Flux d'eau dans la plante

Lusignan 28-29 mars 2002

Groupe xylème et croissance



Photo couverture : S. Hales, 1727. Vegetable staticks



Flux d'eau dans la plante

Lusignan 28-29 mars 2002

Groupe xylème et croissance

Jeudi 28 mars

- 14h30 : Accueil des participants, programme, etc... (JL Durand)
- 15h00 : Origines de l'eau dans le SPAC; apport de la méthodologie isotopique (P Biron)
- 15h30 : Perspectives de recherche sur la résistance à la circulation de l'eau dans la plante (H Cochard)
- 16h00 : Café
- 16h30 : Mycorhization, sécheresse et conductance hydraulique racinaire (MB Triboulot).
- 17h00 : Effets de 3 régimes lumineux sur l'architecture hydraulique de jeunes plants de chênes et de frênes (T Barigah)
- 17h30 : Some recent breakthroughs and future of hydraulics in plants (M Tyree)
- 18h00 : Débat général sur l'hydraulique (H Cochard)

20h00 : Dîner

vendredi 29 mars

- 09h00 : Variabilité génétique du volume de xylème dans une tige de luzerne (B Julier)
- 09h45 : Relation hydriques et aquaporines chez *Arabidopsis thaliana* (V Lauvergeat)

10h30 : Café

- 11h00 : La réponse de la croissance foliaire du maïs au VPD (O Bouchabké)
- 11h45 : Une expérience de John Boyer sur la pression et le gradient de potentiel dans un organe en croissance (JL Durand)

12h30 : Déjeuner

14h00-16h00 : Visite de diverses installations de Lusignan



Participants

Prénom	Nom	Dép.	Centre	Unité	email
Têté	Barigah	FMN	Nancy	Ecologie et écophysiologie forestières	barigah@nancy.inra.fr
Claudel	Berthet	FMN	Nancy	Ecologie et écophysiologie forestières	
Philippe	Biron	CNRS	Grignon	EGER	biron@grignon.inra.fr
Oumaya	Bouchabke	EA	Montpellier	LEPSE	bouchabk@ensam.inra.fr
Sandra	Charesse	EA	Clermont Ferrand	PIAF	
Hervé	Cochard	FMN	Clermont	PIAF	cochard@clermont.inra.fr
Pierre	Cruiziat	EA	Clermont Ferrand	PIAF	pierre.cruiziat@clermont.inra.fr
Jean-Louis	Durand	EA	Poitou-Charentes	UEPF	jldurand@lusignan.inra.fr
Abraham	Escobar	EA	Poitou-Charentes	UEPF	escobar@lusignan.inra.fr
Françoise	Guines	GAP	Poitou-Charentes	UGAPF	
Thrawat	lbrahim	FMN	Nancy	Ecologie et écophysiologie forestières	ibrahim@nancy.inra.fr
Bernadette	Julier	GAP	Poitou-Charentes	UGAPF	julier@lusignan.inra.fr
Virginie	Lauvergeat	GAP	Poitou-Charentes	UGAPF	virginie.lauvergeat@bordeaux.in
Gilles	Lemaire	EA	Poitou-Charentes	UEPF	lemaire@lusignan.inra.fr
Rémi	Lemoine	Univ- Poitiers		URA	remi.lemoine@univ-poitiers.fr
Bruno	Moulia	EA	Poitou-Charentes	UEPF	moulia@lusignan.inra.fr
Isabelle	Poggi-Limongi	EA	Corse	INRA-CIRAD	poggi@corse.inra.fr
Thierry	Simonneau	EA	Montpellier	LEPSE	simonnea@ensam.inra.fr
Marie-Béatrice	Triboulot	FMN	Nancy	Ecologie et écophysiologie forestières	triboulo@nancy.inra.fr
Melvin	Tyree	USDA Forest Service	Vermont, USA	iorestieres	mtyree@fs.fed.us

Sommaire

Participants
Sommaire
Avant-propos
Origine de l'eau dans le continuum Sol-Plante-Atmosphère : apport de la biogéochimie isotopique (P. Biron et T. Bariac)
Perspectives de recherches en matière d'architecture hydraulique (H. Cochard)23
Effets interactifs de la mycorhization et de la sécheresse sur la conductance hydraulique racinaire du pin maritime (M.B. Bogeat-Triboulot, F. Bartoli et D. Tagu)
Impacts du conditionnement en lumière sur la croissance et l'architecture hydraulique de semis de frêne et de chêne en régénération (T. Barigah, A. Bogard et E. Dreyer)
Is Cavitation Important to the Ecophysiology of Plants ? (M. Tyree)
Variabilité génétique de la structure histologique des tiges de luzerne (F. Guines et B. Julier) 75
Réponse de la croissance foliaire du maïs aux déficits hydriques édaphique et atmosphérique. Rôle de la turgescence dans les tissus en croissance et variabilité génétique (O. Bouchakbé, G. Rolland, P. Hamard, F. Tardieu et T. Simonneau)
Une expérience de John Boyer sur la pression et le gradient de potentiel dans un organe en croissance (J.L. Durand)

Avant-propos

Les textes qui suivent résument les interventions des participants à l'atelier xylème, eau et croissance qui s'est déroulé à Lusignan les 28 et 29 mars 2002. C'était la troisième réunion d'un groupe informel de collègues chercheurs qui travaillent sur les problématiques liées à la circulation de l'eau dans les plantes et à son impact sur la croissance du végétal. Elle a été organisée par l'Unité d'Ecophysiologie des Plantes Fourragères de l'INRA Lusignan. Les frais de séjour étaient à la charge de chaque participant et l'UEPF a pris en charge l'élaboration et la diffusion de ce compte-rendu.

Ce fut l'occasion de visiter les installations de Lusignan et en particulier une expérimentation consacrée à l'évaluation d'une méthode de mesure de la profondeur d'extraction d'eau par des graminées isolées, en pépinière, à laquelle travaillent certains participants du groupe.

La préparation pratique de la réunion et l'édition de ce compte-rendu ont été assurées par Claude Cantot, et Jean-Louis Durand.

Résumés des interventions

Origine de l'eau dans le continuum Sol-Plante-Atmosphère : apport de la biogéochimie isotopique

Philippe Biron & Thierry Bariac

LBI EGER

78850 GRIGNON

1. INTRODUCTION (transparent 1)

Le deutérium et l'oxygène 18 sont des marqueurs intrinsèques de la molécule d'eau dont les abondances naturelles varient d'une manière importante en fonction de l'origine et de l'histoire de l'eau depuis la genèse des précipitations jusqu'aux processus d'évapotranspiration.

De plus en plus, les modélisations hydrométéorologiques et écophysiologiques s'attachent à prendre en compte les interactions entre biosphère et atmosphère. Ces interactions peuvent être abordées à travers l'analyse des signatures isotopiques de l'eau dans le continuum Sol-Plante-Atmosphère et forment le sujet de cette présentation.



2. EFFET DE CONTINENTALITÉ (transparent 2)

La nécessité de mieux prendre en compte les interactions Biosphère-Atmosphère a été démontrée par Rozanski et *al.* (1982) au niveau de la composition isotopique des précipitations. Pour ce faire, il a analysé leur composition isotopique le long d'un transect W-E depuis l'Irlande jusqu'à l'Autriche. Il montre alors qu'il y a un effet de continentalité qui se manifeste en hiver, par un appauvrissement isotopique le long de ce transect (transparent 2,

figure de gauche). Les précipitations en Autriche sont beaucoup plus appauvries en isotopes lourds que celles recueillies en Irlande. Cet appauvrissement peut être très bien simulé avec un modèle de vidange d'un réservoir de vapeur. En hiver, le modèle simule bien les mesures. En été, il en va tout autrement ; modèle et mesures divergent largement (transparent 2, droite). Le modèle ne permet plus de reproduire la réalité des observations le long d'un transect W-E à moins de prendre en compte le recyclage d'une vapeur d'eau continentale. Durant l'été, cette vapeur d'eau locale ne peut être produite que par l'évapotranspiration des végétaux et doit par conséquent avoir une composition isotopique plus élevée que celle de la vapeur océanique.

3. CYCLE ISOTOPIQUE DE L'EAU (transparent 3, d'après Bariac et al., 1987)



L'analyse du cycle isotopique de l'eau montre comment la vapeur issue de la transpiration des végétaux influence la vapeur d'origine océanique. Ainsi, suivant l'exemple du transparent 3, la vapeur atmosphérique d'origine océanique dont la composition en ¹⁸O est de -13 % donne naissance à des pluies plus concentrées en isotopes lourds à -3 %. Ces pluies s'infiltrent dans le sol où elles se concentrent à nouveau en isotopes lourds du fait de l'évaporation. Elles passent ici à -1%. L'absorption de l'eau par la plante ne provoque pas de fractionnement isotopique si bien qu'à l'état stationnaire, la signature isotopique de la vapeur transpirée devient identique à celle de l'eau prélevée par les racines. Au final, cette vapeur à -1% issue de la transpiration des végétaux est beaucoup plus enrichie que la vapeur océanique d'origine à -13 %.

4. MODÈLE DE LA TRANSPIRATION DE CRAIG ET GORDON (1965 ; transparent 4)

Quels sont les processus isotopiques impliqués au niveau de la transpiration des végétaux ?

Le modèle de Craig et Gordon (1965) permet de décrire et simuler l'évolution de la composition isotopique dans les phases liquide et gazeuse d'un réservoir d'eau foliaire soumis à l'évaporation.(Bariac, 1988 ; Cayet, 2001). Ce modèle repose sur un certain nombre d'hypothèses : absence de fractionnement isotopique au cours de l'absorption racinaire , plante en régime hydrique permanent





Le modèle montre qu'à partir d'un état isotopique initial δ Lo (eau du réservoir avant évaporation) se développe un certain nombre d'états transitoires de plus en plus enrichis en

isotopes lourds du fait de la transpiration. Ces états sont suivis d'un état stationnaire à partir

duquel la signature n'évolue plus dans le temps. On pourra également noter que la vapeur transpirée est plus appauvrie en isotopes lourds par rapport à la phase liquide du réservoir foliaire.

Le fait remarquable est qu'à l'état stationnaire, on a une identité entre la composition isotopique initiale du signal d'entrée et celle de la vapeur transpirée. On a une identité entrée sortie du système:

$$\delta_{\mathrm{L}}^{\mathrm{t}} \cong \delta_{\mathrm{L}}^{\mathrm{s}} - (\delta_{\mathrm{L}}^{\mathrm{s}} - \delta_{\mathrm{L}}^{0}) \,\mathrm{e}^{\left[-\frac{\tau_{\mathrm{F}}}{(1-h)}(\mathrm{t} - \mathrm{t}_{0})\right]}$$

5. LE RÉACTEUR BIOGÉOCHIMIQUE RUBIC (transparent 5)

Pour tester ces hypothèses et valider le modèle de la transpiration, nous avons développé au laboratoire dispositif un expérimental : le réacteur biogéochimique RUBIC (cf Roche, 1999; Cayet, 2001). Celui-ci permet l'étude en conditions contrôlées des interactions entre la partie aérienne de la plante et le milieu environnant. En effet, cette étude ne peut pas se directement dans faire l'atmosphère générale du fait de la dilution instantanée de la vapeur transpirée dans une vapeur d'origine multisources.

Le réacteur RUBIC nous permet d'avoir accès à la composition isotopique du signal d'entrée, ici la solution nutritive ainsi qu'à la vapeur transpirée sans qu'il y ait de contamination exogène du signal.



6. RÉSULTATS RUBIC (transparent 6)



Le transparent 6 présente deux courbes expérimentales obtenues en conditions contrôlées et en solution hydroponique à l'aide du réacteur RUBIC pour deux plantes soumises à des contraintes hydriques contrastées.

Lorsque la plante est en conditions hydriques optimales (ψ s = -0.25 MPa), on constate que la signature isotopique de la vapeur transpirée atteint très vite l'état stationnaire suivant le modèle de Craig et Gordon que nous avons vu précédemment. En moins de deux heures, l'état stationnaire isotopique est atteint avec une identité entre les signaux d'entrée et de sortie de la plante. Autrement dit la composition isotopique de la vapeur devient identique à celle de la solution nutritive.

Par contre, pour une contrainte hydrique de -1,5 MPa, signature isotopique de la vapeur

transpirée met plus de dix heures pour atteindre l'état stationnaire du fait du faible taux de renouvellement du réservoir foliaire.

Il s'agit donc là de cas de figures qu'il serait très difficile de mettre en évidence sans le recours au milieu contrôlé.

7. LIENS ENTRE PROBLÉMATIQUES (transparent 7)

Le modèle de Craig et Gordon de la transpiration est intéressant à plusieurs titres car il permet de faire le lien entre différentes problématiques et de mieux interpréter les signatures isotopiques de l'eau au sein du continuum Sol-Plante-Atmosphère.

Tout d'abord avec la problématique de l'élaboration du signal de l'eau dans le sol depuis le partage des précipitations entre infiltration et évaporation (élaboration du signal rhizosphérique) puis celle de l'élaboration du signal d'entrée dans la plante.

La troisième problématique est celle de l'étude des compartimentations lors du trajet de la tige au pétiole de la feuille pour analyser quelle est l'influence du retour de phloème sur le signal isotopique.

La quatrième problématique est celle qui concerne le modèle de Craig et Gordon proprement dit au niveau des sites transpiratoires qui permet par exemple d'analyser la cinétique d'évolution de la signature isotopique en fonction du taux de renouvellement du réservoir foliaire ou de suivre l'évolution de la signature le long d'une feuille.

La dernière problématique est celle du recyclage de la vapeur transpirée dans la vapeur générale de la masse d'air. Elle concerne par conséquent la spécificité de la signature isotopique de la vapeur transpirée et les interactions Biosphère-Atmosphère.

8. GRADIENT ISOTOPIQUE DANS LA PLANTE (transparent 8, d'après Bariac et al., 1994)



Tout ceci concourt à ce qu'il s'établisse un gradient de teneurs isotopiques entre les racines (ici aux environs de -7 %) et les parties foliaires où elles atteignent leurs valeurs maximales (à +18 ‰). On peut donc se demander dans quel organe représentatif s'élabore le signal d'entrée dans la plante. Les parties aériennes sont marquées par le processus de la transpiration. Par contre au niveau du collet, toute l'eau prélevée par les racines doit nécessairement transiter. Le collet peut donc être considérée comme la région représentative où s'élabore le signal d'entrée dans la plante.



9. CINÉTIQUE DU COLLET EN CONDITIONS NATURELLES (transparent 9)

A titre d'exemple, le transparent 9 présente les évolutions simultanées de l'humidité pondérale et de la composition en ¹⁸O dans un profil de sol sous un champ de blé soumis à forte évaporation à Marrakech.

Le profil d'évaporation est bien marqué avec un fort dessèchement en surface et de l'eau disponible en profondeur. Cela se traduit par un enrichissement isotopique qui va en s'accentuant vers la surface du fait de la concentration en isotopes lourds de la phase liquide résiduelle.

L'analyse de la cinétique d'évolution de l'eau du collet des plants de blé montre l'établissement d'un chevron caractéristique au cours de la journée vers 14-15 heures. La composition diminue au cours de la journée puis tend à revenir à son état initial au cours de la nuit. Celui-ci peut être interprété par une modification de la quantité d'eau prélevée à différentes profondeurs dans le sol. Lorsque la transpiration est élevée et que la disponibilité hydrique du sol est insuffisante en surface ; la plante sollicite des réservoirs d'eau profonds du sol. Or, la composition y est plus appauvrie. De nuit, la transpiration est faible ou nulle, la plante sollicite beaucoup moins ces réservoirs profonds si bien que la teneur en isotopes lourds s'accroît.

10. ETUDE DE L'EXTRACTION RACINAIRE EN DISPOSITIF SPLIT-ROOT (transparent 10, d'après Cayet 2001)



En conditions contrôlées, on peut reproduire le même type de comportement. Il est possible à partir de l'analyse de la signature isotopique de la vapeur transpirée de mettre en évidence des différences d'absorption entre deux compartiments d'un système split-root soumis à des écarts croissants de potentiel hydrique.

Pour cela, on répartit équitablement les racines de la plante dans deux compartiments distincts dans lesquels on contrôle le potentiel osmotique de la solution nutritive par l'ajout de polyéthylène glycol et on marque différemment chacun d'eux.

Dans l'exemple ci-contre, l'eau du compartiment non soumis à des contraintes hydriques est marquée à + 3.1 ‰. Par contre, la teneur en ¹⁸O de l'eau du compartiment soumis à des contraintes hydriques croissantes de - 0.25 à - 1.50 MPa est de -7 ‰.

11. RÉSULTATS SPLIT-ROOT (transparent 11)

Le transparent 11 présente les résultats obtenus. La figure de gauche donne la composition isotopique de la vapeur transpirée par rapport au marquage initial de chacun des compartiments. En haut, le compartiment de référence sans contrainte osmotique et marqué à +3 ‰. En bas, le compartiment à -7 ‰ soumis à des contraintes osmotiques croissantes.

Les résultats montrent que la signature isotopique de la vapeur transpirée évolue en fonction des flux provenant de chacun des compartiments sollicités du split-root.

Ainsi, au fur et à mesure du développement de la contrainte hydrique dans l'un des compartiments, la composition isotopique de la vapeur transpirée et donc du signal d'entrée dans la plante se rapproche de plus en plus de celle du compartiment non stressé.



A partir d'une équation de mélange, on peut calculer, comme indiqué sur la figure de droite, le pourcentage d'eau prélevée dans le compartiment stressé en fonction du potentiel hydrique qui lui est imposé. Il faut quand même pas moins de -1.5MPa pour que la quasi-totalité de l'eau qui alimente la plante provienne de l'environnement racinaire du compartiment non stressé.

Ces recherches en milieu contrôlé au sein du réacteur Rubic confirment bien les observations faites sur le terrain ce qui en fait un outil performant pour mieux comprendre les processus d'extraction de l'eau par les racines en fonction de la disponibilité hydrique du sol.

12. CONCLUSION

La géochimie isotopique permet de répondre à des questions importantes concernant l'origine de l'eau et les transferts hydriques dans le système Sol-Plante-Atmosphère telles que :

Quelle est la profondeur d'extraction racinaire ?

Comment se constitue le signal d'entrée dans la plante ? Comment les interactions Eau-Sol-Racine évoluent elles en fonction de la disponibilité hydrique du sol.

Comment s'élabore le signal de sortie de la plante c'est à dire la vapeur transpirée, comment se dilue-t-elle dans la vapeur régionale ?

De fait, la géochimie isotopique devrait être associée à toute étude hydroclimatologique ou écophysiologique prenant en compte les interactions Biosphère –Atmosphère.

Les efforts que l'on porte au laboratoire tentent actuellement d'intégrer les processus étudiés en conditions contrôlées avec celles menées en conditions naturelles. Cette intégration est actuellement poursuivie au travers de la modélisation et du couplage de la géochimie isotopique aux modèles de transfert Sol-Plante-Atmosphère.

