Les solutions qu'elles ont trouvées pour s'adapter à ces milieux sont originales et pour beaucoup d'entre elles peu explorées.

1-Le milieu alpin et les plantes alpines. Lorsque l'on discute de la répartition des plantes, la zone alpine est définie comme la zone géographique qui se trouve au-dessus de la ligne des arbres dans les montagnes. Les plantes alpines sont donc des plantes qui vivent principalement ou exclusivement dans la zone alpine. La ligne des arbres indique un changement du climat local, caractérisé notamment par les températures basses.

Le milieu alpin se distingue par des températures basses liées à un éclaircissement fort riche en UV : il n'est pas rare d'enregistrer des éclaircissements de $1\ 500$ à $2\ 000\ \mu\text{mol m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$ avec des températures avoisinant les 5 à 10°C . Les plantes alpines sont donc dans des conditions où la production d'espèces actives d'oxygène est élevé. De telles conditions sont très souvent fatales pour les plantes de plaine. Le milieu alpin est aussi caractérisé par des changements rapides et imprévisibles des conditions climatiques (quelques jours de beaux temps peuvent être entrecoupés par des périodes de froid intense lié à des chutes de neige) et une courte saison de croissance. Enfin les sols sont souvent caillouteux, et contiennent une faible réserve en eau et les plantes qui les colonisent peuvent être rapidement soumises à une sécheresse.

Le milieu est dur et les plantes alpines ont développé des mécanismes qui leur permettent de faire face avec succès. La zone alpine, qui constitue 3% de la surface continentale et qui porte 4% des plantes terrestres connues, est certainement l'un « des laboratoires où la nature se montre la plus innovante » (Körner, 2001).

a-Les plantes alpines et les antioxydants. Par comparaison avec les plantes de plaine de nombreuses plantes alpines contiennent des teneurs élevées d'antioxydants (acide ascorbique, α -tocophérole, glutathion, carotène). De plus cette teneur augmente avec l'altitude où elles se trouvent. Par exemple, dans les alpes autrichiennes, 1 g de feuilles fraîches (non-déshydratées) de *Geum reptans* contiennent au total $300\ \mu\text{g}$ d'antioxydants à 2000 m et $1200\ \mu\text{g}$ à 3000 m (Wildi et Lütz, 1996). Plus grande est l'altitude et plus importante est la formation d'espèces actives de O_2 due au froid et aux fortes lumières additionnées d'UV. Ces mêmes auteurs remarque qu'en moyenne c'est l'accroissement de la quantité d'acide ascorbique avec l'élévation qui est la raison principale de cette plus forte teneur en antioxydants. Les teneurs relatives des différents oxydants varient beaucoup selon les plantes montrant la diversité des solutions trouvées pour se protéger d'un milieu oxydant.

Soldanella alpina que l'on trouve au-dessus de 2000 m est remarquable par la synthèse importante d'ascorbate qu'elle présente : c'est en fait la plante connue montrant une synthèse d'ascorbate la plus élevée. Elle peut le stocker en grande quantité (jusqu'à $1,2\text{mg/g}$ de matière fraîche), au point que ce composé devient, avec le saccharose, le composé carboné soluble majeur chez cette plante. Cette plante est de fait résistante aux fortes lumières et aux basses températures conjuguées. Elle résiste aussi très bien au stress oxydatif induit par une application de méthy-viologène (paraquat ; voir chapitre « Transfert d'électrons dans la membrane du thylacoïde).

A l'inverse *Ranunculus glacialis* qui pousse entre 2500 m et 4000 m, bien que très résistante aux fortes lumières et aux basses températures, ne présente pas de système classique de détoxication face aux espèces actives d'oxygène. Sa teneur en ascorbate est faible et elle se montre très sensible au stress oxydatif induit par le paraquat. Par contre, c'est actuellement la seule plante connue qui exprime en grande quantité une protéine (Ptox : plastid terminal oxidase) capable de prendre les électrons au niveau du pool des plastoquinones pour réduire l'oxygène. Cette protéine est impliquée dans une étape métabolique produisant la désaturation des caroténoïdes. Elle peut potentiellement contribuer au maintien de l'état oxydé du pool des plastoquinones et protéger le système photosynthétique de la photoinhibition.