13. BIBLIOGRAPHIE

BARIAC T., KLAMECKI A., JUSSERAND C., LETOLLE R. (1987) : Evolution de la composition isotopique de l'eau (¹⁸O) dans le continuum sol-plante-atmosphère. Exemple d'une parcelle cultivée en blé, Versailles, Juin 1984. *Catena*. (14), 55-72.

BARIAC T. (1988): Les isotopes stables (¹⁸O, ²H) de l'eau dans le continuum sol-plante-atmosphère : Conséquence pour la vapeur atmosphérique. Thèse Doct. Etat. Université P. et M. Curie, Paris, 359p.

BARIAC T., JUSSERAND C., MARIOTTI A. (1990): Evolution spatio-temporelle de la composition isotopique de l'eau dans le continuum sol-plante-atmosphère. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. (54), 413-424.

BARIAC T., GONZALEZ-DUNIA J., TARDIEU F., TESSIER D., MARIOTTI A. (1994) : Variabilité spatiale de la composition isotopique de l'eau (¹⁸O, ²H) au sein des organes des plantes aériennes : 1. Approche en conditions contrôlées. *Chemical Geology (Isotope Geoscience Section*. (115), 307-315.

BARIAC T., GONZALEZ-DUNIA J., KATERJI N., BETHENOD O., BERTOLINI J.M., MARIOTTI A. (1994) : Variabilité spatiale de la composition isotopique de l'eau (¹⁸O, ²H) au sein des organes des plantes aériennes : 1. Approche en conditions naturelles. *Chemical Geology (Isotope Geoscience Section*. (115), 317-333.

CAYET S. (2001) : Apports de la biogéochimie isotopique à l'analyse des interactions eau-sol-racine. *Thèse de doctorat de l'université Paris 6*. 175p.

CRAIG H., GORDON L. (1965): Deuterium and oxygen-18 variations in the ocean and the marine atmosphere. In *Stable isotopes in Oceanographic Studies and Paleotemperatures* (Tongiorgi ed.). CNR, Laboratorio di Geologia nucleare, Pisa, 9-130.

ROCHE C. (1999): Interactions Biosphère-Atmosphère aux échelles locales et composition isotopique (13 C, 18 O) du CO₂ atmosphérique : application à la forêt landaise. *Thèse de doctorat de l'université Paris 6*. 181p.

ROZANSKI K., SONNTAG C., MÜNNICH K.O. (1982): Factor controlling stable isotope compositions of European precipitation. *Tellus*. (34), 142-150.

Perspectives de recherches en matière d'architecture hydraulique

Hervé Cochard

UMR-PIAF, INRA, Clermont-Ferrand

Cochard@clermont.inra.fr

Cet exposé fait état d'un certain nombre de perspectives de recherches concernant l'architecture hydrauliques, rédigées à l'occasion d'un mémoire d'HDR (disponible sur demande). Ce sont des perspectives à moyen ou long terme qui concernent les activités du PIAF mais qui pourront trouver écho dans notre groupe "Xylème". Ce sont donc des perspectives de recherche relativement larges qui concernent la thématique hydraulique dans sa globalité. Mon intention est surtout de faire part d'un certain nombre de réflexions et de soulever des points de blocage conceptuels.

1. TENDANCES GÉNÉRALES

La discipline hydraulique étant encore à ses premiers balbutiements, les questions et les perspectives ne manquent pas. Néanmoins, l'âge d'or de la cavitation est certainement révolu. Les résultats les plus triviaux ont été publiés et les concepts les plus significatifs ont été énoncés (en fait dès 1985 dans le premier article de J Sperry !). L'avenir ne se contentera pas de simples confirmations de ces concepts sur d'autres matériels végétaux. Il conviendra d'approfondir ces connaissances, éventuellement de changer nos échelles d'approche sans pour autant oublier l'aspect finalisé que doivent conserver, in fine, ces recherches. Un premier challenge que nous devrons relever dans le futur concernera la compréhension des mécanismes et des régulations à des échelles de plus en plus fines. Le second challenge sera de démontrer l'implication de ces concepts dans la compréhension de processus à des échelles plus grandes, de l'arbre à la communauté végétale. Un autre challenge sera de montrer la généricité de cette approche, c'est à dire d'en établir la pertinence pour des espèces non ligneuses. L'une des finalités agronomiques de ces recherches sera de fournir des critères de compréhension et d'évaluation de la résistance à la sécheresse des espèces. Ces recherches pourraient ainsi fournir des clés pour l'amélioration des espèces végétales par les techniques modernes. Ces perspectives sont structurées autour de ces différentes échelles d'analyse.

2. PERSPECTIVES MÉTHODOLOGIQUES

La méthode cryogénique, malgré sa lourdeur et son coût, offre une résolution spatiale évidemment incomparable aux autres méthodes. Elle permet d'abord de localiser l'embolie à l'échelle du vaisseau ou de la trachéide. Elle devrait donc fournir des informations intéressantes sur la variabilité de la vulnérabilité à la cavitation à l'intérieur même d'un tissu conducteur. Ceci nous permettra donc de mieux comprendre comment est construit un tel tissu et comment les plantes concilient les impératifs d'efficience hydraulique et de résistance à la cavitation. Enfin, cette technique nous offre des possibilités jusqu'alors inenvisageable pour détecter la formation d'embolie dans les tissus conducteurs les plus petits, les fines racines et les veinules des feuilles. Il semble en effet que le fonctionnement de ces tissus, aux deux extrémités du transport xylèmien de la sève, soit décisif pour comprendre le fonctionnement intégré des plantes. La seconde méthode qui nous parait offrir des perspectives intéressantes en matière de détection de l'embolie est la Résonance Magnétique Nucléaire (RMN). Cette technique a été récemment employée à cette fin (Holbrook *et al.*, 2001). C'est une technique évidemment lourde et coûteuse elle aussi, mais elle permet de visualiser le processus de formation de l'embolie de façon non destructive. On peut espérer des résolutions d'environ 20µm, et donc de visualiser l'embolie à l'échelle d'un vaisseau. Cette technique pourrait également être mise à profit pour étudier les phénomènes de résorption de l'embolie. Un tel appareillage est en service sur le centre INRA de Clermont-Theix.

3. CARACTÉRISATION DE LA VULNÉRABILITÉ DU XYLÈME

Ce premier ensemble de perspectives regroupe un certain nombre d'études qui restent à mener sur la vulnérabilité des tissus conducteurs. Un certain nombre de lacunes de connaissances sont à combler avant d'envisager des études plus générales sur le fonctionnement à long terme de la plante, voire des communautés végétales.

3.1 Vers une description spatio-temporelle plus complète

Pour des raisons évidentes de facilités expérimentales, la vulnérabilité du xylème à la cavitation n'a été étudiée en détail que pour des organes du type branche, pousses annuelles, voire pétiole de feuille. D'autres organes comme les racines ou les nervures des feuilles ont été très peu renseignés à ce jour. La compréhension des mécanismes de régulation dans la plante ne sera effective que lorsque l'on aura une vision complète de la vulnérabilité de tous les conduits du xylème. Les quelques travaux publiés sur le système racinaire montrent, en général, une vulnérabilité bien supérieure à celle des parties aériennes. Ces mesures concernent uniquement les grosses racines, les parties plus fines du système racinaire n'ayant pas encore été analysées. L'enjeu de ces mesures est important car, comme il est probable que ce soit à ces deux extrémités du système vasculaire des plantes que la signifiance du risque de cavitation soit la plus grande. On devra donc se doter de moyens méthodologiques spécifiques pour analyser l'embolie dans ces tissus, les techniques classiques étant peu adaptées. Nous avons clairement démontré qu'il serait illusoire de prédire ces propriétés à partir de caractéristiques macro-anatomiques (taille des conduits par exemple). La technique crvogénique que nous maîtrisons est l'une des voies d'analyse les plus prometteuses pour ce genre d'études. De telles mesures sont en cours au PIAF.

La dimension temporelle de la vulnérabilité à la cavitation devra également être abordée, et ce à deux échelles. Tout d'abord, il n'y a pratiquement pas d'information sur l'évolution de la vulnérabilité des conduits d'un xylème à l'échelle intra-annuelle (voire pauci-annuelle). Une étude sur peuplier (Sperry *et al.*, 1991) a montré une accentuation de la vulnérabilité des conduits vers la fin du cycle de végétation. La difficulté dans ce genre d'étude sur des plantes en croissance est de faire la part entre un changement temporel de vulnérabilité affectant un conduit en particulier, d'un changement temporel affectant globalement le tissu conducteur qui lui peut être lié à d'autres facteurs, la production de conduits moins vulnérables en été par exemple. L'utilisation de la technique cryogénique devrait permettre de faire la distinction entre les deux phénomènes. Il est probable que genre d'études apportent des éléments de compréhension à la formation du bois de cœur chez les arbres (les vaisseaux du bois de cœur sont embolisés). La seconde échelle temporelle à considérer est pluri-annuelle et s'intéressera aux variations ontogéniques de vulnérabilité accompagnant le développement du végétal. Il est en effet très probable que la vulnérabilité d'un même organe (la pousse annuelle ou le pétiole des feuilles) connaisse des évolutions de sa vulnérabilité au cours des différents stades de développement de la plante (de la jeune pousse, au vieil arbre). Ces variations devront être mises en relation avec les variations d'efficience hydraulique du xylème, à l'image de notre étude sur frêne [19]. La difficulté dans ce genre d'études sera de faire la part des évolutions purement ontogéniques de celles liées aux modifications de l'environnement de la plante au cours de son développement.

3.2 Vers de nouvelles espèces végétales

Encore une fois pour des raisons expérimentales certaines, mais aussi pour des causes historiques (M Zimmermann était physiologiste de l'arbre à Harvard), la grande majorité des travaux sur l'embolie concerne des espèces ligneuses. L'expérience montre que la publication de résultats sur ligneux confirmant simplement des faits antérieurs devient de plus en plus difficile. En revanche, l'étude de ces phénomènes sur des espèces herbacées, même de grande culture, est pratiquement vierge. Nous avons récemment rouvert, et vite refermé, une parenthèse sur la maïs au Piaf, pour montrer l'intérêt potentiel et la généricité de ce genre d'approche pour la compréhension du fonctionnement hydrique d'une telle espèce. Les résultats montrent que le fonctionnement hydraulique du maïs est finalement très comparable à celui d'un noyer, ce qui nous encourage à garder cette dernière espèce comme modèle végétal. En revanche, l'étude du fonctionnement hydraulique d'espèces comme le blé, le colza ou le tournesol n'a pas encore été initiée à ma connaissance. De même, il est tout à fait réaliste d'envisager des mesures sur Arabidopsis afin de faire progresser notre connaissance des mécanismes. Ces perspectives de recherche ne sont envisageables qu'en collaboration avec des équipes de physiologistes ayant ces espèces pour objet d'étude. Il n'y a pas de difficultés méthodologiques majeures pour étudier ces espèces.

3.3 Vers le prise en compte de l'impact des facteurs du milieu

La variabilité phénotypique des paramètres hydrauliques semble considérable. La question de la capacité d'acclimatation des propriétés hydrauliques du xylème est particulièrement importante pour les espèces ligneuses longévives dans un contexte de changement climatique local (au cours de leurs stades de développement) ou global. Nous nous sommes particulièrement intéressés au facteur lumière car c'est probablement le facteur qui varie le plus au cours du développement des espèces forestière. Nombre d'autres facteurs du milieu peuvent potentiellement provoquer des phénotypes xylémiens contrastés. Il y a en premier lieu la disponibilité de la ressource en eau dans le sol. Des résultats montrent que la réduction de la disponibilité en eau s'accompagne de modifications physiologiques importantes (comme l'allocation du carbone dans la plante, la modulation de la surface foliaire etc...). L'anatomie du xylème est également altérée, les vaisseaux avant tendance à avoir des diamètres plus faibles. Quelques études récentes (Alder et al., 1996 ; Lemoine et al., 2001, Ladjal, 2001) ont montré l'impact de la disponibilité en eau sur la vulnérabilité du xylème : des conditions plus xériques semblent induire une plus faible vulnérabilité. Ces résultats devront être confirmés et étayés. Elles viseront à déterminer le degré de plasticité selon les espèces (comparer des espèces évitantes versus tolérantes, peu vulnérables versus très vulnérables, caducifoliées versus sempervirentes etc...), les phases critiques du développement qui influent sur cette plasticité (contrainte hydrique pendant la phase de croissance, arrières effets d'une année sur l'autre, ajustement après la formation de conduits) et à déterminer la variable hydrique pertinente (potentiel hydrique du sol moyen versus pression hydrostatique du xylème, pression de turgescence etc...). minimum, L'expérimentation pourra combiner deux approches complémentaires : une approche de terrain qui visera à caractériser des individus dans des conditions stationnelles contrastées. La

approche est qu'elle combine immanquablement l'actions de plusieurs facteurs, sans compter sur le risque de caractériser des écotypes différents. La seconde approche se fera en conditions contrôlées de croissance avec les restrictions classiques inhérentes à ce genre d'études.

D'autres facteurs du milieu que la disponibilité en eau devront être étudiés. Je pense en particulier aux autres caractéristiques édaphiques telles la richesse nutritionnelle, les teneurs relatives en minéraux NPK, la structure et la texture du sol, le volume de sol exploitable etc... Deux facteurs climatiques me semblent également importants à considérer : la température et l'humidité de l'air. La température joue de façon très significative sur le viscosité de l'eau (2.5% par degré environ) et par voie de conséquence sur la résistance hydraulique du xylème. Nous avons montré que des modifications de température du sol provoquait une fermeture stomatique à court terme [24][36]. Qu'en est-il à plus long terme ? Qu'en est-il lorsque ce sont les températures moyennes pendant les saisons de végétations qui diffèrent ? La réponse et l'acclimatation des plantes se manifestent-elles à l'échelle du tissu conducteur (modulation de la vulnérabilité ?) et/ou au niveau des surfaces d'échange ? (modulations des surfaces d'absorption et de transpiration). Nous disposons au Piaf de caissons racinaires climatisés qui pourraient être mis à profits pour ce genre d'études. La question relative au déficit de pression de vapeur de l'air est très similaire et pourra être traité expérimentalement en conditionnant des plants dans des atmosphères contrôlées. La question de l'effet de la teneur en CO² de l'air sur les propriétés hydrauliques devrait être revisitée. Nous avons signalé que les expériences que nous avons conduites sur ce sujet ne permirent pas de mettre en évidence des réponses marquées à ce facteur pour les deux espèces que nous avons considérées. La première de ces espèces (chêne liège) était très résistante à l'embolie. Pour la seconde (pin maritime), les courbes de vulnérabilités que nous avons établies étaient entachées d'une certaine imprécision liée aux difficultés d'application de la méthode hydraulique chez les conifères. Il serait donc souhaitable, vu l'enjeu de ces études, de confirmer ou d'infirmer ces résultats pour des espèces plus faciles à caractériser, comme le hêtre par exemple. Le dispositif expérimental mis en place à Nancy est probablement le plus propice pour ces études. Il va de soi que toutes ces études spécifiques sur la vulnérabilité du système vasculaire devront être couplées à des mesures de l'état hydrique et des flux d'eau dans la plante.

La caractérisation de la variabilité phénotypique de la vulnérabilité à la cavitation induite par des facteurs du milieu est un enjeu essentiel pour comprendre les capacité d'acclimatation des espèces à des environnements changeants. Les résultats de ces recherches pourraient avoir des sorties plus finalisées en terme de mode de conduite des peuplements, ligneux ou non.

4. MÉCANISMES DE FORMATION ET DE RÉSORPTION DE LA CAVITATION

La question de la variabilité de la vulnérabilité pose logiquement celle des mécanismes de formation et de leur régulation. Si le mécanisme de formation est globalement bien défini (celui du germe d'air), de nombreux points restent encore à élucider. Ces recherches se situent clairement à l'extrémité fondamentale de la thématique et nécessiteront une approche multidisciplinaire.

La clé de voûte du mécanisme de formation de l'embolie estivale se situe au niveau de la paroi des ponctuations. Les connaissances sur la formation et la structure de cette paroi, ses propriétés physico-chimiques, la façon dont elles interfèrent avec les propriétés physicochimiques de la sève sont donc de première importance pour les études sur la cavitation.

4.1 Structure de la paroi primaire des ponctuations

La paroi primaire des ponctuations est formée d'un réseau de microfibrilles de pectines, celluloses et hémicelluloses. Il est généralement admis que la paroi primaire des ponctuations est une paroi poreuse et que c'est la taille de ces pores qui détermine le seuil de cavitation

(du moins chez les feuillus). Les observations à l'origine de cette affirmation ont été réalisées en microscopie électronique à balayage sur du matériel sec et métallisé. Il est probable qu'une telle préparation des échantillons modifie la structure et que notre vision en soit ainsi biaisée. D'ailleurs, les observations en microscopie électronique à transmission, sur du matériel anhydre également et fixé, de coupes à travers les parois des ponctuations ne montrent pas la présence de tels pores. Il est troublant que des pores dont la taille est de l'ordre de la centaine de nanomètres (0.1 µm) ne soient pas plus clairement visibles. Notre représentation de la structure des ponctuations est donc peut-être fausse. Une structure alternative pourrait être un réseau régulier de microfibrilles, sans singularités locales donc. La pénétration d'une bulle d'air ne se ferait pas à travers un pore mais résulterait de l'invagination d'une ménisque à travers la paroi. Ce serait alors la rigidité du réseau de microfibrilles qui déterminerait la résistance de la paroi à l'entrée d'air. C'est d'ailleurs ce qui se passe chez les conifères dont la structure des ponctuations est très différente. Les développements récents en matière de microscopie électronique, tels les microscopes environnementaux ou les microscopes cryogéniques à transmission, devraient nous fournir des représentations plus exactes de la structure de ces parois.

Un autre fait troublant est d'ordre statistique. L'expérience prouve que, pour un même type de matériel végétal les mesures de vulnérabilité sont très reproductibles, la variabilité des seuils de cavitation étant relativement faible, disons +-5%. La variabilité autour du diamètre D des pores est donc du même ordre. Si $P_{cav} = -3MPa$, alors D = 100 nm et l'écart maximum à la moyenne est 5nm. En d'autre termes, entre deux organes pris au hasard parmi une population, chacun de ces organes contenant des dizaines ou des centaines de vaisseaux, chaque vaisseau contenant des centaines ou des milliers de ponctuations, la différence entre les pores les plus grands de chaque organe n'est que de quelques nanomètres. La régularité des irrégularités de la paroi me parait assez troublante ! A nouveau, si la structure de la paroi est régulière, on peut concevoir, a priori, que ses propriétés soient également plus régulières.