Cette même renoncule renferme aussi une très grande quantité de malate (25 à 30% des composés solubles de la cellule foliaire), sans toutefois présenter pour cela un métabolisme de type CAM ou de type C4. La

synthèse de malate peut servir un rôle protecteur, en jouant le rôle d'une soupape par laquelle le trop-plein d'énergie captée par la plante se dissiperait (voir chapitre). Dans le cas de la renoncle des glaciers les rôles de la Ptox et de la synthèse du malate reste à démontrer. Mais le fait que le système antioxydant classique ne soit pas stimulé chez elle reste remarquable et montre bien la diversité des solutions trouvées pour affronter le même environnement.

b-Les plantes alpines et le turn over de D1. La photoinhibition se traduit par une disparition de D1 l'une des protéines qui forme le cœur du PSII (voir chap PSII). Le turn over de D1, chez les plantes cultivées et les plantes sauvages de plaine est très rapide et dépend du niveau de l'éclairement : lorsque sa vitesse de dégradation est supérieure à sa vitesse de synthèse le PSII est détruit. Chez les plantes alpines le turn over de D1 est considérablement plus faible que chez ces plantes (Shang et Feierabend, 1998). En accord avec cette observation, il est remarquable de constater que l'effet des fortes lumières n'augmente pas chez des feuilles de *Geum reptans* infiltrées de lincomicyne, un antibiotique qui empêche la synthèse des protéines dans les chloroplastes. Contrairement à la plupart des plantes le maintien d'une synthèse protéique active n'apparaît pas crucial dans le mécanisme de la photoinhibition.

Quel est le mécanisme derrière ce faible turn over ?

Les mêmes auteurs constatent que l'activité PSII mesurée sur des thylacoïdes isolés est inhibée à la même vitesse chez les plantes alpines et chez les plantes de plaine qu'ils étudient. Le faible turn over de D1 chez les plantes alpines est donc une propriété des feuilles intactes : la protéine D1 ne résiste pas plus aux stress que chez les plantes de plaine. La destruction de D1 se fait lors de la production d'espèces actives d'oxygène ou de radicaux oxydant au niveau des centres réactionnels sous forte lumière. Sa protection pourrait se faire grâce à un système de très efficace de détoxication luttant contre l'état oxydé dans son environnement, ou un système maintenant oxydé le pool des plastoquinones sous forte lumière ou enfin une capacité exceptionnelle de dissiper thermiquement l'énergie absorbée.

Soldanella alpina contient des quantités exceptionnelles d'ascorbate, qui pourrait jouer le rôle d'antioxydant, et des teneurs importantes en violanthéranthine et zéaxanthine, ce qui pourrait indiquer qu'elle possède une grande capacité de dissiper thermiquement l'énergie absorbée. *Homogyne alpina* et *Ranunculus glacialis* contiennent considérablement moins d'antioxydants et de caroténoïdes appartenant au cycle des xanthophylles. Néanmoins leur D1 est stable à la lumière. Il existe certainement d'autres mécanismes de protection qui restent à explorer.

2- La zone antarctique. Les zones polaires portent 99% des glaces présentes sur la terre. L'antarctique est le cas extrême. Seule, 2% de sa surface, comprenant la péninsule antarctique et les îles côtières associées, qui ne sont pas recouvertes en permanence de glace ou de neige, sont disponibles à la colonisation végétale. La température moyenne des mois d'été y est de 2.8°C tandis qu'en hiver les températures de -10 à -20°C y sont fréquentes. Les sols sont pauvres et formés d'éléments grossiers : leur réserve utile en eau est faible. Ce sont des permafrosts (sols gelés en permanence) qui se dégèlent en surface en été. On passe donc de la saturation en eau, à la belle saison, à une sécheresse physiologique en hiver (eau principalement sous forme de glace) où la neige forme un couvert protecteur. La durée des jours y est très importante pendant la saison de croissance, de 24 heures à l'intérieur du cercle polaire à 3 et 4 heures dans la péninsule antarctique. La densité de flux quantique, élevée en été, peut atteindre plus de 2000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; par contre en hiver elle est seulement de 50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ environ.

La flore antarctique ne comprend que deux phanérogames (plantes à fleurs) : une Poaceae, *Deschampsia antarctica* Desv. et une Caryophyllaceae, *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. Le reste est formé de 130 espèces de cryptogames composés de mousses, d'hépatiques et de lichens. Les deux plantes à fleurs se trouvent sur la côte et sur les îles proches. Elles se trouvent en population très peu dense dont les individus, épars, sont entourés des cryptogames. En hiver elles sont recouvertes de neige ce qui contribue à maintenir à leur niveau une température qui peut être de 15°C supérieure à la température de l'air ambiant. On ne les trouve pas à l'intérieur du continent. Les lichens en compagnie d'algues terrestres qui se développent sur et dans la neige se trouvent jusqu'au 86^{ème} degré sud, c'est à dire très proche du pôle.

La diversité des phanérogames augmente lorsque les conditions climatiques sont plus clémentes. Ainsi dans les îles Kerguelen on en trouve une quarantaine d'espèces environ appartenant aux phanérogames. Dans l'arctique, où les températures moyennes sont plus élevées leur diversité est également bien supérieure. Les conditions du milieu antarctique sont extrêmes et la plupart des génotypes n'y résistent pas.

a- Morphologie des phanérogames antarctiques. Ce sont des plantes qui forment des petites touffes dans leur environnement naturel limitant ainsi les effets du vent et les pertes d'eau. Elles ont des feuilles épaisses et de surface réduite, dont la densité stomatique est élevée. La cuticule est épaisse également. Tout rappelle le

port et la morphologie de plantes xérophytes. Cela reflète probablement à l'alimentation hydrique qui est très perturbée compte tenu des températures basses, des faibles précipitations et de la faible capacité de rétention en eau des sols.

D. antarctica a été particulièrement étudiée. Une coupe transversale de sa feuille montre deux gaines de cellules autour des vaisseaux vasculaires. La gaine périphérique est faite de cellules parenchymateuses qui contiennent de petits chloroplastes, seulement visibles au moyen d'un microscope électronique. On ne connaît rien sur l'activité de ces petits chloroplastes, et encore moins sur leur rôle. Les parois des cellules de la gaine interne sont très lignifiées et forment comme une barrière autour des vaisseaux conducteurs. L'ensemble se trouve dans un mésophylle pourvu de chloroplastes « normaux ». Cette disposition permet une grande économie de l'eau : *D. antarctica*, plante en C3, ne consomme qu'entre 100 et 150 moles d'eau pour l'assimilation d'une mole de CO₂. Ceci est à contraster avec les C3 de nos cultures qui en consomment entre 500 et 1500 moles par mole de CO₂ assimilée.

Lorsque *D. antarctica* est cultivée en conditions contrôlées, sous une densité de flux quantique de 180 μmol m⁻² s⁻¹ et à une température de 13 ± 1,8 °C les feuilles ne présentent plus la gaine périphérique. On peut déduire ainsi que les caractéristiques anatomiques de la feuille de *D. antarctica* ne correspond pas à une adaptation constitutive sélectionnée par l'environnement habituel de croissance mais bien une réponse plastique à cet environnement.

b- Croissance et photosynthèse. La croissance de ces plantes est la meilleure lorsque hautes et basses températures sont alternées. Souvent, les plantes cultivées à 20°C (durant le jour et la nuit) ou au-dessus de 20 °C ne survivent pas. L'effet létal des « hautes températures » durant croissance a été aussi observé chez une plante alpine, *Ranunculus glacialis*, que l'on ne trouve naturellement qu'au-dessus de 2500 m dans les alpes, et qui, par conséquent, subit des températures rigoureuses dans son environnement normal. Tant pour les phanérogames antarctiques que pour cette plante alpine, les bases physiologiques de cette réponse aux températures élevées ne sont pas comprises.