Ce genre de considérations suggère également que les mécanismes qui contrôlent la formation et donc les propriétés physiques de la paroi des ponctuations doivent être extrêmement précis et complexes. On admet généralement que tout se fige au moment de la formation de la paroi (mais nous verrons dans le point suivant que l'on commet peut-être une autre erreur ici). Tout se passe donc dans le cambium au cours de la xylogenèse. C'est à ce moment là qu'est déterminé le seuil de vulnérabilité. Cette détermination est donc très précoce (au printemps) bien avant que le conduit ne connaisse ses pressions hydrostatiques minimales (en été). Et pourtant la corrélation entre ces pressions minimales mesurées *in situ* et les pressions seuils de cavitation est patente. C'est aussi au moment de la xylogenèse que se déterminera la variabilité phénotypique.

Les approches expérimentales à mettre en œuvre pour élucider ces mécanismes de formation et de régulation sortent certainement du champs d'action de l'écophysiologie classique (et donc de mon domaine de compétence !). Les outils de la biologie moléculaire ou du génie génétique devront être mis à profit dans ces études. En effet la production de mutants affectant certains processus clés de la xylogenèse ou de la composition chimique des parois devrait permettre de tester certaines hypothèses. On peut imaginer par exemple que la structure de la paroi soit déterminée par la vitesse de croissance et de différentiation des cellules. Le rôle de certaines protéines (extensines, aquaporines), ou de certains paramètres biophysiques cellulaires (pression de turgescence, perméabilité membranaire, extensibilité des paroi) serait alors à prendre en compte. C'est donc en faisant appel à des compétences en biologie moléculaire, en cytochimie, en biophysique cellulaire et en anatomie que l'on pourra faire progresser significativement cette thématique.

4.2 Propriétés physico-chimique de la paroi primaire des ponctuations

Une publication récente (Zwieniecki et al., 2001), dans un hebdomadaire scientifique américain, a démontré l'action très significative de la composition chimique de la sève sur la conductance hydraulique du xylème. La présence de certains ions (K+, Na+, Ca++) augmente de façon substantielle cette conductance. L'explication donnée pour expliquer ce phénomène serait que la paroi primaire des ponctuations se comporterait comme un «hydrogel», c'est à dire que les microfibrilles gonfleraient en présence de certains ions. Le rôle de la pectine serait déterminant dans cette réponse. Cette découverte révolutionne notre conception des transferts d'eau dans l'apoplasme, de la même manière que la découverte des aquaporines a révolutionné la compréhension des flux symplasmiques. En effet, jusqu'alors les flux d'eau dans la plante étaient considérés comme étant régis par des phénomènes purement physiques s'opérant dans des systèmes inertes. Ces découvertes montrent que ce sont aussi des phénomènes biologiques c'est à dire impliquant des protéines et donc potentiellement régulables par l'organisme. Si l'existence du phénomène semble indéniable in labo et facilement reproductible, son occurrence *in planta* reste largement à établir. On ne connaît pas encore son implication réelle dans le fonctionnement hydrique de la plante. Nous reviendrons sur ce point un peu plus tard. Le point que je voudrais souligner ici, est qu'il est possible que le comportement hydrogel des parois primaires des ponctuations joue également sur le mécanisme de formation de l'embolie. Des modulations de la taille des microfibrilles, voire des liaisons covalentes ou hydrogènes entre les chaînes de cellulose d'hémicellulose, influeraient potentiellement les propriétés mécaniques de la paroi. Il n'est donc plus absurde de penser que la plante puisse faire varier à très court terme non seulement l'efficience hydraulique mais également la vulnérabilité à la cavitation de son système conducteur. La compréhension de ces phénomènes excédera le cadre de notre discipline hydraulique et nécessitera l'études des mécanismes qui régulent la composition chimique de la sève, que ce soit au niveau racinaire ou au niveau des cellules associées au vaisseaux.

L'enjeu cognitif de ces études est certain, leur difficulté et leur risque d'échec également. Un certain nombre d'expérimentations seront mises en place pour tester certaines hypothèses relatives à ces perspectives. Par exemple, l'hypothèse de l'influence de la présence de cations dans la sève sur la vulnérabilité peut être traitée à l'aide du dispositif de centrifugation que nous avons développé. De même, des suivis annuels et journaliers de la composition chimique de la sève en certains de ces ions pourraient répondre à la question de la pertinence de ce phénomène. La technique d'analyse élémentaire X couplée à de la cryo-microscopie électronique devrait également nous renseigner sur la variabilité spatio-temporelle de ces constituants dans la plante. L'acquisition d'un détecteur X est envisagée pour notre Cryo-MEB.

4.3 Mécanismes de résorption de l'embolie estivale

Nos connaissances sur les mécanismes de recouvrement de l'embolie hivernale sont bien avancées, même si de nombreux points restent encore à renseigner. Cette thématique étant prise en charge par Thierry Améglio dans notre équipe, je n'y reviendrai pas. En revanche, les conditions et les mécanismes à l'origine d'une résorption de l'embolie estivale restent beaucoup plus énigmatiques. Il s'agit d'identifier et de comprendre des mécanismes liés spécifiquement à la résorption de l'embolie estivale, à priori différents de ceux impliqués dans la résorption de l'embolie hivernale (poussée racinaire au printemps). Je fais ici référence à un certain nombre de travaux faisant état de résorptions de l'embolie alors même que l'ensemble du tissu conducteur est exposé à des pressions fortement négatives. La mise en évidence d'un tel mécanisme est un enjeu conceptuel important. En effet on ne peut raisonner l'impact physiologique de la cavitation de la même façon si c'est un phénomène transitoire et rapidement réversible ou si c'est un dysfonctionnement durable ayant des conséquences à beaucoup plus long terme.

La première étape de cette étude sera de confirmer expérimentalement les résultats publiés afin de valider l'existence même de cette capacité de résorption. Les techniques employées par ces auteurs (Crvo-MEB, détecteur d'émissions ultrasoniques) ne sont en effet pas exemptes de critiques et il sera bon de vérifier l'absence d'artefacts dans ces mesures. Il sera impératif de travailler sur les mêmes espèces car nous n'avons jamais noté de tels phénomènes sur les espèces que nous avons renseignées jusqu'à aujourd'hui. Si la réalité du phénomène se confirme on se devra alors d'identifier le mécanisme en jeu. Le cadre général de ce mécanisme miraculeux est connu (Holbrook et Zwieniecki, 1999) car il ne peut échapper aux lois de la physique. Nous l'avons vu à propos du mécanisme de résorption de l'embolie hivernale pour qu'une bulle d'air, piégée dans le lumen d'un vaisseau entouré de vaisseaux sous pression hydrostatique fortement négative (ca -1MPa), puisse se résorber, la pression gazeuse doit être supérieure à la pression atmosphérique (loi de Henry). Trois conditions doivent alors être réalisées successivement : i.) le vaisseau embolisé doit être isolé hydrauliquement du reste de l'apoplasme ; ii.) de l'eau doit migrer vers le lumen du vaisseau embolisé pour comprimer la bulle d'air et donc résorber l'embolie ; iii) la connexion hydraulique doit être rétablie avec le reste du tissu conducteur. Discutons ces trois points. Holbrook et Zwieniecki (1999) ont montré que la présence de bulles d'air au niveau des ponctuations pouvait isoler hydrauliquement le vaisseau embolisé au niveau de la paroi primaire (hydrophile). La forme des ponctuations fait de plus que ces bulles seraient dans un état physiquement stable (en légère dépression). Pour que l'isolation soit complète il faut également que le reste de la paroi (secondaire) du vaisseau soit totalement imperméable à l'eau, ce qui est une hypothèse peut-être réaliste compte tenu du caractère hygrophobe de cette paroi. La première condition semble donc pouvoir être réalisée. La seconde condition est plus problématique. L'influx d'eau vers le lumen du vaisseau embolisé ne peut emprunter que la voie symplasmique (puisque nous nous sommes évertués à rompre la voie apoplasmique !). Le gradient de potentiel hydrique entre le symplasme et la cellule cavité doit se faire à la faveur d'un chargement en composés osmotiques dans le vaisseau. Si le potentiel hydrique du rameau en question est de -1MPa, le potentiel osmotique dans le vaisseau embolisé doit être au moins inférieur à cette valeur (concentration 0.5 molaire environ). Ce gradient doit être entretenu tout au long de la phase de remplissage en eau du vaisseau, ce qui, in fine, doit représenter une quantité d'osmoticum assez conséquente compte tenu de la taille des vaisseaux ! Le fonctionnement des cellules associées aux vaisseaux et des parenchymes xylémiens est certainement central dans ce mécanisme. La seconde condition est donc également réalisable mais à un certain coût. La dernière condition reste miraculeuse. Pour rétablir la fonctionnalité du conduit, il faut que toutes les bulles d'air piégées dans les ponctuations soient résorbées, sinon le vaisseau s'emboliserait à nouveau dès que la pression hydrostatique redevient inférieure à -0.1 MPa (l'ouverture de la ponctuation est de l'ordre de 3 µm). Il faut donc impérativement que toutes ces bulles d'air disparaissent instantanément dans les centaines de ponctuations du vaisseau. Mais les plantes sont parfois capables de prouesses insoupçonnées.

Des techniques d'études non destructives, comme la RMN, devraient permettre de mieux caractériser le processus de résorption de l'embolie. L'emploi de la technique du Cryo-SEM tel que nous l'avons défini [54], nous permettra de mettre en évidence la présence (non artefactuelle) de vaisseaux partiellement vides, signe d'un éventuel processus de résorption. De plus, des mesures en microanalyses X associées à un Cryo-SEM devraient révéler l'existence de concentrations élevées dans les vaisseaux en phase de résorption. Nous

mettrons en œuvre certaines de ces techniques au cours de la visite de Melvin Tyree cette

année dans notre laboratoire. Nous espérons au moins confirmer, ou infirmer, la réalité du phénomène.

5. CONTRÔLE STOMATIQUE DE L'EMBOLIE

La question du contrôle stomatique de l'embolie, et de façon plus générale de l'implication de l'embolie dans le fonctionnement hydrique de la plante, est centrale car c'est la question de la pertinence physiologique et agronomique de ces études qui est à la clé.

5.1 Relations causales ou corrélative ?

Nous avons à ce jour obtenu un faisceau de corrélations et de faits expérimentaux concordants suggérant un couplage étroit entre les fonctionnements stomatiques et hydrauliques. Mais ce ne sont encore que des corrélations, et si nous avons utilisé fréquemment le terme de «contrôle» c'est de façon abusive. La notion de contrôle sous-entend, implicitement, une relation causale entre les différents paramètres impliqués. Il est en effet possible que la relation causale sous-tendant la fermeture stomatique soit avec un tout autre paramètre, hydrique ou non (le maintient de la turgescence cellulaire, le dysfonctionnement d'une protéine clé du métabolisme par exemple). La corrélation avec les propriétés hydrauliques serait alors le résultat d'une dérive génétique. Peut-on se contenter de simples relations corrélatives ? Tout dépend de l'objectif des recherches. Si l'objectif est d'élaborer un modèle prédictif de la transpiration d'un arbre pendant un épisode de sécheresse alors la réponse est positive. De même si l'objectif est de fournir des critères d'évaluation de la résistance à la sécheresse d'espèces sauvages. En revanche, si l'objectif que l'on se fixe est d'évaluer la résistance à la sécheresse d'espèces génétiquement modifiées, alors la recherche d'une relation causale semble plus nécessaire. En effet, si l'on touche à l'un des paramètres sans faire bouger l'autre alors on risque de produire des déséquilibres fonctionnels graves.

5.2 Pourquoi une fermeture stomatique ?

Dans une publication récente [36] nous avons identifié un certain nombre de conditions nécessaires, mais pas forcément suffisantes, pour nous aider à trouver le paramètre physiologique contrôlé de façon causale par la fermeture stomatique pendant une sécheresse. La première condition est que ce facteur doit représenter une fonction vitale pour la plante. En effet, il est clair que la fermeture des stomates représente un coût certain pour la plante en terme de gain de carbone et donc de croissance ou de pouvoir reproductif. C'est à priori un processus qui, d'un point de vu évolutif, doit être fortement contre sélectionné. Le gain associé à la fermeture stomatique doit donc être supérieur à ce coût. La seconde condition est que le risque de dysfonctionnement du paramètre en question doit être dépendant du déficit hydrique puisque l'effet de la fermeture stomatique est précisément de prévenir des déficits excessifs. Si une protéine est dénaturée pendant une sécheresse à cause de l'élévation de température foliaire associée à la fermeture stomatique alors ce sera un phénomène induit et non causal. Dernière conditions à assurer : la dépendance fonctionnelle entre le déficit hydrique et la fonction clé en question doit être la même que celle observée pour les stomates. Si le processus est perturbé bien avant (comme la croissance cellulaire) ou bien après la fermeture stomatique (comme les transferts électrons dans les chloroplastes), alors les chances pour qu'il soit, de façon causale, à son origine sont faibles. Nous avons montré que le risque de cavitation remplissait bien ces conditions. Le maintient de la turgescence foliaire ne

remplit pas la dernière condition. Le risque de plasmolyse cellulaire pourrait par contre

remplir ces conditions. Les autres ne me sont pas encore venues à l'esprit. L'enjeu cognitif de ces études est finalement important car elles permettraient de répondre à une question très simple : pourquoi les stomates se ferment-ils pendant une sécheresse ? Curieusement, la question du «comment» a été très largement renseignée alors que celle du «pourquoi» reste en suspend.

5.3 Quel est la variable pertinente ?

Comprendre comment une variable environnementale, la teneur en eau du sol, se traduit en une réponse physiologique spécifique, la fermeture stomatique, suppose la compréhension de toute une cascade d'événements à des échelles très diverses. Il y a certainement à l'origine de cette cascade une variable physiologique quantitative de perception de l'état de contrainte hydrique. Cette variable se situe peut-être dans le sol, dans le système racinaire, dans les tiges ou dans les feuilles. On peut lister un certain nombre de variables potentielles, des variables hydriques comme le potentiel hydrique du sol, la conductance hydraulique du sol, la conductance hydraulique des différents organes, le potentiel hydrique ou l'une de ses composantes dans différents organes; ou des variables mécaniques, comme l'impédance mécanique du sol, des contraintes mécaniques dans la plante. A l'autre extrémité de la cascade d'événements se trouve la variation de turgescence des cellules de garde, processus provoquant leur fermeture. Comme je le soulignais, les mécanismes physico-chimiques et moléculaires mis en œuvres lors de cette phase ultime sont de mieux en mieux connus (des physiologistes !). La phase intermédiaire, celle de la transduction du signal de contrainte hydrique vers les cellules de garde, semble moins connue. L'implication d'hormones dans ce processus de transduction, l'ABA en particulier, a clairement été établie (Tardieu et al., 1992). La localisation de la synthèse d'ABA et la facon dont la contrainte hydrique la module semble moins renseignée.

5.4 Quel apport de l'écophysiologie ?

La contribution que nous pouvons apporter à la compréhension de ces phénomènes se fera au moyen des techniques écophysiologiques classiques. L'analyse de la composante hormonale ou moléculaire du processus ne pourra être envisagée qu'en collaboration. C'est en particulier l'action que nous mènerons dans un projet (Establish) sur la recherche de marqueurs moléculaires et physiologiques de la résistance à la sécheresse du Peuplier. L'approche moléculaire globale qui sera mis en œuvre dans ce projet permettra peut-être d'identifier des gènes impliqués dans ce processus. Néanmoins, il ne faut pas perdre de vue que si des gènes sont impliqués de façon spécifique dans la résistance du xylème à la cavitation alors ils doivent s'exprimer dans le cambium, au cours de la xylogenèse (de nombreux gènes codants pour la paroi ont été identifiés sur Peuplier). Il n'y a donc pas unité de temps ni d'espace entre les gènes impliqués respectivement dans les fonctionnements hydrauliques et stomatiques. Ceci complique singulièrement l'analyse.

Notre contribution se limitera donc à l'essai d'identification de paramètres hydriques impliqués dans la perception de la contrainte hydrique. L'approche expérimentale que nous avons menée sur Noyer [36] semble pertinente. Elle a en effet permis de localiser la variable en question dans les parties les plus distales de la plante (les feuilles ?). En utilisant des techniques de pressurisation des systèmes racinaires, ou aériens, il sera peut-être possible de décorréler le potentiel hydrostatique du xylème du potentiel hydrique foliaire. Certains auteurs (Salleo en particulier) émettent l'hypothèse d'un signal hydraulique provenant de cavitations précoces dans le xylème. Si l'hypothèse est correcte, c'est la pression

hydrostatique du xylème qui serait la variable pertinente. La mesure du potentiel hydrique tel que nous la

pratiquons (chambre de Scholander, psychromètres) reste très grossière. Il sera certainement nécessaire de mettre en œuvre des techniques cellulaires beaucoup plus fines (sonde à pression cellulaire, sonde à pression xylémienne, picolitre osmomètre) pour identifier ces paramètres. Le choix du matériel végétal sera aussi déterminant. Il sera souhaitable de caractériser, du point de vue hydraulique, des espèces à comportement isohydriques et anisohydriques. De même, des expériences de greffage, combinant des greffons et des portegreffes ayant des comportements hydrauliques et stomatiques contrastés, seront instructives. Nous avons initié une collaboration sur ce point avec I Poggi (INRA, Corse) sur agrumes. Enfin, l'analyse de génotypes «bio-façonnés» (insensibles ou hypersensibles à l'ABA, sans aquaporines, etc.) devrait nous permettre de faire progresser notre connaissance des mécanismes tout en employant nos techniques écophysiologiques. De tels génotypes commencent à être disponibles sur Peuplier. Le rôle des aquaporines dans ces processus est probablement important, mais reste à démontrer. En effet, nous avons montré que la résistance hydraulique se localise très majoritairement dans le trajet extravasculaire des feuilles. Si la composante symplasmique de cette résistance est importante, alors sa modulation par la présence ou l'activation d'aquaporines pourrait contribuer à la régulation du potentiel hydrique foliaire. Une collaboration avec C Maurel (CNRS, Montpellier) a été initiée sur l'implication des aquaporines dans le fonctionnement hydrique des plantes. Un sujet de thèse sur le contrôle stomatique de l'embolie me semble envisageable.

6. ARCHITECTURE HYDRAULIQUE DES PLANTES

Nous avons établi au cours de nos travaux qu'il existait une certaine construction hydraulique des plantes. Les conséquences physiologiques de cette architecture sont encore très peu connues.

6.1 Pertinence physiologique de l'architecture hydraulique

Les perspectives précédemment développées étaient principalement axées autour d'une propriété spécifique du xylème : sa vulnérabilité à l'embolie. Une autre propriété importante du xylème est sa conductance hydraulique et la façon dont ces conductances se répartissent dans la plante. C'est ce que nous avons définit comme l'architecture hydraulique. L'implication de l'architecture hydraulique dans le contrôle stomatique de l'embolie est faible car la conductance du xylème est très grande par rapport à celle du symplasme et celle d'un sol déshydraté. Des différences significatives de résistances hydrauliques entre différentes branches ne sont donc pas nécessairement signifiantes en terme de régulation stomatique. C'est la raison pour laquelle nous ne l'avons pas considérée dans les paragraphes précédents.