L'optimum thermique de la photosynthèse foliaire est situé dans les deux cas entre 10 et 15 °C et, dans les conditions naturelles, l'assimilation de CO₂ mesurée sur les touffes est négligeable voire nulle lorsque la température de l'air est élevée (environ 20°C), tandis qu'elle est forte par temps froid (température de l'air inférieure à 10°C). Chez ces deux plantes cultivées en conditions contrôlées, la photosynthèse de feuilles maintenues à 0°C demeure égale à 30% de la photosynthèse mesurées à l'oT. Xiong et al (2000) présentent une étude de la photosynthèse des feuilles de *C. quitensis* et *D. antarctica* cultivées sous la variation diurne/ nocturne de 7°C/7°C 12°C/7°C et 20°C/12°C. Ils constatent que les valeurs les plus faibles de A s'observent dans les deux cas sous l'alternance de culture 7°C/7°C et que L'oT de A augmente avec la température de croissance chez *C. quitensis* tandis qu'il ne varie pas chez *D. antarctica*. Les valeurs maximales de A sont situées entre 5 et 7 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹ et s'observe sous l'alternance 12°C/7°C et 20°C/7°C chez *C. quitensis* alors qu'elles ne sont atteintes que sous l'alternance 20°C/12°C chez *D. antarctica*. Les quelques lignes qui précèdent montre à l'évidence qu'on ne peut pas regarder l'adaptation d'une plante à une température sous le seul angle de la photosynthèse ! Sous une température de croissance similaire à ce qu'elles subissent dans les conditions normales A n'atteint que de faibles valeurs voisines de 2,5 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹ à des températures proches de l'optimum thermique. Ces valeurs sont très faibles. Par comparaison, les plantes alpines, même celles que l'on ne trouve qu'en haute altitude comme *Ranunculus glacialis* ont des valeurs de A similaires à nombre de plantes de plaines et cultivées.

c-Résistance aux températures inférieures à 0°C. Durant la saison de croissance dans l'environnement naturel que la TL₅₀ est de -27°C environ chez *D. antarctica* et de -5°C environ pour *C. quitensis*.

La TL₅₀ *D. antarctica* cultivée en conditions contrôlées passe de -12°C à -26,6°C après un durcissement aux basses températures. Dans le même temps, la température minimum atteinte durant un super-refroidissement passe de -5,3°C avant durcissement à -10,8°C après : clairement *D. antarctica* est résistante au gel.

La TL₅₀ de *C. quitensis* en conditions contrôlées est de -4,8°C avant durcissement au froid et de -5,8°C après. Elle ne peut donc s'acclimater aux températures basses. La température minimum atteinte chez cette plante pendant le super refroidissement est de -9,4°C et n'est pas modifiée par un durcissement. Cependant cette température est suffisante pour éviter l'effet des températures négatives durant la saison de croissance et pour résister pendant l'hiver sous le tapis de neige. *C. quitensis* évite donc les effets du gel

Dans un travail cité par Alberdi et al (2000)(Trivino,1998, thèse de l'Université Australe du Chili), un extrait de protéines est obtenu à partir de plants de *D. antarctica* prélevés dans leur environnement naturel. Il est mis en présence de thylacoïdes isolés de *Hordeum vulgare* (orge) et le tout gelé à -20 °C. Après plusieurs heures les thylacoïdes, remis à température normale, présentent 90% de l'activité initiale mesurée avant la congélation (par dégagement de O₂ en présence d'un réactif de Hill). Si l'on remplace, durant la congélation, l'extrait protéique de *D. antarctica* par la même concentration d'albumine issue du sérum de sang de bœuf, on ne

recupère que 60% de l'activité initiale. Les auteurs de cette expérience indiquent que la protection de l'extrait protéique de *D. antarctica* est équivalente à la protection exercée par une solution 250 mM de saccharose.

Récemment Doucet et al. (2000) montrent que des extraits de toutes les plantes et les lichens de provenance antarctique qu'ils examinent ont une activité antigél : c'est à dire empêchent la cristallisation de l'eau. On a vu que ce rôle est joué par les AFPs. Ils montrent aussi que les molécules protéiques impliquées dans cette activité antigél sont biochimiquement diverses. A titre de comparaison, seulement 25% des espèces végétales du Royaume Uni qui subissent l'hiver présentent, après les périodes de froid, cette propriété d'antigel.

IV-Résumé.

La Température affecte à court et à long terme la photosynthèse. Les plantes peuvent, à des degrés divers, s'acclimater à des changements de température de longue durée : dans tous les cas la température à laquelle on observe le maximum d'activité photosynthétique suit la température de croissance. L'acclimatation à de nouvelles conditions thermiques peut provoquer néanmoins chez certaines plantes une baisse de la photosynthèse à toutes les températures. Le flux d'électrons mesuré in vitro sur des thylacoïdes isolés a un optimum thermique identique à celui de l'activité PSII. Par contre, l'activité PSI est peu sensible à des températures aussi élevées que 40/45°C. La baisse de l'assimilation de CO₂ par une feuille (A) aux fortes températures est principalement le résultat d'une inactivation du transfert linéaire d'électrons entraînant une baisse d'activité de la rubisco *via* une désactivation de l'isoforme de la rubisco activase sensible à l'état rédox du stroma. L'inhibition de A aux températures basses serait produite par une inhibition de la synthèse de saccharose qui provoquerait une diminution de la disponibilité en phosphate inorganique dans les chloroplastes : le résultat étant une diminution de la synthèse d'ATP. Ces phénomènes se superposent évidemment à l'action bien connue que joue la température sur les réactions enzymatiques.

Les plantes résistent au gel principalement grâce au processus surfusion de l'eau : en effet chez certaines espèces ligneuses nordiques l'eau peut être encore à l'état liquide lorsque la température ambiante est aussi basse que 30 à 35°C. Les plantes peuvent s'acclimater au froid en changeant leur composition lipidique, en accumulant des solutés divers comme des hexoses, de la proline etc... et en synthétisant des protéines nouvelles dont les fonctions commencent à être explorées. Résistance au gel et résistance à la déshydratation sont liées. Les températures élevées désorganisent le PSII et diminuent, voire inhibent complètement, l'activation de la rubisco. Elles déclenchent la synthèse de nouvelles protéines dont on sait que certaines peuvent protéger la plante des effets négatifs qu'elles exercent. Elles mettent aussi en route une synthèse d'isoprène chez beaucoup de plantes. Cette synthèse a un effet protecteur encore mal compris. Le chapitre se termine par un bref survol de la vie végétale en milieu alpin et en antarctique.

V-Références

- Artus N, Uemera M, Steponkus PL, Gilmour SJ, Lin C, Thomashow MF (1996) Constitutive expression of the cold-regulated Arabidopsis thaliana *COR15a* gene affects both chloroplast and protoplast freezing tolerance. Proc Natl. Acad. Sci. USA. 93, 13404-13409
- Alberdi M, Bravo LA, Gutiérrez A, Gidekel M, Corcuera J (2002) Ecophysiology of Antarctic vascular plants. Physiol. plant. 115, 479-493
- Ball MC, Wolfe J, Canny M, Hofmann M, Nicotra AB, Hughes D (2002) Space and time dependence of temperature and freezing in evergreen leaves. Funct Plant Biol. 29, 1259-1272
- Berry J, Björkman O (1980) Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. Ann. Rev. Plant Physiol. 31, 491-543
- Breckel S-W (1999) Walter's vegetation of the earth. The ecological systems of the Geo-biosphere. Springer, Berlin
- Browse J, Xin Z (2001) Temperature sensing and cold acclimation. Current Opinion in plant biology. 4, 241-246
- Burke MJ, Gusta LV, Quamm HA, Weiser CJ, Li PH (1976) Freezing and injury in plants. Annu. Rev. Plant Physiol., 27, 507-528