Le constat est tout à fait différent si on s'intéresse non plus au fonctionnement stomatique mais au fonctionnent des méristèmes primaires et secondaires. En effet, la croissance cellulaire est, d'un point de vue biophysique, fonction de la pression turgescence, de la perméabilité membranaire à l'eau, et de propriétés mécaniques des parois (formalisme de Lockhart). L'expérience montre que cette croissance est sensible à de faibles variations de potentiels hydriques dans la plante (de l'ordre de quelques dixièmes de MPa). Cet ordre de grandeur est comparable aux variations de pressions hydrostatiques dans le xylème induites par l'architecture hydraulique de la plante. Il est donc raisonnable d'émettre l'hypothèse d'une implication de l'architecture hydraulique dans la croissance des méristèmes. L'enjeu de ces recherches est important, tant sur le plan cognitif que finalisé, car elles concernent les performances de croissance, le déterminisme de la ramification et donc l'acquisition de la forme des plantes. Ces études permettraient d'établir une base hydraulique de l'architecture botanique des plantes. Elles représentent donc un intérêt particulier pour le projet collectif de recherche du PIAF sur l'acquisition de la forme des arbres.

6.2 Résultats récents

Un certain nombre de résultats expérimentaux récents attestent du rôle de l'architecture hydraulique dans la croissance des méristèmes. Le premier ensemble de résultats concerne l'étude de l'architecture hydraulique de talles de fétuque «forestière» en croissance [25][27]. C'est un travail réalisé dans le cadre de la thèse de Pierre Martre en collaboration avec Jean-Louis Durand (INRA Lusignan). Nous avons identifié une constriction hydraulique forte au niveau de la zone de croissance, à la base des feuilles, où seuls les vaisseaux du protoxylème sont fonctionnels. Un modèle de flux d'eau dans la plante prenant en compte l'architecture hydraulique montre que les variations journalières de pression hydrostatique du xylème dans la zone de croissance reproduisent assez fidèlement les variations journalières de croissance des feuilles.

Le second ensemble de résultats concerne l'architecture hydraulique du hêtre (Cochard et al., article soumis). Nous avons mis en évidence une corrélation forte entre le nombre de primordia foliaires dans le bourgeon et la résistance hydraulique du xylème alimentant le bourgeon : plus la résistance est faible plus le nombre de primordia est élevé. Chez le hêtre, le nombre d'ébauches présentes dans un bourgeon détermine non seulement le nombre de feuilles que possédera la future Unité de Croissance (UC) mais également sa morphologie : s'il y a moins de 4 primordia alors la pousse sera courte et ne se ramifiera pas, s'il y a plus de 4 feuilles les entre-nœuds seront allongés et des bourgeons axillaires se développeront. Les variations de conductances hydrauliques sont dues à des variations de la taille et du nombre de vaisseaux et traduisent donc des modulations du fonctionnement des méristèmes secondaires. Les ébauches foliaires dans le bourgeon sont mises en place au cours de la saison de végétation. Nous avons donc pu établir la séquence de développement suivante : au cours de l'année n, la mise en place des ébauches foliaires est corrélée à la croissance secondaire des pousses ; l'année n+1, la croissance primaire des pousses est corrélée au nombre d'ébauches foliaires. Le type d'axe et le nombre de feuilles mis en place une année sont donc corrélés aux conditions de croissance de l'année précédente.

6.3 Impact de l'architecture hydraulique sur la croissance

Les résultats récents que nous avons obtenus suggèrent des relations fortes entre l'architecture hydraulique du xylème et les capacités de croissance des méristèmes. A nouveau, les perspectives de recherche concernent l'identification des mécanismes qui sous-tendent ces relations. Nombre de paramètres physiologiques sont à l'évidence impliqués dans la croissance cambiale ou méristèmatique. Nous éluderons le problème hormonal dans ces recherches (ratio auxine/cytochinine par exemple) car leur étude sort de notre champ de compétence écophysiologique. La difficulté sera donc d'identifier l'implication réelle de l'architecture hydraulique dans ce processus.

La poursuite d'études sur la croissance du hêtre devrait nous apporter des éléments de réponse. Prenons un cas symptomatique, celui du bourgeon apical d'une pousse courte. Dans la majorité des cas le méristème primaire met en place moins de quatre ébauches foliaires et le méristème secondaire ne forme qu'un très faible nombre de vaisseaux. La pousse courte restera courte l'année suivante. Dans certaines situations, la croissance se débloque et les méristèmes mettent en place beaucoup plus d'assises cellulaires ce qui conduira à la formation d'une pousse longue l'année suivante. Quel est le processus physiologique qui

bloque, ou débloque, l'organogenèse dans les bourgeons pendant la phase de végétation ? Estce la

disponibilité locale en assimilats ? Est-ce la disponibilité en eau ou le potentiel hydrique ? Les deux phénomènes sont étroitement corrélés car la croissance secondaire modifie l'architecture hydraulique et donc la disponibilité en eau. Il est probablement possible de découpler expérimentalement les paramètres hydriques des paramètres carbonés (en modulant la quantité et la qualité de lumière recue ou le déficit de saturation de l'air, en modulant l'architecture hydraulique par induction d'embolie ou par diminution de la surface foliaire etc...). La difficulté expérimentale résidera dans la mesure des variables physiologiques conductances pertinentes (potentiel hydrique et ses composantes, hydrauliques, concentrations en sucres) à l'échelle pertinente (celle du méristème apical, celle du cambium, celle des vaisseaux du xylème dans la pousse courte). L'outil isotopique devra également être mis en œuvre. En effet, des mesures préliminaires montrent une signature isotopique pour le ¹³C extrêmement forte entre les ébauches foliaires des bourgeons qui donneront des pousses courtes (-32.5 %) et ceux qui donneront des pousses longues (-29%). Une approche moléculaire pourrait apporter des informations complémentaires dans ces études. L'éventuelle modulation de la perméabilité membranaire par des aquaporines pourrait intervenir sur les potentialités de croissance des méristèmes.

7. ECOLOGIE FONCTIONNELLE

Les perspectives développées jusqu'à maintenant concernent des processus à relativement courts termes, de l'échelle instantanée à un épisode de sécheresse édaphique. Il me semble important d'axer des recherches sur les implications à plus longs termes de l'architecture hydraulique sur le fonctionnement des espèces végétales, sur la dynamique des populations, sur le fonctionnement des communautés végétales etc... C'est que je regroupe sous le terme d' «écologie fonctionnelle». La réponse à ce genre de questions nécessite des travaux et des approches conceptuelles très diverses. Notre apport se limitera à mettre en évidence l'implication éventuelle de l'hydraulique dans ces processus.

7.1 Quel est le compromis de la vulnérabilité à cavitation ?

C'est une question relativement fondamentale qui n'a pas encore été résolue. Nous avons montré que la vulnérabilité du xylème à la cavitation constituait une limite fonctionnelle, limite rapidement atteinte en période de sécheresse. Cette limite semble associée avec une régulation stomatique, et nous avons suggéré que ceci devait représenter un coût pour la plante. Par ailleurs, nous avons établi que la vulnérabilité à la cavitation présentait une variabilité génotypique et phénotypique considérable. Pourquoi alors les plantes ne mettentelles pas en place des tissus conducteurs beaucoup moins vulnérables, ce qui leur permettrait de ne pas atteindre leur limite fonctionnelle et donc d'être plus performantes pendant les épisodes de sécheresse? Si tel n'est pas le cas, cela signifie que la construction d'un tissu conducteur moins vulnérable représente un certain coût, et que ce coût excède l'avantage sélectif que représente de gain associé de résistance à la cavitation. La construction d'un tissu conducteur est donc un compromis entre un degré de vulnérabilité et une autre caractéristique que l'on se doit de définir.

Nous avons clairement montré qu'il n'y a pas de compromis entre l'efficience hydraulique et la vulnérabilité à la cavitation. Mettre en place un xylème moins vulnérable n'induit pas de perte de conductance hydraulique. Une hypothèse récemment émise (Hacke *et al.*, 2001) serait un compromis entre le coût métabolique de construction du xylème et leur vulnérabilité. En effet, ces auteurs ont établi une relation corrélative forte entre la vulnérabilité à la

cavitation et la densité du bois pour un grand nombre d'espèces. Moins le système conducteur est vulnérable, plus l'épaisseur relative des parois est grande. Il y a deux contraintes majeures

pour les conduits du xylème : le risque de cavitation et le risque de collapsus. Le collapsus correspond à l'effondrement des parois lorsque la contrainte mécanique due à la pression hydrostatique négative excède le seuil de résistance mécanique de cette paroi. Les preuves expérimentales d'un risque de collapsus sont rares. On en trouve chez un mutant d'*Arabidopsis* déficient en cellulose dans la paroi secondaire de ses vaisseaux (Turner et Somerville 1997). Nous venons d'en trouver l'occurrence dans le xylème d'aiguilles de pin noir (H Cochard et F Froux, non publié). Les trachéides du xylème d'aiguilles déshydratés sont complètement effondrées, mais ce qui reste de leurs lumens est toujours plein d'eau (si non les forces mécaniques sur les parois seraient relâchées !). Un travail est en cours avec des biomécaniciens (C Coutand, B Moulia et G Jeronimidis) pour calculer la résistance mécanique au collapsus de ce tissu conducteur.

La piste biomécanique me semble assez prometteuse et devra être évaluée en collaboration avec des mécaniciens.

7.2 Quand y a-t-il trop d'embolie ?

Autre question relativement essentielle qui n'a pas été résolue : à partir de quel niveau la perte de fonctionnalité du xylème représente-t-elle une contrainte évolutive ? L'expérience, et la modélisation, montre que le degré d'embolie atteint pendant une sécheresse reste très faible (<10%) tant que la fermeture stomatique a une action sur la chute de pression hydrostatique (quand les stomates sont clos et que le sol continu à se déshydrater l'embolie se développe inéluctablement). Quelle serait l'incidence d'un degré supérieur d'embolie? Pendant un temps l'hypothèse d'un emballement catastrophique de l'embolie avait été émise. On pensait alors que l'emballement se produisait précisément à un seuil très faible d'embolie, et que si ce seuil était dépassé ceci conduisait à la perte des organes alimentés par le tissu conducteur (Tyree et Sperry, 1988). En fait, des modélisations plus réalistes (Sperry, 2000) [36], montrent que l'emballement de l'embolie ne se produit que lorsqu'on atteint des taux d'embolie proche de 100%, il ne se produit pas donc. En d'autres termes, un tissu conducteur peut hydrauliquement maintenir un flux constant quel que soit son degré d'embolie. Le gradient de pression hydrostatique change avec le degré d'embolie bien sûr. L'impact d'une perte de fonctionnalité du xylème sur le fonctionnement stomatique est également probablement faible. Ceci résulte du fait que la résistance vasculaire est faible et que si elle double (50% d'embolie) elle reste encore faible par rapport aux résistances extravasculaires. Nous sommes donc dans la situation ubuesque d'être en phase de montrer que les stomates contrôleraient le développement de l'embolie sans savoir pourquoi ils le feraient ! L'erreur que nous commettons est peut-être de raisonner à court terme. Il est en effet possible que la contrainte évolutive liée à la cavitation ne réside pas dans la perte de fonctionnalité instantanée, pendant la phase de sécheresse, mais dans les arrières effets à plus long terme. En effet, un taux d'embolie, même assez faible, pourrait avoir des conséquences certaines sur la croissance primaire ou secondaire de la plante lorsque l'épisode de sécheresse est passé.

Il me semble donc important de mettre en place des expérimentations, en conditions contrôlées de sécheresse édaphique, afin de tester ces différentes hypothèses. La démarche expérimentale consistera à amener, par déshydratation progressive du sol, des tissus conducteurs à des niveaux d'embolie de plus en plus élevés. Il s'agira alors d'évaluer les conséquences physiologiques en termes de croissance, de fonctionnement hydrique, d'architecture botanique, voire de mortalité, pendant les mois et les années qui suivent la sécheresse. Une telle expérimentation est en cours à Nancy, en collaboration avec T Barigah.

7.3 De la plante vers l'association végétale

On ne peut comprendre l'implication fonctionnelle d'un processus physiologique, sans replacer la plante dans un contexte écologique naturel. Les questions à la clé de ces recherches concernent l'autécologie des espèces, la compréhension de leur chorologie, des associations végétales et de la dynamique de ces associations. La description taxonomique et écologique des associations végétales a fait l'objet de très nombreux travaux. Ces études phytosociologiques mettent clairement en évidence des cortèges d'espèces que l'on retrouve dans des habitats spécifiques. Les bases physiologiques qui sous tendent ces associations me semblent peu connues. Si l'architecture hydraulique est un processus fortement impliqué dans le déterminisme de la résistance à la sécheresse et la croissance des méristèmes, alors on peut reconnaître dans caractéristiques un trait fonctionnel écologiquement signifiant. On peut alors ces raisonnablement entreprendre des travaux sur ce thème, non plus à l'échelle de la plante individuelle, mais à celle de l'association végétale. Un certain nombre de questions viennent rapidement à l'esprit : les espèces d'une association végétale ont-elles les mêmes vulnérabilités à la cavitation ? Si non, en quels termes leur réponse physiologique à la sécheresse diffère-t-elle ? La variabilité des fonctionnements hydriques correspond-elle à l'occupation de niches écologiques différentes ? Est-ce que les dynamiques de végétations, et de comportements physiologiques qui vont avec, accompagnent les modifications pédo-climatiques stationnelles ? (espèces pionnières vers espèces longévives, héliophiles vers sciaphiles etc ...)

Notre champ d'action devra se restreindre à des milieux ou la contrainte hydrique est, à priori, la plus limitante car c'est là que les caractéristiques hydrauliques auront le plus de poids d'un point de vue fonctionnel. Ces études devront expliciter les relations entre le fonctionnement hydraulique et les facteurs de l'environnement et feront donc appel à des recherches sur la variabilité phénotypique de ces propriétés. Elles devront également analyser les compétitions interspécifiques pour les ressources du milieu (eau bien évidemment, mais aussi lumière) et la façon dont cette compétition intervient sur la distribution des espèces. En effet, un contrôle stomatique de l'embolie pour une plante ne sera effectif que si les autres individus de la même espèce, ou les individus d'autres espèces optent pour des comportements compatibles. Prenons par exemple le cas d'une espèce avant un comportement évitant, c'est à dire plutôt vulnérable à la cavitation et fermant précocement ses stomates lors d'une sécheresse. Si cet individu est entouré d'espèces au comportement tolérant (peu vulnérables, fermant leurs stomates plus tardivement) elles vont immanguablement épuiser la ressource en eau du sol et ainsi provoquer l'embolisation du système vasculaire de l'espèce évitante. Ces études pourront donc objectiver un certain nombre de comportements incompatibles et ainsi mieux comprendre l'association d'espèces entre elles. Des études sont en cours sur cette thématique en collaboration avec le CEMAGREF de Clermont-Ferrand. Nous analyserons la compétition pour l'eau entre des arbres et une strate herbacée.

8. MODÉLISATION

L'étude de l'architecture hydraulique et de son implication dans le fonctionnement des plantes est finalement assez complexe car elle nécessite une intégration spatio-temporelle des caractéristiques hydrauliques et la prise en compte d'autres processus physiologiques. On ne peut raisonnablement comprendre cette complexité qu'en faisant appel à des modèles d'intégration de ces processus. L'étape de modélisation est donc nécessaire. C'est également un enjeu collectif pour notre UMR-PIAF dont l'une des raisons d'être est l'intégration physiologique. On se doit avant toute chose de répondre à une question essentielle :
8.1 Un modèle pour quoi faire ?

Le développement d'un modèle peut répondre à des besoins finalisés ou cognitifs, mais l'un ne va pas sans l'autre. En ce qui concerne l'architecture hydraulique, les apports finalisés de cette discipline peuvent concerner la prédiction de la consommation en eau des plantes sous contrainte hydrique ou la prédiction de leur croissance. Des sorties possibles sont également envisageables au niveau du fonctionnement des écosystèmes et de leurs évolutions en fonction des conditions environnementales présentes ou futures. Il est également judicieux de développer des modèles mécanistes de fonctionnement intégrant différents processus physiologiques. Ce type de modèle, qui dans un premier temps semble plutôt cognitif, pourrait remplir des objectifs plus finalisés d'évaluation de matériels génétiques transformés pour certaines fonctions.

8.2 Un modèle prédictif de la transpiration foliaire

Les relations, causales ou corrélatives, entre les fonctionnements hydrauliques et stomatiques peuvent fournir une base conceptuelle pour la modélisation de la transpiration foliaire. En effet, connaissant les courbes de vulnérabilité du xylème et la distribution des résistances hydrauliques, on peut calculer la transpiration maximale théorique qui remplisse le fait expérimental suivant : le degré d'embolie doit rester inférieur à 10%. Un tel modèle a été développé par Sperry (2000) et est en cours de développement au PIAF (modèle RER). L'intérêt de ce modèle est de le coupler à un modèle microclimatique de prédiction de la transpiration (tel le modèle RATP) de façon à définir les facteurs limitants la transpiration selon les conditions environnementales. Compte tenu de ce que nous connaissons du fonctionnement hydraulique des plantes, on peut préciser, a priori, les paramètres les plus sensibles de ce modèle. Une description précise et spatialisée de la vulnérabilité des différents organes me semble un point essentiel. Nos travaux sur hêtre suggèrent que des variations de seuils de vulnérabilité entre les différentes branches d'un houppier puissent rendre compte de comportements stomatiques contrastés entre ces branches pendant une sécheresse. Il sera nécessaire d'établir des relations empiriques entre les seuils de vulnérabilités et le niveau d'irradiance reçu par les feuilles. De même, la prise en compte du type botanique d'axe pourrait être pertinente (rameaux courts versus rameaux longs). En revanche, on peut se demander s'il est nécessaire de spatialiser finement (à l'échelle du métamère par exemple) la distribution des résistances hydrauliques dans l'arbre, de définir son architecture hydraulique donc. En effet, nous savons que les résistances sont principalement extravasculaires et nous avons émis l'hypothèse que le poids de l'architecture hydraulique dans la réponse des stomates devait être faible. Une description plus grossière des résistances hydrauliques, à l'échelle de la branche par exemple, pourrait être une information suffisante. L'hypothèse pourra être testée par ce modèle. Un point délicat et critique du modèle sera la prise en compte des caractéristiques hydrauliques du sol. Nous savons en effet que la résistance hydraulique du sol varie considérablement plus que les résistances dans la plante pendant une sécheresse. Il est donc impérieux d'établir des relations entre la teneur en eau du sol, ou son potentiel hydrique, et sa résistance hydraulique. Deux approches sont possibles : une approche corrélative et empirique établie sur des arbres particuliers dans une situation écologique particulière; ou une approche mécaniste prenant explicitement en compte les propriétés hydrauliques du sol en fonction de sa structure et de sa texture. Cette deuxième approche est à l'évidence plus générique que la première et pourrait être développée conjointement avec des hydrauliciens du sol (Claude Doussan, INRA Avignon par exemple).