- Chen, H-H, Li, PH, and Brenner, ML (1983) Involvement of abscisic acid in potato cold acclimation. *Plant Physiol.* 71, 362–365
- Cornic G, Miginiac E (1983) Nonstomatal inhibition of Net CO₂ uptake by (±) Abscisic Acid in *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiol.* 73, 529-533
- Cornic G, Badeck F-W, Ghashghaie J, Manuel N (1999). Effect of temperature on net CO₂ uptake, stomatal conductance for CO₂ and quantum yield of photosystem II photochemistry of dehydrated pea leaves. In Sanchez-Dias M, Irigoyen JJ, Aguirreolea J, Pithan K (eds) crop development for cool and wet regions of Europe. European community. ISBN 92-828-6947-4.
- Crafts-Brandner SJ, Salvucci ME (2000) Rubisco activase constrains the photosynthetic potential of leaves at high temperature and CO₂. *PNAS* 97, 13430-13435
- Crafts-Brandner SJ, Salvucci ME (2002) Sensitivity of photosynthesis in C₄ plant, maize, to heat stress. *Plant Physiol.* 129, 1773-1780
- Doucet CJ, Byass, L, Elias L, Worrall D, Smallwood M, Bowles DJ (2000) Distribution and characterization of recrystallization inhibitor activity in plant and lichen species from the UK and maritime Antarctica. *Cryobiology* 40, 218-227
- Downs CA, Heckathorn SA, Bryan JK, Coleman JS (1998) The methionine-rich low-molecular-weight chloroplast heat-shock protein: evolutionary conservation and accumulation in relation to thermotolerance. *Am. J. Bot.* 85, 175-183
- Edwards GE, Nakamoto H, Burnell JN, Hatch MD. (1985) Pyruvate, P_i dikinase and NADP-malate dehydrogenase in C-4 photosynthesis –properties and mechanism of light dark regulation. *Annual Review of plant physiology and plant molecular biology.* 36, 255-286
- Gilmour SJ, Sebolt AM, Salazar MP, Everard JD, Thomashow MT (2000) Overexpression of the Arabidopsis *CBF3* transcriptional activator mimics multiple biochemical changes. *Plant Physiol.* 124, 1854-1865
- Guy, CL (2003) Freezing tolerance of plants: current understanding and selected emerging concepts. *Can. J. Bot.* 81, 1216-1223
- Hannah MA, Wiesel D, Freund S, Fiehn O, Heyer AG, Hinch DK (2006) Natural Genetic Variation of freezing Tolerance in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 142, 98–112
- Havaux M (1992) Stress tolerance of photosystem II in vivo. Antagonistic effects of water, heat and photoinhibition stresses. *Plant Physiol.* 100, 424-432
- Havaux M (1993) Rapid photosynthetic adaptation to heat stress triggered in potato leaves by moderately elevated temperatures. *Plant Cell and Environment* 16, 461-467
- Havaux M, Tardy F (1996) Temperature-dependent adjustment of the thermal stability of photosystem II in vivo: possible involvement of xanthophylls-cycle pigments. *Planta* 198, 324-333
- Havaux M, Tardy F, Ravenel J, Chanu D, Parot P (1996) Thylakoid membrane stability to heat stress studied by flash spectroscopic measurements of the electrochromic shift in intact potato leaves: influence of the xanthophylls content. *Plant Cell and Environment* 19, 1359-1368
- Heckathorn SA, Downs CA, Sharkey TD, Coleman JS (1998) The small, methionine-rich chloroplast heat-shock protein protects photosystem II electron transport during heat stress. *Plant Physiol.* 116, 439-444
- Hurry V, Stand A, Furbank, Stitt M (2000) The role of inorganic phosphate in the development of freezing tolerance and the acclimatization of photosynthesis to low temperature is revealed by the *pho* mutants of Arabidopsis thaliana. *The plant Journal.* 24, 383-396
- Ishitani, M., Xiong, L. M., Stevenson, B. & Zhu, J. K. (1997) Genetic analysis of osmotic and cold stress signal transduction in *Arabidopsis*: interactions and convergence of abscisic acid-dependent and abscisic acid-independent pathways. *Plant Cell* 9, 1935–1949.
- Ito K, Ito T, Onda Y, Uemura M (2004) Temperature-Triggered Periodical Thermogenic Oscillations in Skunk Cabbage (*Symplocarpus foetidus*). *Plant Cell Physiol.* 45, 257–264