8.3 Un modèle mécaniste de la croissance primaire et secondaire

De façon très similaire à la précédente, les relations, causales ou corrélatives, entre les caractéristiques hydrauliques et les capacités de croissance peuvent fournir une base conceptuelle pour la modélisation de celle-ci. L'idée serait de faire intervenir le potentiel hydrique de façon explicite dans la notion de force de puits des organes en croissance. L'objectif premier de ce modèle sera la modélisation de la croissance dans des conditions hydriques optimales. Contrairement au modèle précédent, le poids de l'architecture hydraulique sera probablement très fort dans cette approche. On devra alors se donner les moyens de restituer, de façon aussi précise que possible, la distribution des résistances hydrauliques dans la plante. Les résistances pertinentes seront celles qui se situent en amont du tissu en croissance, celles dans le xylème et dans le système racinaire donc. Cette approche purement hydraulique ne servira qu'à définir une force de puits instantanée, la potentialité de croissance du méristème, ce qui constitue déjà une étape importante et un objectif en soi. Mais cela n'est pas suffisant pour modéliser la croissance d'une plante. Il sera donc nécessaire de coupler à ce modèle hydraulique, un modèle d'acquisition et de distribution des assimilats, de gestion des ressources carbonées pour alimenter la croissance des méristèmes. Ce modèle, nettement plus ambitieux, sera l'un des objectifs de modélisation de l'équipe INCA du PIAF.

8.4 Un modèle à l'échelle de la parcelle

Enfin, dans l'objectif de comprendre les interactions interspécifiques pour la ressource en eau au niveau d'une association végétale, il sera également opportun de développer un modèle à cette échelle. L'objectif du modèle sera de quantifier la contrainte hydrique pour les différents individus de l'association en fonction de leur réponse à la contrainte hydrique et en fonction de leur accessibilité à la ressource en eau. Le degré de contrainte hydrique pourra alors servir de base pour une prédiction d'un degré d'embolie induit par la sécheresse, ou d'un déficit de croissance. Ce modèle, devra à l'évidence bénéficier du développement des modèles précédents.

9. RÉFÉRENCES CITÉES

- ALDER NN, SPERRY JS, POCKMAN WT 1996. Root and stem xylem embolism, stomatal conductance and leaf turgor in *Acer grandidentatum* populations along a soil moisture gradient. Oecologia 105, 293-301
- HACKE UG, SPERRY JS, POCKMAN WT, DAVIS SD, MCCULLOH K 2001. Trends in wood density and structure are linked to prevention of xylem implosion by negative pressure. Oecologia 126, 457-461
- HOLBROOK NM, ZWIENIECKI MA 1999. Embolism repair and xylem tension. Do we need a miracle ? Plant Physiology 120, 7-10
- HOLBROOK NM, AHRENS ET, BURNS MJ, ZWIENIECKI MA 2001. In vivo observation of cavitation and embolism repair using magnetic resonance imaging. Plant Physiology 126, 27-31
- LADJAL M. 2001. Variabilité de l'adaptation à la sécheresse des cèdres méditerranéens (*Cedrus atlantica*, *C. brevifolia* et *C.libani*), aspects écophysiologiques. Thèse de Doctorat de Biologie forestière de l'Université Nancy I.
- LEMOINE D, PELTIER JP, MARIGO G 2001. Comparative studies of the water relations and the hydraulic characteristics in *Fraxinus excelsior, Acer pseudoplatanus* and *A. opalus* trees under soil water contrasted conditions. Annals of Forest Science 58, 723-731

SPERRY JS 1985. Xylem embolism in the palm Rhapis excelsa IAWA Bulletin 6, 283-292

- SPERRY JS 1986. Relationship of xylem embolism to xylem pressure potential, stomatal closure, and shoot morphology in the palm *Rhapis excelsa*. Plant Physiology 80, 110-116
- SPERRY JS, PERRY AH, SULLIVAN JEM 1991. Pit membrane degradation and air-embolism formation in ageing xylem vessels of *Populus tremuloides* Michx. Journal of Experimental Botany 42, 1399-1406
- SPERRY JS 2000. Hydraulic constraints on plant gas exchange. Agr Forest Meteorol 104, 13-23
- TARDIEU F, ZHANG J, KATERJI N, BETHENOD O, PALMER S, DAVIES WJ 1992. Xylem ABA controls the stomatal conductance of field-grown maize subjected to soil compaction or soil drying. Plant, Cell and Environment 15, 193-197
- TURNER SR, SOMERVILLE CR 1997. Collapsed xylem phenotype of *Arabidopsis* identifies mutants deficient in cellulose deposition in the secondary cell wall. Plant Cell 9, 689-701
- TYREE MT, SPERRY JS 1988. Do woody plants operate near the point of catastrophic xylem dysfunction caused by dynamic water stress ? Answers from a model. Plant Physiology 88, 574-580
- ZWIENIECKI MA, MELCHER PJ, HOLBROOK NM 2001. Hydrogel control of xylem hydraulic resistance in plants. Science 291, 1059-1062

Effets interactifs de la mycorhization et de la sécheresse sur la conductance hydraulique racinaire du pin maritime

Marie Béatrice Bogeat-Triboulot, François Bartoli & Denis Tagu

UMR EEF, CPB & UMR IaM

Quel est le rôle des mycorhizes dans le potentiel d'absorption de l'eau par les racines ? Ont-elle un effet bénéfique en cas de sécheresse?



Les champignons dits <u>hydrophobes</u> auraient une meilleure résistance à la sécheresse. Les cordons (typiques de ce type de champignons) sont capables de 'traverser' des zones sèches et, lorsqu'ils abordent une poche plus humide, de développer des hyphes capteurs d'eau, permettant ainsi d'améliorer la survie de la colonie mycélienne. Les conséquences pour les mycorhizes et le végétal ne sont pas bien connues. Les champignons dits <u>hydrophiles</u> puiseraient l'eau dans des zones proches de la racine grâce à un mycélium diffus et seraient moins résistants aux phases de sécheresse.





La mesure de la résistance au transfert hydrique par le rapport entre le flux de transpiration et le gradient de potentiel hydrique (entre la source et la feuille) intègre les résistances du sol, de l'interface sol-racine et de la plante entière. Le fluxmètre permet une mesure de la résistance hydraulique du système racinaire et de la partie aérienne. Par différence entre les valeurs obtenues par ces deux méthodes, on peut avoir accès à la <u>résistance hydraulique du sol et de l'interface sol-racine</u>.

Attention cependant, le HPFM mesure la résistance minimum (les hautes pression re-saturent les vaisseaux éventuellement embolisés) alors que la méthode par le flux de transpiration mesure la résistance *in situ*. Le faible degré de stress hydrique imposé dans cette expérience ne devrait pas avoir entraîné de phénomène de cavitation.



La taille des plants n'a pas permis de mesurer le potentiel hydrique des plants via une 'feuille' (chambre à pression) car ceux-ci n'avaient encore que des euphylles. Le projet à été recentré sur <u>les effets interactifs de la mycorhization et d'une sécheresse sur les propriétés hydrauliques du système racinaire</u>.







Le potentiel hydrique de base reste élevé de la capacité au champ (~25% humidité volumique) jusqu'à 2% HV. Il chut drastiquement ensuite quand HV descend sous le seuil de 2%.



La sécheresse a consisté à maintenir l'humidité volumique du sol entre 1 et 3 % pendant environ 3 semaines. Les mesures de conductance hydraulique ont été effectuées la dernière semaine.



L'application de la pression jusqu'à 0.5 MPa re-sature les vaisseaux et c'est une conductance hydraulique maximum qui est mesurée.



L'application d'un stress hydrique au cours du dernier mois de croissance n'a pas affecté le statut mycorhizien des différents traitements. La pollution par *Thelephora* et *Laccaria* a réduit le dispositif à : i) deux traitements quasi-identiques A et B colonisés à \sim 40% par les

champignons hydrophiles *Hebeloma* et *Laccaria* et ~60% par le champignon hydrophobe *Telephora* et ii) le traitement C colonisé à 75% par *Hebeloma* et 25% par *Telephora*.



Ni le statut mycorhizien ni la sécheresse n'ont affecté la biomasse totale. Par contre, la forte contribution relative de *Hebeloma* à la mycorhization (traitement C) est associée à une allocation plus en faveur de la partie aérienne et donc à un R/S plus faible.





La conductance hydraulique du système racinaire ramenée à la surface racinaire (la <u>conductivité hydraulique racinaire</u>) mesure la "perméabilité" des racines à l'eau. L'association des racines à un champignon hydrophile semble induire une meilleure conductivité hydraulique du système racinaire. Cependant l'application d'une sécheresse annule quasiment ce gain de conductivité.

La conductance hydraulique du système racinaire ramenée à la surface foliaire (la conductivité hydraulique racinaire spécifique foliaire) mesure l'adéquation entre le potentiel d'absorption des racines et la demande transpiratoire potentielle. Le statut mycorhizien n'a pas d'effet sur k_r/SF : la meilleure capacité d'absorption des racines (k_r/SR) est accompagnée d'une allocation de biomasse en faveur des feuilles.



Les champignons mycorhiziens à mycélium diffus semblent plus efficaces pour piéger les particules de sables que ceux à cordons. D'autre part, la sécheresse réduit ce pouvoir d'accrochage du sol par le système rainaire (au sens large, racines + champignon), peut-être en tuant le mycélium extra-mycorhizien.







Une mycorhization massive par Hébélome a favorisé le potentiel d'absorption de l'eau par le système racinaire par rapport aux plants mycorhizés principalement par d'autres champignons. Il s'agit ici bien de la conductivité hydraulique du système racinaire et non de l'interface solracine (pas prise en compte avec la mesure au HPFM). Il se pourrait que le mycélium hydrophile, très diffus en périphérie des racines, ait contribué à augmenter k_r/SR en

augmentant la surface d'échange par rapport à la surface réelle des racines (qui est prise en compte pour le calcul de k_r/SR). Cette hypothèse reste à confirmer ...

La sécheresse annule l'effet bénéfique de la mycorhization par Hébélome sur k_r /SR. Si le mycélium extra-mycorhize, qui a pu contribuer à augmenter la surface d'échange, a été tué par le dessèchement du sol, cette observation va dans le sens de l'hypothèse précédente.

L'absence de différence de k_r/SF entre les traitements mycorhiziens montre que l'allocation de biomasse a été régulée de façon à maintenir la demande transpiratoire (c'est-à-dire la surface foliaire) en rapport avec le pouvoir d'absorption d'eau des racines. La réduction de k_r/SF par la sécheresse alors que le rapport R/S n'est pas affecté illustre que l'acclimatation n'est pas encore réalisée. En effet lorsque le potentiel d'absorption diminue, le rapport R/S augmente (souvent observé lors de l'application d'une sécheresse édaphique) et K_r/SF revient à une valeur proche des plants témoins.

Impacts du conditionnement en lumière sur la croissance et l'architecture hydraulique de semis de frêne et de chêne en régénération

Barigah T, Bogard A & Dreyer E

Collaboration technique : Gross P. et Collin M.

Unité Mixte de Recherches INRA-UHP Ecologie et Ecophysiologie Forestières, Centre INRA Nancy, F 54280 Champenoux

Remerciements

Bogeat-Triboulot MB., Desjeunes I., Maillard P.

Clerc B., Gioria J-M., Willm F., Ibrahim T.

La quantité de lumière disponible pour une essence forestière est déterminante pour sa croissance, sa survie, son implantation et sa reproduction. De plus, la croissance en biomasse d'une plante s'accompagne entre autre de la mise en place de structures vasculaires lui permettant de véhiculer les substances dissoutes dans l'eau et nécessaires à son métabolisme. De nombreux travaux (Pallardy, 1989 ; Nilsen et Orcutt, 1996 ; Tyree et Ewers, 1991, 1996 ; Tyree 1999) ont souligné l'importance de l'organisation du système hydraulique des plantes dans les échanges gazeux avec l'atmosphère. Ce système hydraulique tout en étant très performant dans le transport de la sève reste cependant fragile (Tyree et Sperry, 1988, 1989 ; Cochard, 1994 ; Cruiziat, 1994). Ces caractéristiques (performance et fragilité) varient non seulement en fonction de l'espèce mais aussi en fonction des conditions climatiques. Un des buts de ces travaux est de comprendre les mécanismes de fonctionnement et de régulation de systèmes aussi fragiles.

Le travail réalisé lors de ce stage entre dans le cadre de l'étude des impacts du conditionnement en lumière sur la croissance et l'architecture hydraulique d'espèces tempérées de couverts forestiers hétérogènes ; l'architecture hydraulique étant l'ensemble des structures et caractéristiques permettant le transport de l'eau dans la plante. Les objectifs de ce travail étaient :

1 - de déterminer la répartition des résistances au transport de l'eau dans les différents compartiments (aérien et souterrain) et entre les organes (tige, feuille, pétiole, limbe) de jeunes plants de 6 espèces ligneuses à exigences écologiques contrastées afin de comprendre certains mécanismes de la régénération et de l'installation des peuplements forestiers

2 - d'estimer les effets du conditionnement en lumière sur la distribution des résistances hydrauliques dans la plante

3 - de déterminer si les réponses des plantes sont espèce dépendante ou écologie dépendante (ici le régime lumineux de croissance).

1. APPROCHES

La méthodologie utilisée repose pour l'essentiel sur les moyens permettant de mesurer des flux d'eau à travers des compartiments et/ou à travers des organes à l'aide d'un fluxmètre (HPFM, High Pressure Flow-Meter, Tyree et *al.*, 1994, 1995, 1998) à hautes pressions pour mesurer de la conductance hydraulique (K_h, kg s⁻¹MPa⁻¹). Pour cela, on perfuse les compartiments aériens et/ou souterrains d'une plante en mesurant simultanément la pression (P, MPa) de l'eau et le flux (F, kg s⁻¹) d'eau généré dans l'organe ou dans le compartiment.

Le HPFM permet de déterminer la conductance hydraulique selon deux régimes: le régime quasi constant et le régime dynamique.

En régime quasi constant, le compartiment en mesure est perfusé sous une pression constante de 0.3 MPa avec de l'eau ultra pure, dégazée jusqu'à ce que le flux d'eau résultant devienne stable et que des gouttelettes d'eau s'échappent des feuilles. Les résistances hydrauliques dans la tige feuillée, la tige feuillée sans limbe foliaire puis dans la tige sans pétiole sont successivement mesurées. Les résistances hydrauliques du limbe foliaire, des pétioles, des feuilles peuvent être déduites par soustraction des données ainsi recueillies.

$\mathbf{R}_{rameau} = \mathbf{R}_{limbes} + \mathbf{R}_{pétioles} + \mathbf{R}_{tige seule}$

En régime dynamique, on fait varier rapidement la pression de l'eau de 0 à 0.5 MPa par pas de 5 kPa s⁻¹. Les données de pression et de flux d'eau résultants sont enregistrées toutes les 3 secondes. Ce mode est utilisé pour les systèmes racinaires.

La résistance hydraulique totale d'un plant est calculée en additionnant la valeur de résistance de la tige feuillée à celle de la partie racinaire.

$$\mathbf{R}_{\text{totale}} = \mathbf{R}_{\text{tige feuillée}} + \mathbf{R}_{\text{racines}}$$

2. MATÉRIEL VÉGÉTAL

Les travaux ont porté sur des semis âgés de 1 à 2 ans de 6 espèces d'arbres de forêts tempérées (*Acer pseudoplatanus*; *Betula pendula*; *Fagus sylvatica*; *Fraxinus excelsior*; *Quercus petreae* et *Quercus robur*). Ces semis ont été cultivés dans des pots de 10 litres contenant un mélange de sable (2/3) et de tourbe (1/3) auquel 40g de nutricote NPK (13-13-13) ont été apportés en début de chaque saison de végétation. Les conditions d'alimentation en eau étaient optimales et assurées par un système d'irrigation automatique (goutte à goutte). Des traitements phytosanitaires ont été appliqués afin de lutter contre des attaques massives d'oïdium, de rouille, de limaces et de chenilles. Les plants étaient placés sous des ombrières en polyéthylène aluminisé ayant permis de créer un environnement lumineux de 39 %, 22% et 11% du rayonnement global (plein découvert).

3. RÉSULTATS

Les principaux résultats obtenus sont :

1- une croissance en surface foliaire et en biomasse liée aux régimes lumineux auxquels les plants étaient soumis avec une très faible croissance des plants cultivés à 8% 2- une inégale répartition des résistances hydrauliques dans la plante avec au moins 60% de la résistance hydraulique totale se trouvant dans le compartiment racinaire quelque soit l'espèce étudiée et le régime lumineux considéré

- 3- une répartition des résistances hydrauliques et des réponses des plants aux conditions d'éclairement de croissance espèce dépendante. Par exemple, la résistance hydraulique du système racinaire (Rhr) des plants de *Quercus petreae* représente 95% de la résistance totale à 11% du plein découvert et de 40% à 39% du plein découvert alors que cette Rhr est de 75% à 11% du plein découvert et de 75% du plein découvert chez *Quercus robur*
- 4- une inégale répartition des résistances hydrauliques dans les organes du compartiment aérien et une variation en fonction du niveau d'éclairement auquel les plants ont été soumis. Globalement, la résistance hydraulique du limbe augmente lorsque le niveau d'éclairement de croissance passe de 11% à 39% du plein découvert
- 5- une tendance à avoir une conductance spécifique foliaire (capacités des plants à soutenir le flux transpiratoire) élevée chez les espèces comme *Quercus petreae* et *Quercus robur* tandis que les plants de *Fraxinus excelsio*r (âgés d'un an) seraient indifférents au facteur lumineux

4. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les résultats préliminaires de nos travaux ont révélé très clairement des différences à la fois intrinsèques (distribution des résistances hydrauliques dans la plante) et extrinsèques (réponses aux conditions de croissance) d'architecture hydraulique entre les espèces étudiées durant leur phase initiale de croissance et d'installation.

Les données collectées ont permis conforter les connaissances acquises sur la plasticité phénotypique de l'architecture hydraulique due aux conditions lumineuses de croissance des plants. Des phénomènes d'inversion de tendance de répartition des résistances hydrauliques en réponse au régime lumineux de croissance des plants d'*Acer pseudoplatanus* et de *Fraxinus excelsior* ayant été observés, il conviendrait d'approfondir ces observations en prenant en compte l'effet de l'âge des plants et de la dynamique saisonnière sur le fonctionnement hydraulique des espèces retenues

5. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

COCHARD H., 1994 – Embolie hivernale et estivale : données actuelles et mécanismes explicatifs. In 'l'eau dans la vie de l'arbre', pp 67-97. Acte du séminaire du Groupe d'Etude de l'Arbre, Clermont-Theix, 14-15 avril 1994.

CRUIZIAT P., 1994 – L'architecture hydraulique des arbres : une introduction. In 'l'eau dans la vie de l'arbre', pp 39-65. Acte du séminaire du Groupe d'Etude de l'Arbre, Clermont-Theix, 14-15 avril 1994.

NILSEN ET., ORCUTT DM. 1996 – Physiology of plants under stress. John Wiley & Sons Inc, New York.

PALLARDY SG. 1989 – Hydraulic architecture and conductivity : an overview. In : Structural and functional responses to environmental stresses (Eds KH. Kreeb, H. Richter, TM Hynckley), pp 3-19. SPB Academic Publishing bv, The Hague, The Netherlands.

TYREE MT., 1999 – Water relations and Hydraulic architecture. In Handbook of functional plant ecology (Eds. FI. Pugnaire & F Valladares), pp. 221-268. Marcel Dekker, Inc., New York.

TYREE MT., SPERRY JS. 1988 – Do woody plants operate near the point of catastrophic xylem dysfunction caused by dynamic water stress ?: Answer from a model. Plant Physiol., 88 : 574-580.

TYREE MT., SPERRY JS. 1989 – Vulnerability of xylem to cavitation and embolism. Annu. Rev. Plant Phys. Mol. Bio., 40 : 19-38.

TYREE MT., EWERS FW. 1991 – The hydraulic architecture of trees and other woody plants. New Phytologist, 119 : 345-360.

TYREE MT., YANG S., CRUIZIAT P., SINCLAIR B. 1994 – Novel methods of measuring hydraulic conductivity of tree root systems and interpretation using AMAIZED. Plant Physiol., 104 : 189-199.

TYREE MT., PATIÑO S., BENNINK J., ALEXANDER J. 1995 – Dynamic measurements of root hydraulic conductance using a high-pressure flowmeter in the laboratory and field. J. Exp. Bot., 46 : 83-94.

TYREE MT., EWERS FW. 1996 – Hydraulic architecture of woody tropical plants. In Tropical forest plant ecophysiology (Eds SS. Mulkey, RD. Chazdon & AP. Smith), pp. 217-243. Chapman and Hall, New York.

TYREE MT., VELEZ V., DALLING JW. 1998 – Root and shoot hydraulic growth dynamics in five neotropical seedlings of differing light requirements scaling to show ecotype differences. Oecologia, 114 : 293-298.



Diapositive 3













Diapositive 5

	,,,,,,,,
One year old Frazinus excelsion seedings	Two year old Quercus robur seedlings
toot Estem peticle Elamina	Troot Esten Opeticle Clamina
Distribution of hydraulic resistance in seedlings of 3 temperate tree species	
een Inga	



Diapositive 6





Is Cavitation Important to the Ecophysiology of Plants ?

(Summary of an oral presentation : Lusignan, France, 28 March 2002)

by

Mel Tyree

USDA Forest Service PO Box 968 Burlington, Vermont 05402 USA <u>mtyree@fs.fed.us</u>

Let us start out with an ecological hypothesis :



Figure 1

In order to evaluate the truth of this hypothesis we have to learn more about drought resistance. What are the mechanisms of drought resistance? Drought resistance can be defined in terms of a number of measurable quantities some of which confer <u>desiccation avoidance</u> and others of which confer <u>desiccation tolerance</u> mechanisms.



Desiccation avoidance can be promoted by stomatal closure with the early onset of low water potentials and by low cuticular conductance to reduce residual water loss when stomates and closed. Deep rooted plants delay water stress by taping deep water reserves deep in the soil. Osmotic adjustments, i.e., reduced osmotic potential, will allow plants to extract more water from drying soil while maintaining high turgor pressure. And water storage can delay desiccation especially after stomates have closed.

Desiccation tolerance is promoted by reduced vulnerability to cavitation and by the ability of cells to remain alive at low water contents. Vulnerability to cavitation can be quantified by the water potential at 50% loss of hydraulic conductance of stems and lethal leaf water potential or water contents that cause 50% mortality of plants.

One major problem with the concept of drought resistance is that there is no objective quantitative measure of drought resistance available even through we can measure quantitative values of its putative components. Although we can measure electrical resistance and hydraulic resistance, we cannot attach a number to drought resistance. This makes it difficult to come up with models that measure the relative importance of the components of drought resistance listed above to the total drought resistance of a plant.

However it is worth pointing out that both mechanism of desiccation avoidance and desiccation tolerance are highly successful adaptations.



CAM plants have solved the problem of maintaining relatively high carbon gain with minimum water loss by opening stomates to accumulate carbon and fixing them to organic acids at night when water loss is minimum. Then during the day stomates are closed and cutictular conductance is low but photosynthesis proceeds through the conversion of organic acid back to CO_2 . Many of these species can survive for more than a year without water.

Resurrection plants, of which more than 200 species are known, are capable of complete desiccation without death of tissues. The vessels become 100% embolised, the leaves become dry, brown, brittle and shriveled but return to life when re-exposed to water. These species can survive in this state for years.

So when I ask in the title of this talk "Is cavitation important to the ecophysiology of plants" we must admit that for many species it is not! But we think cavitation could be important at least some of the time (see below).

To improve some of our understanding of drought resistance and its importance to ecophysiology of plants we are doing research in central Panama. Why do we choose central Panama? First there is high species diversity. I work with others at Barro Colorado Island (BCI) which is an ecological field station of about 10 km² area and in BCI there are more species of plants growing than in all of North America! Secondly there is reason to believe that plants on BCI are well adapted to periodic drought.



For the first 100 days of each year the weekly average rainfall is quite low and on many days less than 3 mm of rain falls in a day. Seedlings in the understory of a mature forest receive no moisture during small rainfall events (< 3 mm) because all of the rain is intercepted by the leaves and evaporates from leaves of mature trees before it ever reaches the ground. Based on 71 years of data the number of times that 20 to 70 days have elapsed without rain reaching the ground is quite large.

Our objectives in Panama are to study the drought physiology of seedlings because they are the most vulnerable to the effects of drought because they are small and cannot compete well with adult trees for nutrient and water resources. But before we go into details of our experiments I would like to review why we think cavitation might be related to drought resistance.



Figure 5 shows a normal *Psychotria* plant next to a severely wilted plant. The severely wilted plant would return to the normal state if watered. But at this level of water stress more than half of the stem hydraulic conductance would be interrupted by embolisms. The photos to the right show *Thuja* stems subjected to a similar level of wilting and the impact of the water stress on water movement as demonstrated by the pattern of perfusion of dye in stressed (banded dye pattern) and unstressed (uniform dye pattern) stem. Air bubbles are visible in xylem conduits in the radial sections illustrated.

A vulnerability curve is a plot of loss of hydraulic conductance versus the water stress that induces the loss. The typical range of curves is illustrated in Fig. 6 below.



Some species loose >90 % of stem hydraulic conductance by -2 MPa whereas others persist in water conduction down to -13 MPa. Vulnerability curves of over 100 species are now known and there is generally a good correlation with the 'resistance' to cavitation of a plant and the aridity of the environment in which it grows.



The reason we think cavitation may be of physiological importance is that cavitations are followed quickly by embolisms, i.e., air bubbles in vessels, and once air enters very unusual conditions must obtain for long times for embolisms to reverse. In Figure 7 we show the gradual recovery of hydraulic conductance in *Acer* stem segments. The xylem water pressure must be slightly above atmospheric pressure for 120 hrs for embolisms to dissolve in stems 5 mm in diameter. This recovery process is easily halted or reversed when pressures become just -6 kPa below atmospheric pressure. Plants rarely have positive pressure in xylem water for long periods, so it is argued that once cavitations interrupt water transport it is unlikely to recover and it is assumed will embolism result in the death of plants. However, no one has ever tested this hypothesis until recently.



A preliminary test is shown in Figure 8. Bettina Engelbrecht looked at the effect of drought on water potential and survivorship in *Ochroma* seedlings. Batches of seedlings were dehydrated to different water potentials (measured with a thermocouple psychrometer) and rewatered to check for survivorship. Vulnerability curves on adult *Ochroma* branches shows 100% loss of hydraulic conductance by -2 MPa but plants hand to get to -5 MPa for 50% probability of death! So what does this mean? Are *Ochroma* seedlings less vulnerable to cavitation than adults or are embolisms easily removed in seedlings upon rewatering? Or is the death of leaf tissue not the inevitable consequence of embolism? In order to answer these questions reliably we feel a more serious attempt has to be made to define and measure drought resistance and to relate it to its components of desiccation avoidance and desiccation tolerance. Accordingly our long term research objectives are :

- First rank relative drought resistance of many species
- Second quantify the desiccation tolerance of the same species
- Third quantify the desiccation avoidance of the same species
- Model how First depends on Second & Third

Our initial objective was to put a large number of species of seedlings through a simultaneous drought cycle and monitor responses in terms of (1) visual wilting stages, (2) gain or loss of leaf area and (3) survivorship of droughted versus control plants. Our initial approach was to grow seedlings of forest species in the understory of the same forests they would germinate in, but grown in long-narrow pots under rain exclusion tents (Figure 9) but this approach failed because after 1 year still many plants remained unwilted in non-irrigated treatments. We realized that the extraction of water from the forest floor is controlled

primarily by the evaporation rate from the adult trees rather than from the evaporation rate from seedlings. Our objective was to impose wilting, reduced growth and reduced survivorship in the time-frame of a normal dry season, i.e., 20 to 24 weeks. This was achieved by growing plants in rain exclusion tents in the forest understory (Figure 10).

We had 30 control (irrigated) plots and 30 rain exclusion (drought) plots. Twenty eight species were studied and one seedling of each species was planted in each plot. Seedlings were germinated in greenhouses when they would normally germinate in nature and were transplanted to the study plots in the last 6 weeks of the rainy season.



Figure 9



Figure 10

Upon the natural onset of the dry season each leaf was numbered and leaf area estimated by measurement of length and width of each leaf. Then every two weeks a survey is done of (1) wilting stage of every leaf, (2) leaf growth or loss, (3) survivorship of seedlings.



Some typical survivorship data are shown in Figure 11. This represents the range of response we had. In some species there was >96% survivorship in both wet and dry treatment. In others there was considerable mortality in both treatments; in the case of *Andira* wet mortality was due to an insect the feed on that species only. In the case of *Virola*, which has low drought tolerance, there is very low survivorship in drought treatments but good survivorship in wet controls.

Relative drought performance can then be ranked by computing difference in survivorship between the wet (S_w) minus dry (S_d) treatments at 22 weeks. Since more than just drought influenced survivorship it is best to call this an index of drought performance. If only drought stress were involved we could fairly call it an index of drought resistance, i.e., a quantitative measure of drought resistance (Figure 12). An alternative index of drought resistance might be gained by factoring out death by other stresses in an index given by $(S_W-S_d)/S_w$ (data not shown), but the ranking is very similar except for 2 out of the 28 species.







A different index of drought performance can be obtained by reference to differences in leaf growth in the 22 week period. In Figure 13 we account for relative leaf growth rate of only survivors. But a strong case could be made that we should include -100% growth rates on individuals that die since we include -99% growth rates on those that do survive. A different ranking results in this case. But both rankings of drought performance based on growth do not agree with the ranking based on survivorship. This should not surprise us because many species we studied are partly or totally drought deciduous, i.e., droughted plants can suffer a -100% leaf-growth rate because all leaves are shed but the plant survives. So drought performance based on growth of leaves should not correlate with drought performance based on survivorship.

Now that we have a quantitative ranking we can start to look at desiccation tolerance of species selected from this ranking. Below are preliminary results for two species that rank # 9 and #10 based on survivorship, i.e., *Licania* and *Pouteria*. Figures 14 and 15 show the visual wilt stages of these two species. In field trials both species survived the 'nearly dead' stage in which all leaves had died but meristems were still alive; but in our greenhouse trials the severely wilted and nearly dead stages in *Pouteria* also died because of an opportunistic mold that attacked the meristems.

In our experiments we measured leaf water content and leaf water potential from leaf punches 5.6 mm diameter at the visual wilt stages shown in Figures 14 and 15. We also measured stem hydraulic conductance (with leaves removed) of the whole shoots using a vacuum chamber method. We also used the HPFM to measure residual loss of hydraulic conductance of root systems within 20 minutes of rewatering soils to saturation.



Figure14





Figure 16



Leaf water potentials Ψ frequently fell below the measuring range of thermocouple psychrometers (< -7 MPa), but Ψ values could be extrapolated by standard isotherm analysis from leaf water contents per unit dry weight. Figure 16 B for *Licania* compares extrapolated values (solid bars) to uncorrected values (open bars). When samples became too dry the psychrometer read values that were not negative enough. Plants did not die until Ψ values got as low as -7 MPa in *Licania* and -11 to -13 MPa in *Pouteria*. This corresponded to relative water contents of about 0.2 or less for both species. We conclude that these species are very desiccation tolerant!

There were substantial difference in stem and root hydraulic conductance versus wilt stage between the species (Figure 17). *Licania* maintained a residual stem and root conductance down to very low water contents and Ψ values, which corresponded to severely wilted and nearly dead stages, whereas *Pouteria* lost more hydraulic conductance at similar wilt stages. This loss of hydraulic conductance in *Pouteria* resulted in a decoupling of the plant from the soil water resources and hence resulted in much lower water potentials. Figure 18 shows that much more water remained in the pots of *Pouteria* that had died than in *Licania* at the time of death. The inability of *Pouteria* to extract soil water is probably explained by the loss of conductance in stems and roots. However, these experiments should be repeated for *Pouteria* since we do not know how much of the differences was due to the mold the invaded our plants.


Figure 18

This research has involved the time and effort of many people. We needed people to go out into the forest every two weeks to collect seeds and growth them in greenhouses. Also considerable effort was need to collect field data for ranking of comparative drought performance. I acknowledge all the people listed below :

People who have done all the hard work so far : Bettina Engelbrecht, Co-PI

Research Assistants :

David Galvez, Maria del Carmen Ruiz, Robert Wolf, Kelly Anderson, Beatriz Baker, Gustavo Vargas

Field Assistant :

Didimo Moran

Gustavo Vargas did the desiccation tolerance studies. I also have to acknowledge Tom Kursar, University of Utah, who along with Bettina Engelbrecht are conducting this work as co-principle investigators on a research grant funded by the Andrew Mellon Foundation.

Variabilité génétique de la structure histologique des tiges de luzerne

Françoise Guines, Bernadette Julier

INRA, Unité de Génétique et d'Amélioration des Plantes Fourragères, 86600 Lusignan

La luzerne est utilisée dans l'alimentation des ruminants comme source de protéines. Sa part dans les rations est limitée par sa valeur énergétique modérée. L'amélioration de la digestibilité de la luzerne est donc un enjeu économique majeur pour cette culture. Ceci permettrait une meilleure valorisation par les animaux et une utilisation plus importante de ce fourrage, conduisant à une augmentation des surfaces cultivées. Une meilleure digestibilité représenterait une économie pour l'éleveur. Cette thématique répond à une préoccupation forte de la profession semencière, des transformateurs et des éleveurs utilisateurs.

Un peuplement de luzerne est composé de tiges feuillées. On peut donc le décrire par des variables liés à ces éléments fondamentaux que sont les tiges : nombre de tiges / m², nombre de tiges par classe de hauteur, nombre de tiges par plante, hauteur des tiges. La structure du peuplement définit sa valeur d'usage : quantité et qualité (valeur alimentaire) de la biomasse, souplesse d'exploitation, durée de vie du peuplement. La quantité de biomasse récoltable est liée à la croissance des tiges et à la structure spatiale des organes aériens. La valeur alimentaire de la biomasse est liée à la composition morphologique, à la composition histologique et à la croissance des plantes et par le génotype.

La croissance des tiges d'une dicotylédone est caractérisée par la mise en place progressive de tissus primaires puis secondaires (Figure 1).

Bas de tige

Figure 1. Mise en place des tissus conducteurs dans la tige d'une dicotylédone

Haut de tige

С A 5 6 6 8 1 3 В 6 1 Xylème primaire 5 Cortex 2 Phloème primaire 6 Epiderme et sclérenchyme 7 Xylème secondaire 3 Cambium 8 Phloème secondaire 4 Moëlle

Chez la luzerne, la croissance des tiges a été modélisée, par Vallet (1998) comme un empilement de nœuds matures en bas de la tige (Figure 2). Progressivement vers le bas de la tige, les tissus conducteurs se lignifient, surtout le xylème. La teneur en parois (mesurée par le NDF) et la teneur en lignine augmentent.



Les objectifs de l'étude ont été connaître les bases génétiques des variations pour les structures histologiques de tiges de luzerne. Pour cela, l'évolution des caractères histologiques le long de la tige a été décrite, en relation avec la morphologie, puis une étude de la diversité génétique entre variétés et au sein de variétés a été conduite. Enfin, on a recherché des marqueurs moléculaires associés aux caractères histologiques, morphologiques et à la digestibilité des tiges.

1. ANALYSE D'IMAGES

Cette étude a pu être menée grâce à la mise au point de la quantification des structures histologiques par analyse d'images. Après différentes quantifications à l'échelle de la coupe entière, on a calculé des paramètres décrivant les tissus : rayon de la coupe entière, rayon du parenchyme médullaire, rayon du xylème secondaire, rayon du cortex plus sclérenchyme (figure 3). Une analyse plus précise du xylème a permis de mesurer la surface des vaisseaux du xylème, la surface des fibres du xylème, la densité surfacique des parois du xylème et l'épaisseur de ces parois.

Figure 3. (A) Coupe histologique transversale de tige (X 30) pp: rayon du parenchyme médullaire, c : rayon du cortex plus sclérenchyme, sx : rayon du xylème secondaire,

e : épiderme. (B) Détails d'un faisceau conducteur (X 200) xv : vaisseau du xylème, xf : fibres du xylème, ca : cambium, sc : sclérenchyme, pp : parenchyme médullaire, sx : xylème secondaire.



2. Evolution des caractères histologiques le long de la tige

Le matériel végétal utilisé provient d'une sélection divergente pour la digestibilité. Une plante de meilleure digestibilité D++ et une plante de faible digestibilité D— ont été cultivées en pépinière. Sur chaque plante, trois tiges ont été prélevées pour des analyses histologiques. Sur le reste des tiges, la teneur en NDF (parois) et la teneur en lignine (méthode Klason) ont été déterminées. Ces caractéristiques ont été mesurées tout le long des tiges, pour 2 récoltes.