- Ito K, Onda Y, Sato, T, Abe Y et Uemura M (2003) Structural requirements for the perception of ambient temperature signals in Homeothermic heat production of skunk cabbage (*Symplocarpus foetidus*). *Plant, Cell and Environment*. 26, 783-788
- Ito K (1999) Isolation of two distinct cold-inducible cDNAs encoding plant uncoupling proteins from the spadix of skunk cabbage (*Symplocarpus foetidus*). *Plant Science*, 149, 167–173
- Iwanoff L (1928) Zur Methodik der Transpirations-bestimmung am Standort. *Berichte Deutsche Botanische Gesellschaft* 46, 306–310
- Jordan DB, Ogren WL (1984) The CO₂/O₂ specificity of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. Dependence on ribulosebisphosphate concentration, pH and temperature. *Planta* 161, 308-313
- Kaiser WM (1979) Reversible inhibition of the Calvin cycle and activation of oxidative pentose cycle in isolated chloroplasts by hydrogen peroxide. *Planta* 145, 377-382
- Körner C (1999) *Alpine plant life. Functional plant ecology of high mountain ecosystems*. Springer, Berlin. 339 pages
- Labate CA, Leegood RC (1988) Limitation of photosynthesis by changes in temperature. Factors affecting the response of carbon-dioxide assimilation to temperature in barley leaves. *Planta*, 173, 519-527
- Labate CA, Adcock MD, Leegood RC (1990) Effect of temperature on photosynthetic carbon assimilation and contents of photosynthetic intermediates in leaves of maize and barley. *Planta* 181, 547-554
- Larkindale J, Knight MR (2002) Protection against heat stress-induced oxidative damage in Arabidopsis involves calcium, Abscisic acid, ethylene, and salicylic acid. *Plant Physiol.* 128, 682-695
- Law DR, Crafts-Brandner SJ (1999) Inhibition and acclimation of photosynthesis to heat stress is closely correlated with activation of Ribulose-1,5-Bisphosphate carboxylase/oxygenase. *Plant Physiol.*, 120, 173-181
- Lobell DB, Asner G (2003) Climate and management contributions to recent trends in U.S. agriculture yields. *Science*, 299, 1032
- Loreto F, Velikova V (2001) Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone production and reduces lipid peroxidation of cellular membranes. *Plant Physiol* 127, 1781-1787
- Lundheim R (1997) Ice nucleation in seaweeds in relation to vertical zonation. *J. Phycol.* 33, 739-742
- Lundheim R (2002) Physiological and ecological significance of biological ice nucleators. *Phil. Trans. R. Soc. Lon. B* 357, 937-943
- Meeuse BJD (1975) Thermogenic respiration in Aroids. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 26:117-26
- Murakani Y, Tsuyama M, Kobayashi Y, Kodama H, Iba K (2000) Trienoic fatty acid and plant tolerance of high temperature. *Science*. 287, 476-479
- Murata N, Los DA (1997) Membrane fluidity and temperature perception *Plant Physiol.* 115, 875-879
- Nagao M, Minami A, Arakawa K, Fujikawa S, Takezawa D (2005) Rapid degradation of starch in chloroplasts and concomitant accumulation of soluble sugars associated with ABA-induced freezing tolerance in the moss *Physcomitrella patens*. *Journal of Plant Physiology* 162 (2005) 169—180
- Nishida I., Murata N (1996) Chilling sensitivity in plants and cyanobacteria. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 47, 541-568
- Örvar BL, Sanwan V, Omann F, Dhinsa S (2000) Early steps in cold sensing by plant cells: the role of actin cytoskeleton and membrane fluidity. *The plant Journal*. 23, 785-794
- Park S Y, Shivaji R, Krans JV, Luthe D S (1996) Heat-Shock Response in Heat-Tolerant and Nontolerant Variants of *Agrostis palustris* Huds *Plant Physiol.* 111, 515-524
- Queitsch C, Hong S-W, Vierling E, Lindquist S (2000) Heat shock protein 101 plays a crucial role in thermotolerance in Arabidopsis. *The plant Cell*. 12, 479-492
- Rada F, Goldstein G, Azocar A, Torres F (1987) supercooling along an altitudinal gradient in *Espeletia schulzii*, a caulescent giant rosette species. *J Exp Bot.* 39, 491-497