La figure 4 présente l'évolution des caractères histologiques le long de la tige. La distance entre l'épiderme et le bord externe du parenchyme médullaire augmente linéairement du haut de la tige vers le bas. Ce caractère comprend également l'épaisseur des tissus vasculaires, et son augmentation vers la bas des tiges correspond à la mise en place de nouvelles assises cellulaires et donc à une augmentation de diamètre. La proportion de parenchyme médullaire augmente légèrement dans le 30 premiers cm, puis se stabilise jusqu'à 60 cm et diminue vers le bas des tiges. La proportion de xylème dans la coupe entière évolue peu dans le 30 premiers cm, puis augmente linéairement à partir de 40 cm de l'apex jusqu'au bas de la tige. L'épaisseur de l'écorce augmente continuellement et linéairement de l'apex vers le bas des tiges. On observe selon les caractères un effet du génotype et de la récolte. La surface moyenne des lumières du xylème augmente dans les 20 premiers cm à partir de l'apex (vaisseaux en cours de différenciation), puis diminue jusqu'à 70 cm, puis on observe à nouveau une augmentation dans le bas des tiges. La surface des lumières des vaisseaux est plus élevée pour le génotype D--, mais il y a peu de variation le long de la tige. L'épaisseur des parois du xylème augmente dans le 40 premiers cm, puis il y a une stabilisation du caractère en bas des tiges. L'évolution est similaire pour les 2 génotypes.

Globalement, cette analyse histologique montre la progression de maturation de la tige du haut vers le bas. Le haut de la tige, ou zone d'allongement, est caractérisée par la présence de tissus primaires non lignifiés. Sous cette zone d'allongement, le cambium se met en place et forme le xylème et le phloème secondaires. Puis, la zone mature voit l'épaississement de ces

tissus secondaire et leur lignification. Du haut vers le bas de la tige, le xylème se développe ainsi que l'écorce, alors que le parenchyme médullaire ne progresse pas. Le xylème se lignifie fortement, avec une augmentation de l'épaisseur de ses parois. Le bas des tiges, du fait de sa structure, est la portion de tige qui va le plus limiter la digestibilité de la tige.

3. DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE ENTRE CULTIVARS ET À L'INTÉRIEUR DES CULTIVARS

La diversité entre cultivars a été étudiée pour 6 cultivars cultivés en un lieu, et pour 2 coupes. Dix tiges dominantes ont été prélevées dans le couvert, et la structure histologique a été analysée dans le bas des tiges. La diversité à l'intérieur des cultivars a concerné 10 génotypes pris dans 2 cultivars. Sur 5 tiges par plante, les mêmes analyses histologiques ont été réalisées.

Tableau 1 : Carrés moyens de l'analyse de variance pour les caractères histologiques liés aux proportions des différents tissus dans la coupe (mesurés au grossissement X 30) dans les essais inter et intra cultivar.

Source de variation	d.d.l	Rayon de la coupe	Proportion d'écorce	Proportion de xylème	Proportion de parenchyme médullaire
Essai inter culti	vore	nistologique			
	vuis				
Bloc	2	0.11	7.30	51.02*	16.83
Cultivar	5	1.05*	18.14	40.47	56.08
Bloc x cultivar	10	0.35	8.98	27.32	46.40
Récolte	1	3.78***	312.63***	606.31***	1734.12***
Récolte x	5	0.20**	13.93**	22.05	28.31
cultivar					
Erreur résiduelle	303	0.06	3.96	16.27	4.39
Essai intra cultiv	var				
Luisante					
Génotype	9	0.25***	13***	140***	214**
Récolte	1	5.19***	39***	150*	26
Récolte x	9	0.45***	6**	60	47
génotype					
Erreur résiduelle	80	0.04	2	20	71
Luzelle					
Génotype	9	0.40***	11***	46	60*
Récolte	1	2.48***	4	12	290**
Récolte x	9	0.15*	5**	83*	80**
génotype					
Erreur résiduelle	80	0.06	2	32	30

Pour les caractères relatifs aux proportions des différents tissus de la tige (Tableau 1), on ne trouve de différences entre cultivars que pour le rayon de la coupe. Au contraire, la variabilité

à l'intérieur des cultivars, entre génotypes est importante pour tous les caractères. Le même phénomène est observé pour les caractères relatifs au xylème (Tableau 2).

Tableau 2 : Carrés moyens de l'analyse de pour les caractères mesurés au niveau du xylème à un grossissement X 200 dans les essais inter et intra cultivar.

Source de	d.d.l	Epaisseur de	Densité surfacique	Surface moyenne	Surface moyenne des
variation	•	parois (10^{-6})	des parois	des lumières des	lumières des fibres
				vaisseaux (10^{-7})	(10^{-10})
Essai inter cult	ivars				
Bloc	2	0.25	0.0005	0.30	0.49*
Cultivar	5	0.23	0.0032	0.33*	0.39**
Bloc x cultivar	10	0.10	0.0038	0.08	0.06
Récolte	1	0.28*	0.0421***	2.99***	1.21**
Récolte x cultiva	ur 5	0.06	0.0106***	0.04	0.44**
Erreur résiduelle	e 30	03 0.06	0.0021	0.05	0.13
Essai intra culti	ivar				
Luisante					
Génotype	9	0.10***	0.0049***	0.107***	0.1844**
Récolte	1	1.34***	0.0068*	0.256***	0.0012
Récolte x	9	0.12***	0.0034**	0.017	0.0812
génotype					
Erreur résiduelle	80	0.02	0.0012	0.014	0.0623
Luzelle					
Génotype	9	0.13***	0.0059***	0.151**	0.621
Récolte	1	7.62***	0.1656***	0.401**	3.386**
Récolte x	9	0.17***	0.0015	0.094*	0.578
génotype					
Erreur résiduelle	80	0.03	0.0015	0.045	0.318

Des corrélations entre caractères ont été calculées pour les données issues de l'essai intracultivar (Tableau 3). La hauteur des tiges est corrélée positivement et significativement au rayon de la coupe et à l'épaisseur des parois du xylème, et négativement aux proportions d'écorce. Le rayon de la coupe n'est corrélé à aucune proportion des différents tissus constituant la tige. La proportion d'écorce est corrélée négativement à la proportion de parenchyme médullaire et à la surface moyenne des lumières des vaisseaux du xylème, mais pas à la proportion de xylème. Cependant la proportion de xylème est corrélée négativement à la proportion de parenchyme médullaire, ce qui est logique puisque l'addition des différents tissus est égale à 100%. La surface moyenne des lumières des vaisseaux du xylème est corrélée négativement à la densité surfacique des parois, et la surface moyenne des lumières des fibres du xylème. De façon logique, ces deux caractères sont fortement corrélés, car ils sont calculés tous les deux à partir de la surface lignifiée d'une zone du xylème.

En fait, la lignification des tiges de légumineuses ayant lieu principalement dans le xylème, ce tissu devient complètement indigestible. Une voie d'amélioration de la digestibilité serait de

réduire la proportion de xylème, et qui pourrait entraîner une augmentation de la proportion de parenchyme médullaire, tissu non lignifié rapidement dégradé dans le rumen. Un degré de lignification moindre du xylème n'aurait probablement pas beaucoup d'effet sur la digestibilité de la tige.

Tableau 3. Analyse des corrélations phénotypiques entre les caractères histologiques mesurés au sein des deux cultivars : Luisante et Luzelle sur la moyenne des répétitions des 10 génotypes par cultivar (les corrélations en caractères gras sont significatives à p<0.05, d.d.1=38)

	Rayon de la coupe	PECORCE	PXYL	PPAR	LVX	LFX	DPAR	EPPAR
Hauteur	0.61	-0.51	-0.006	0.10	-0.033	-0.28	0.15	0.32
Rayon de la		-0.24	-0.20	0.10	-0.32	-0.14	0.34	0.54
coupe								
PECORCE			0.03	-0.49	-0.39	0.07	0.28	0.01
PXYL				-0.64	0.03	0.02	0.04	0.11
PPAR					0.29	0.22	-0.34	-0.21
LVX						0.18	-0.45	-0.25
LFX							-0.47	-0.48
DPAR								0.74

PECORCE : proportions d'écorce, PXYL : proportions de xylème, PPAR : proportions de parenchyme médullaire, LVX : surface moyenne des lumières des vaisseaux du xylème, LFX : surface moyenne des lumières des fibres du xylème, DPAR : densité surfacique des parois du xylème, EPPAR : épaisseur des parois du xylème.

Recherche de marqueurs moléculaires liés à la structure histologique des tiges

Une population de cartographie F1 a été étudiée. Les 161 individus ont été cultivés en serre. A floraison, une tige par plante a été prélevée, et l'analyse histologique a été réalisée sur une portion basale de la tige. La longueur, le diamètre et la digestibilité de ces tiges a aussi été mesurée.

Pour tous les caractères étudiés, la variabilité entre génotypes F1 est importante. On observe une grande proportion de génotypes transgressifs par rapport aux parents (valeur plus faible ou plus forte que le plus extrême des parents). Les marqueurs expliquent entre 8% de la variation (diamètre) à 41% (hauteur) (Tableau 4). On observe un certain nombre de cas de colocalisations de QTL pour différents marqueurs (Figure 5) : c'est le cas pour la hauteur et le rapport feuilles/tiges, mais aussi pour la proportion de xylème et la proportion de parenchyme. Chez chacun des deux parents, on trouve des marqueurs ayant un effet positif et d'autres marqueurs ayant un effet négatif sur les caractères. Ceci, en combinaison avec le fait que plusieurs locus sont impliqués, explique les cas de transgressions dans la descendance F1.

Tableau 4. Identification	de marqueurs	moléculaires	liés aux	caractéristiques	morphologiques
et histologiques des tiges.					

01	0		
Caractère	Nb de QTLs	Origine	Variation expliquée
Hauteur	7 dont 2 NC	3 MAG, 2 MER, 2 MAG/MER	41%
Diamètre	1	MER	8,1%
Feuilles/Tiges	6 dont 1 NC	2 MAG, 3 MER, 1MAG/MER	33%
% écorce	5	2 MAG, 2 MER, 1MAG/MER	35%
% xylème	1	MAG / MER	11%
% parenchyme	2	1 MER, 1 MAG / MER	10%
Densité parois	2	MER	11,6%
Epaisseur parois	5 dont 2 NC	1 MAG, 2 MER, 2 MAG/MER	23%
Surf. Vaisseaux	2 dont 1 NC	2 MAG/MER	13,6%
Surf. Fibres	2 dont 1 NC	MER	10,7%
Digestibilité tiges	4 dont 2 NC	1 MAG, 3 MER	20,5%

NC:marqueur non cartographié

MAG : parent Magali ; MER : parent Mercedes

4. CONCLUSION

Cette étude a permis de démontrer la possibilité de décrire l'histologie de la tige de luzerne par des procédures d'analyse d'images, qui ont été automatisées pour pouvoir analyser un grand nombre de coupes.

L'analyse de l'évolution des caractères histologiques le long de la tige a permis de décrire trois zones dans la tige :

- Une zone d'allongement en haut de la tige, avec des tissus peu ou pas lignifiés
- Une zone de mise en place du cambium et des tissus secondaires (xylème et phloème), sous la zone d'allongement
- Une zone d'épaississement des tissus secondaires et de leurs parois, vers le bas de la tige.

De la variabilité a été constatée pour les caractères histologiques, essentiellement entre génotypes appartenant à des variétés. La variabilité entre variétés est très réduite, ou plutôt, elle n'a pas été détectée dans cette étude, à cause de l'importance de la variabilité intravariétale et du faible nombre de tiges prélevées dans l'échantillon.

Beaucoup de variabilité génétique a été observée dans la population de cartographie. Des QTL pour les caractères histologiques ont été identifiés, permettant d'expliquer une partie des variations observées. La colocalisation de QTL impliqués dans différents caractères renseigne sur la génétique de ces caractères.

A l'avenir, les perspectives sont :

- De compléter la recherche des bases génétiques des caractères histologiques et des caractères morphologiques et de qualité,
- De préciser les corrélations entre les caractères histologiques et les caractères agronomiques: digestibilité, tenue de la tige / verse (fibres du xylème),
- De sélectionner des génotypes ayant une proportion de xylème secondaire plus faible, permettant une augmentation de la digestibilité,
- D'établir un modèle de croissance en longueur et en épaisseur des tiges, incluant la mise en place des structures histologiques.

5. A LIRE

- GUINES F. (2002). Bases génétiques des variations pour la structure histologique des tiges de luzerne *(Medicago sativa* L.). Thèse de docteur de l'ENSA Rennes, Biologie et Agronomie, 99 p + annexes.
- GUINES F., JULIER B., ECALLE C., HUYGHE C. Among and within-cultivar variability for histological traits of lucerne (*Medicago sativa* L.) stem. *Euphytica*, sous presse.
- GUINES F. (2002). Genetic control of quality traits of lucerne (*Medicago sativa* L.) Australian Journal of Agricultural Research 53, 401-407.
- JULIER B., HUYGHE C., ECALLE C. (2000). Within- and among-cultivar genetic variation in alfalfa: forage quality, morphology, and yield. *Crop Science* 40, 365-369.







 $\infty 4$



Figure 5. Position des QTL sur les cartes de Magali et de Mercedes. Chaque «bâton» représente un chromosome. Les rectangles figurent les groupes d'homologie, on attend 4 chromosomes par groupe d'homologie et 8 groupes d'homologie pour une carte saturée. Les pourcentages qui suivent chaque caractère indiquent le sens (+ ou -) du marqueur sur le caractère et le pourcentage de variation expliquée. х v

Réponse de la croissance foliaire du maïs aux déficits hydriques édaphique et atmosphérique. Rôle de la turgescence dans les tissus en croissance et variabilité génétique

O. Bouchabke, G. Rolland, P. Hamard, F. Tardieu & T. Simonneau Laboratoire d'Ecophysiologie des Plantes sous Stress Environnementaux, INRA/ENSAM, UMR 759.

2 place Viala, 34060 Montpellier cedex 1, France

1. INTRODUCTION

Pour expliquer les réductions de croissance foliaire observées chez les plantes soumises à un déficit hydrique, trois mécanismes candidats sont proposés actuellement: une diminution de l'extensibilité des parois, une baisse de la turgescence dans les tissus en croissance, ou encore une chute du gradient de potentiel hydrique nécessaire à l'entrée d'eau dans les cellules en croissance (pour revue, voir Martre 1999).

Pour tester ces différentes interprétations (non exclusives), les effets de contraintes hydriques édaphiques ou atmosphériques sur la pression de turgescence des tissus en croissance ont été largement étudiés. Initialement, des corrélations positives ont été établies entre pression de turgescence et croissance cellulaire, aboutissant au modèle de Lockhart (1965). Depuis, le modèle a plusieurs fois été remis en cause (par ex. Zhu & Boyer, 1992). De nombreux exemples ont montré que des variations de turgescence dans les cellules végétales en croissance ne s'accompagnaient pas toujours de modification de vitesse d'expansion (Green et al., 1971; Shackel et al., 1987). De plus, une diminution de croissance induite par un déficit hydrique ne s'accompagne pas nécessairement d'une diminution de turgescence dans les tissus en croissance. Chez le maïs, par exemple, la turgescence dans les tissus foliaires en croissance ne varie pas malgré l'augmentation du déficit de saturation de l'air au cours de la journée alors que la vitesse d'élongation foliaire diminue fortement (Van Volkenburgh & Boyer, 1985). De la même façon, un nombre important de travaux a révélé une grande stabilité de la turgescence dans les racines ou les hypocotyles de plantules soumises à un déficit hydrique édaphique (Nonami & Boyer, 1989; 1990; Pritchard et al., 1991; Frensch & Hsiao, 1995). Cependant, des modifications de turgescence ont été observées dans la zone en croissance de racines soumises à un stress salin (Neumann et al., 1988) ou à un dessèchement du substrat (Spollen & Sharp, 1991; Wu & Cosgrove, 2000).

Il n'existe donc pas actuellement de consensus sur le rôle de la turgescence des tissus en croissance dans les réductions de croissance en réponse à une contrainte hydrique. Les résultats disponibles sont limités le plus souvent à l'effet d'un déficit hydrique édaphique sur la croissance de racines ou d'hypocotyles de jeunes plantules en l'absence de contrainte hydrique atmosphérique.

Le but de cette étude est d'analyser l'effet du déficit de saturation de l'air et du dessèchement du sol sur la croissance foliaire du maïs. Nous cherchons à expliquer les réductions de la vitesse de croissance foliaire observées en réponse à un dessèchement de l'air ou du sol. Parmi les mécanismes candidats, nous testons plus particulièrement dans quelle mesure l'effet du déficit hydrique (sol et air) sur la croissance foliaire passe par une modification de la turgescence dans la zone en croissance. Nous cherchons donc s'il existe des relations stables entre la turgescence et la vitesse d'élongation foliaire. Nous nous proposons également de rechercher s'il existe de la variabilité génétique dans ces relations, dans le but de comprendre les différences de sensibilité au déficit hydrique observées entre génotypes (Reymond, 2001).

2. MATÉRIELS ET MÉTHODES

Cette étude a été effectuée sur 5 lignées de maïs (3 lignées recombinantes (LR), une lignée parentale (F2) et un hybride (Dea)), qui présentaient des réponses contrastées de la croissance foliaire au déficit de saturation de l'air ou au dessèchement du sol.

- Génotypes sensibles : F2, LR9 et Dea.

- Génotypes peu sensibles : LR110 et LR31.

Les plantes sont cultivées dans des pots de 5 L remplis d'un mélange de sol limoneux et de terreau tamisés (1/1 en volume). La culture a lieu en serre en conditions bien irriguées (irrigation automatique 4 fois par jour) jusqu'à l'apparition de la feuille 5. Ensuite trois régimes d'irrigation sont appliqués :

- irrigation pléthorique conduisant a la présence d'eau libre dans le substrat (drainage),
- irrigation rationnée pour conduire à une teneur en eau de 30 g d'eau par g de substrat sec,
- suspension de l'irrigation conduisant à une teneur en eau de 20 g d'eau par g de substrat sec.

Dans les deux premiers traitements, de faibles concentrations d'acide abcissique dans la sève du xylème ont été observées (globalement inférieures a 20 nM).

Quand la sixième feuille apparaît, les plantes sont transférées dans une enceinte climatique où la demande évaporative est maintenue constante. Les mesures sont effectuées au bout de 2 heures après stabilisation des conditions climatiques et de la vitesse d'élongation foliaire. La vitesse d'élongation de la feuille 6 est mesurée pendant sa phase de croissance linéaire à l'aide de capteurs linéaires de déplacement (LVDT). La turgescence est obtenue par mesure directe à l'aide d'une sonde à pression (fig.1), sur les mêmes plantes dans les cellules de la base de la feuille à l'endroit où la vitesse relative d'élongation est maximale. Cinq à six mesures de turgescence sont réalisées par plante pour chaque niveau de déficit hydrique.