- Routaboul J-M, Fisher SF, Browse J (2000) Trienoic fatty acids are required to maintain chloroplast function at low temperatures. *Plant Physiol.* 124, 1697-1705
- Rokka A, Aro E-M, Hermann RG, Andersson B, Verner A (2000) Dephosphorylation of photosystem II reaction center proteins in plant photosynthetic membranes as an immediate response to abrupt elevation of temperature. *Plant Physiol.* 123, 1525-1535
- Rasmusson AG, Soole KL, Elthon TE (2004) Alternative NAD(P)H Déshydrogénases of plant mitochondria. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55:23–39
- Rütten D, Santarius KA. Seasonal variation in frost tolerance and sugar content of two *Plagiomnium* species. *Bryologist* 993;96:564–8.
- Seymour RS (2001) Biophysics and physiology of temperature regulation in thermogenic flowers. *Bioscience Reports*, 21, 223-236
- Seymour RS, Blaylock AJ (1999) Switching off the heater: influence of ambient temperature on thermoregulation by eastern skunk cabbage *Symplocarpus foetidus*. *J. Exp. Bot.* 50,1525-1532
- Shang W, Feierabend J (1998) Slow turnover of the D1 reaction center protein of photosystem II in leaves of high mountain plants. *FEBS letters* 425, 97-100
- Sharkey TD, Loreto F (1993) Water stress, temperature and light effects on the capacity for isoprene emission and photosynthesis of Kudzu leaves. *Oecologia* 95, 328-333
- Sharkey TD, Chen X, Yeh S (2001) Isoprene increases thermotolerance of fosmidomycin-fed leaves. *Plant Physiol.* 125, 2001-2006
- Sharkey TD, Badger MR, von Caemmerer, S, Andrews TJ (2001) Increased heat sensitivity of photosynthesis in tobacco plants with reduced Rubisco activase. *Photosynthesis Research* 67, 147-156
- Schreiber U, Berry JA (1977) Heat-induced changes of chlorophyll fluorescence in intact leaves, correlated with damage of the photosynthetic apparatus. *Planta* 136, 233-238
- Smallwood M, Worrall D, Byass L, Ellas L, Ashford D, Doucet CJ, Holt C, Telford J, Lillford P, Bowles DJ (1999) Isolation and characterization of a novel antifreeze protein from carrot (*Daucus carota*). *Biochem. J.* 340, 385 - 391
- Stidham MA, Uribe EG, Williams III GJ (1982) Temperature dependence of photosynthesis in *Agropyron smithii* Rydb. II Contribution from electron transport and photophosphorylation. *Plant Physiol.* 69, 929-934
- Stitt M, Grosse H (1988) Interactions between sucrose synthesis and CO₂ fixation. IV. Temperature-dependent adjustment of the relation between sucrose synthesis and CO₂ fixation. *J. Plant Physiol.* 133, 392-400
- Strand A, Hurry V, Henkes S, Huner N, Gustafson P, Gardeström P, Stitt M (1999) Acclimation of Arabidopsis leaves developing at low temperatures. Increasing cytoplasmic volume accompanies increased activities of enzymes in calvin cycle and in the sucrose-biosynthesis pathway. *Plant Physiol.* 119, 1387-1397
- Tewari AK, Tripathy BC (1998) Temperature stress induced impairment of chlorophyll biosynthetic reactions in cucumber and wheat. *Plant Physiol.* 117, 851-858
- Thomashow MF (1998) role of cold responsive genes in plant freezing tolerance. *Plant Physiol.* 118, 1-7
- Wanner LA, Junttila O (1999) Cold induced freezing tolerance in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 120, 391-399
- Weis E, Berry JA (1988) Plants and high temperature stress. In: Long SP and Woodward FI (eds) *Plants and temperature*, pp 329-346. Company of Biologists, Cambridge
- Wildi B, Lütz C (1996) Antioxidant composition of selected high alpine species from different altitudes. *Plant, Cell and Environment* 19, 138-146
- Wise RR, Naylor AW (1986) Chilling-enhanced photooxidation: the peroxidative destruction of lipids during injury to photosynthesis and ultrastructure. *Plant Physiol.* 83, 272-277
- Xiong FS, Ruhland CT, Day TA (2000) Photosynthetic response of antarctic vascular plants *Colobanthus quitensis* and *Deschampsia antarctica*. *Physiol plant.* 106, 276-286

Xin Z, Browse J (1998) eskimo1 mutants of Arabidopsis are constitutively freezing-tolerant. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 7799-7804

Yamasaki T, Yamakawa T, Yamane Y, Koike H, Satoh K, Katoh S (2002) Temperature acclimation of photosynthesis and related changes in photosystem II electron transport in Winter Wheat. Plant Physiol. 128, 1087-1097

Yeh S, Moffatt BA, Griffith M, Xiong F, Yang DSC, Wiseman SB, Sarhan F, Danyluk J, Xue, Hew CL, Doherty-Kirby A, Lajoie G (2000) Chitinase Genes Responsive to Cold Encode Antifreeze Proteins in Winter Cereals. Plant Physiology, November 2000, Vol. 124, pp. 1251–1263

Zhang N, Portis AR Jr (1999) Mechanism of light regulation of Rubisco : a specific role for the larger Rubisco activase isoform involving reductive activation by thioredoxin-f. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. 96, 9438-9443.