<u>Figure 1</u> : Schématisation de la mesure de la turgescence dans les cellules de la zone d'élongation foliaire. Une fenêtre d'environ 5mm X 5 mm est taillée dans la partie basale de la plante (à 3.5 cm de la base), et permet de dégager la feuille étudiée (feuille 6). Un micro-capillaire, préalablement rempli d'huile de silicone est introduit dans une cellule du mésophylle à l'aide d'un micromanipulateur. L'eau de la cellule sous l'effet de la turgescence, remonte dans le capillaire. Un ménisque se forme alors entre l'eau de la cellule et l'huile. Le ménisque est ensuite ramené à sa position initiale (au ras de la cellule) a l'aide d'une vis micrométrique. Un capteur de pression permet de mesurer la pression exercée pour ramener l'eau dans la cellule; cette pression est égale à la pression de turgescence.

3. RÉSULTATS

31. Réponse de la vitesse d'élongation foliaire au déficit de saturation de l'air et au dessèchement du sol chez Dea

31.a- A l'échelle de la feuille entière

En l'absence de contrainte hydrique climatique (faible déficit de saturation de l'air) la vitesse d'élongation foliaire est plus faible pour les plantes soumises à une irrigation rationnée (fig.2, symboles ouverts) que pour les plantes cultivées en substrat drainant (eau libre dans le sol) (fig.2, symboles fermés). Cette réduction de la vitesse d'élongation foliaire est attribuable au dessèchement du sol.

En l'absence de dessèchement du substrat (substrat drainant), la vitesse d'élongation foliaire répond faiblement au déficit de saturation de l'air. Par contre, lorsque l'irrigation est rationnée (teneur en eau de 30 g eau /g de substrat sec), la vitesse d'élongation foliaire est fortement réduite par l'augmentation du déficit de saturation de l'air (fig.2).

La réponse de la vitesse d'élongation foliaire au déficit de saturation de l'air dépend donc du niveau de dessèchement du sol.

31.b- Dans la zone en croissance

En l'absence de toute contrainte hydrique, la croissance de la feuille 6 du maïs a lieu dans les 7 premiers centimètres à la base de la feuille. La vitesse d'expansion est maximale entre 2 et 5 cm, et s'annule au delà de 7cm de la base (fig.3 trait noir plein). Le dessèchement de l'air a pour effet de réduire la longueur de la zone en croissance ainsi que la croissance élémentaire de tous les segments situés à plus de 10 mm de la base (fig. 3 trait gris plein). On retrouve ces mêmes effets dans le cas du dessèchement du sol (traits pointillés), mais l'effet du dessèchement de l'air est plus fort en sol sec qu'en sol humide.

Comme dans le cas de la croissance de la feuille entière, l'effet du déficit de saturation de l'air sur la vitesse relative d'élongation dans la zone en croissance, interagit avec le dessèchement du sol, c'est-à-dire que les effets des déficits hydriques atmosphériques et édaphiques ne sont pas additifs.

32. Réponse de la turgescence dans la zone d'élongation foliaire au déficit de saturation de l'air et au dessèchement du sol chez Dea

32.a- A l'échelle de la feuille entière

Effet du dessèchement de l'air pour un génotype donné (Dea).

Comme pour la vitesse d'élongation foliaire, la turgescence dans la zone en croissance répond au dessèchement de l'air d'autant plus que l'irrigation est rationnée. Sa valeur est diminuée de moitié pour les plus fortes demandes climatiques (fig. 4a).

Par conséquent il existe pour l'hybride Dea une relation entre la vitesse d'élongation foliaire et la turgescence qui pourrait expliquer les réductions de vitesse d'élongation foliaire en réponse au déficit de saturation de l'air (fig. 4b).

32.b- A l'échelle de la zone en croissance

Le profil de turgescence établi dans la zone en croissance du maïs en absence de contrainte hydrique, ressemble au profil de croissance. Les turgescences sont constantes et maximales entre 3 et 5 cm de la base, et elles sont diminuées aux deux extrémités du profil (fig.5).

En l'absence de contrainte hydrique édaphique, le dessèchement de l'air réduit les valeurs des turgescences sur toute la zone de croissance. Le profil des turgescences n'est donc pas raccourci (fig.5) contrairement au profil de croissance (fig.3). Il est donc peu probable que la déformation du profil d'allongement à la base de la feuille puisse s'expliquer par la modification des valeurs de turgescence.

L'effet du dessèchement du sol a été étudié sur feuille entière en l'absence de demande évaporative forte en fin de nuit. Les mesures de vitesses d'élongation foliaire et de turgescence ont été effectuées à trois teneurs en eau du substrat (décrites précédemment). Chez Dea, la turgescence dans la zone en croissance est plus élevée pour les plantes cultivées en substrat humide que pour les plantes cultivées en substrat sec (fig.6).

33. Variabilité génétique des réponses aux déficits hydriques

33.a- A l'échelle de la feuille entière

Effet du dessèchement de l'air :

La réponse de la vitesse d'élongation foliaire au dessèchement de l'air est plus ou moins marquée selon le génotype. Sur la figure 7 sont présentés les résultats obtenus pour 2 lignées contrastées quant à la réponse de leur vitesse d'élongation foliaire au dessèchement de l'air : F2, dont la vitesse est plus sensible au déficit de saturation de l'air que LR110.

On retrouve entre ces 2 génotypes, une différences de sensibilité de la turgescence au déficit de saturation de l'air, qui rappelle la différence de sensibilité de la vitesse d'élongation foliaire. F2 a des turgescences plus réduites à fort déficit de saturation de l'air que LR110, qui maintient un niveau de turgescence plus élevé aux fortes demandes évaporatives (fig.7 b et b').

Par conséquent il existe pour chacune de ces lignées une relation entre la vitesse d'élongation foliaire et la turgescence qui pourrait expliquer les réductions de vitesse d'élongation foliaire en réponse au déficit de saturation de l'air, mais cette relation n'est pas la même pour les 2 lignées étudiées ici (fig.7 c et c').

Cette étude a été étendue à l'ensemble des génotypes étudiés (fig.8). On retrouve des résultats comparables aux précédents : l'augmentation du déficit de saturation de l'air réduit à la fois la vitesse de croissance foliaire (8a) et la turgescence dans la zone en croissance (8b). Par conséquent on retrouve là encore une relation entre la vitesse d'élongation foliaire et la turgescence pour chacune des lignées, mais toujours avec des différences entre lignées. Cette relation, bien que spécifique à chaque lignée, pourrait expliquer la réponse de la vitesse d'élongation foliaire au déficit de saturation de l'air (8c).

Il apparaît finalement que la sensibilité de la vitesse de croissance au déficit de saturation de l'air est liée à la sensibilité de la turgescence pour la plupart des lignées (fig. 9). LR110 et LR31 pour qui la vitesse d'élongation foliaire est la moins sensible au déficit de saturation de l'air, présentent aussi une plus faible sensibilité de la turgescence. A l'opposé, les génotypes

Dea et F2 sont plus sensibles au déficit de saturation de l'air à la fois en vitesse et en turgescence. LR9 s'écarte de cette tendance puisque sa vitesse d'élongation foliaire est très sensible au déficit de saturation de l'air alors que la turgescence dans les zones en croissance l'est beaucoup moins.

Effet du dessèchement du sol :

Le dessèchement du sol, comme le dessèchement de l'air, réduit à la fois la vitesse de croissance foliaire (résultats non montrés) et la turgescence dans la zone en croissance (fig.10) avec des effets plus ou moins marqués suivant les lignées. Il apparaît une relation entre la sensibilité de la vitesse de croissance au dessèchement du sol et la sensibilité de la turgescence (fig. 11).

Il est remarquable que le classement des lignées sur la base de la sensibilité de leur croissance foliaire au déficit hydrique ne soit pas le même suivant qu'il s'agisse d'un déficit hydrique atmosphérique (fig. 9) ou édaphique (fig. 11). Malgré cela, la correspondance entre sensibilité de la croissance foliaire et sensibilité de la turgescence est globalement conservée quel que soit le type de contrainte hydrique. Ceci renforce le rôle probable des variations de turgescence dans la réponse de la croissance foliaire à ces 2 types de contraintes hydrique.

4. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Cette étude montre qu'un déficit hydrique édaphique ou atmosphérique réduit la turgescence dans les tissus foliaires en croissance en même temps que la vitesse d'élongation foliaire du maïs. Ce résultat, qui contraste avec un grand nombre de travaux, est observé chez les 5 lignées que nous avons étudiées avec des différences de sensibilité au déficit hydrique entre lignées. Les différences entre lignées concernent aussi bien la turgescence dans les tissus foliaires en croissance que la vitesse d'élongation foliaire.

Globalement, les lignées dont la vitesse d'élongation foliaire est très sensible (respectivement peu sensible) au déficit hydrique sont également les lignées dont la turgescence dans les tissus en croissance est elle-même très sensible (respectivement peu sensible) au déficit hydrique. Les génotypes qui s'écartent de cette tendance, pourraient servir à identifier d'autres mécanismes impliqués dans la réponse de la vitesse au dessèchement de l'air et au dessèchement du sol.

Ces résultats suggèrent que la baisse de turgescence dans les tissus en croissance explique une grande partie de la réduction de la croissance foliaire en réponse au dessèchement de l'air et au dessèchement du sol ainsi qu'une partie de la variabilité génétique.

Ce travail a permis de relier le polymorphisme des réponses de la croissance foliaire au déficit hydrique avec le polymorphisme des réponses de la turgescence dans les zones en croissance. La suite du travail consiste à rechercher les mécanismes à l'origine de la variabilité génétique de réponse de la turgescence au déficit hydrique. Parmi les mécanismes possibles, nous nous intéressons à la réponse de la transpiration au dessèchement de l'air et du sol et aux mécanismes d'osmorégulation dans la zone en croissance.

5. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

FRENSCH J, HSIAO T (1995) Rapid response of the yield threshold and turgor regulation during adjustment of root growth to water stress in *Zea mays*. Plant Physiology 108, 303-312.

GREEN PB, ERICKSON RO, BUGGY J (1971) Metabolic and physical control of cell elongation rate. In vivo studies in Nitella. Plant Physiology 47, 423-430.

LOCKHART JA (1965) An analysis of irreversible plant cell elongation. Journal of Theoretical Biology 8, 264-276.

MARTRE P.(1999) Architecture hydraulique d'une talle de fétuque élevée (*Festuca arundinacea* Schreb.). Implications pour les relations entre la transpiration et l'expansion foliiare. Thèse de l'Université de Poitiers, 149 pp. (Poitiers, France).

NEUMANN PM, VAN VOLKENBURGH E, CLELAND RE (1988) Salinity stress inhibits bean leaf expansion by reducing turgor, not wall extensibility. Plant Physiology 88, 233-237.

NONAMI H, BOYER JS (1990) Wall extensibility and cell hydraulic conductivity decrease in enlarging stem tissues at low water potentials. Plant Physiology 93, 1610-1619.

NONAMI H., BOYER JS (1989) Turgor and growth at low water potentials. Plant Physiology 89, 798-804.

PRITCHARD J, JONES RGW, TOMOS AD (1991) Turgor, growth and rheological gradients of wheat roots following osmotic stress. Journal of Experimental Botany 42, 1043-1049.

REYMOND M. (2001). Variabilité Génétique des réponses de la croissance foliaire du maïs à la température et au déficit hydrique. Combinaison d'un modèle écophysiologique et d'une analyse QTL. Thèse de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier, 70 pp. (Montpellier, France).

SHACKEL KA, MATTHEWS MA, MORRISON JC (1987) Dynamic relation between expansion and cellular turgor in growing grape (*Vitis vinifera* L.) leaves. Plant Physiology 84, 1166-1171.

SPOLLEN WG, SHARP RE (1991) Spatial distribution of turgor and root growth at low water potentials. Plant Physiology 96, 438-443.

TARDIEU F, REYMOND M, HAMARD P, GRANIER C, MULLER B (2000) Spatial distibutions of expansion rate, cell division rate and cell size in maize leaves : a synthesis of the effects of soil water status, evaporative demand and temperature. Journal of Experimental Botany 51, 1505-1514.

VAN VOLKENBURGH E, BOYER JS (1985) Inhibitory effects of water deficit on maize leaf elongation. Plant Physiology 77, 190-194.

WU Y, COSGROVE DJ (2000) Adaptation of roots to low water potentials by changes in cell wall extensibility and cell wall proteins. Journal of Experimental Botany 51, 1543-1553.

ZHU GL, BOYER JS (1992) Enlargement in Chara studied with a turgor clamp: growth rate is not determined by turgor. Plant Physiology 100:2071-2080.



<u>Figure 2</u> : Effet du déficit de saturation de l'air sur la vitesse d'élongation foliaire chez Dea, à deux traitements hydriques (•) Irrigation pléthorique (en présence d'eau libre dans le sol), (\circ) Irrigation rationnée (w=30g _{eau}/g _{sol sec}).



<u>Figure 3</u> : Effet du déficit de saturation de l'air et du dessèchement du sol sur la zone d'élongation foliaire du maïs ; cultivar DEA. (Tardieu *et al.*, 2000).

Les traits pleins représentent la vitesse relative d'élongation dans la zone en croissance pour le traitement irrigué, en noir : en absence de contrainte hydrique climatique (déficit de saturation de l'air 1KPa), en gris : en présence de contrainte hydrique climatique modérée (déficit de saturation de l'air 2KPa).

Les courbes en pointillés représentent la vitesse relative d'élongation dans la zone en croissance pour le traitement en stress édaphique modéré, en noir : en absence de contrainte hydrique climatique (déficit de saturation de l'air 1KPa), en gris : en présence de contrainte hydrique climatique modérée (déficit de saturation de l'air 2KPa).



<u>Figure 4</u> : Réponse de la turgescence dans la zone en croissance au déficit de saturation de l'air (a) chez le cultivar Dea en irrigation rationnée et relation entre la vitesse d'élongation foliaire et la turgescence (b).



<u>Figure 5</u> : Profil de turgescence établi chez Dea, le long de la zone en croissance, en condition d'irrigation rationnée. Les points noirs représentent le profil de turgescence établi en absence de contrainte hydrique climatique (faible déficit de saturation de l'air). Les points gris représentent le profil de turgescence établi en conditions de forte contrainte hydrique climatique (fort déficit de saturation de l'air).



<u>Figure 6</u> : Turgescences de fin de nuit mesurées chez le cultivar Dea à différents niveaux de teneur en eau du sol.



Turgescence dans la zone en croissance (MPa)

<u>Figure 7</u> : Réponse de la vitesse d'élongation foliaire (a et a') et de la turgescence dans la zone en croissance (b et b') au déficit de saturation de l'air pour F2 et LR 110, 2 génotypes contrastés pour leurs réponses au déficit de saturation de l'air.

Relation entre vitesse et turgescence pour ces 2 génotypes. (c et c')



6 a Vitesse (mm°Ci⁻¹) 4 2 0 Ó 3 2 0.4 Turgescence b 0.3 (MPa) 0.2 0.1 0.0 2 3 0 1 Δ VPD feuille-air (kPa) 6 c Vitesse (mm °Ci⁻¹) 4 2 0 0.0 0.1 0.2 0.3 0.4 Turgescence (MPa)

Figure 8 : Réponse de la vitesse d'élongation foliaire (a) et de la turgescence dans la zone en croissance (b) au déficit de saturation de l'air et relation entre vitesse foliaire d'élongation et turgescence pour l'ensemble des génotypes. Gris: génotypes sensibles au déficit de saturation de l'air. Noir : génotypes moins sensibles au déficit de saturation de l'air.

<u>Figure 9</u> : Relation entre la sensibilité de la vitesse d'élongation foliaire et la sensibilité de la turgescence dans la zone en croissance au déficit de saturation de l'air pour les différents génotypes.



Figure 10 : Turgescences de fin de nuit pour les différents génotypes

Noir : Irrigation rationnée ($\theta = 30 \text{ g}_{eau}/\text{g}_{sol sec}$) Gris : Suspension de l'irrigation ($\theta = 20\% \text{ g}_{eau}/\text{g}_{sol sec}$)



<u>Figure 11</u> : Relation entre la sensibilité de la vitesse d'élongation foliaire et la sensibilité de la turgescence dans la zone en croissance au dessèchement du sol pour les différents génotypes.

Une expérience de John Boyer sur la pression et le gradient de potentiel dans un organe en croissance

JL Durand Unité d'Ecophysiologie des Plantes Fourragères INRA 86600 Lusignan

John Boyer, après avoir mesuré directement la pression et le potentiel de cellules en croissance à l'aide d'une *pressure probe* (Boyer et *al.*, 1985) a mis au point une expérience m'on et dont je veux soumettre ici à l'attention des collègues la simplicité et la portée.

On sait que le potentiel hydrique de l'apoplasme est plus élevé que celui des cellules en croissance. Longtemps se sont opposées deux explications: l'une invoquait une forte concentration en solutés dans l'apoplasme (Cosgrove & Cleland, 1983) tandis que l'autre se fondait sur l'hypothèse que la résistance au flux d'eau de croissance était essentiellement responsable d'une véritable chute de potentiel de plusieurs bars. Les mesures directes et indirectes de pression et potentiel dans les organes en croissance ont tranché en faveur de la seconde explication (par exemple Martre *et al.*, 1999). Récemment, avec des moyens d'une grande simplicité et avec une rigueur tout à fait remarquable, Boyer (2001) a montré qu'il y avait bien un gradient de potentiel et que ce gradient était proportionnel à la vitesse d'expansion. Cette expérience a été publiée dans Journal of Experimental Botany (Boyer, 2002) et il peut sembler redondant de la présenter ici. Mais il me semble qu'il y a quelques enseignements à tirer de cette démarche que je voudrais tirer avec vous.

Le matériel expérimental de J Boyer consistait en :

- une chambre à pression standard
- une règle au demi millimètre
- de l'eau et un peu de chlorure de calcium
- des graines de soja
- des petits pots logeant dans la chambre à pression



<u>Expérience I</u>

- 1. J Boyer installe une germination de soja dans la chambre à pression et mesure à la règle la vitesse d'allongement de l'hypocotyle obtenue à différentes pressions (de 0 à 0.8 MPa environ).
- 2. Il constate que la pression externe n'a pas d'influence sur la vitesse.
- 3. La pression appliquée augmente la pression hydraulique des cellules et la pression externe de la même valeur. La différence de pression



entre l'intérieur de la zone de croissance et 'extérieur est donc conservée: la déformation des parois se poursuit inchangée.

4. Il n'y a pas d'effet intrinsèque des conditions de pression sur la croissance.

Expérience II

- 1. J Boyer laisse la racine à l'extérieure (et toujours dans sa solution de CaCl₂) et rétablit la pression à différents niveaux dans la chambre à pression comme en I.
- 2. Il constate que la vitesse d'allongement diminue linéairement avec l'accroissement de la pression régnant dans la chambre.
- 3. La pression à l'extérieur des cellules en croissance est voisine de celle de la chambre

à pression tandis que la pression dans le xylème doit s'approcher de celle qu'elle a dans les racines, c'est à dire proche de la pression atmosphérique.

4. La vitesse de croissance est proportionnelles a la pression interne exercée contre les parois des cellules en croissance.

Expérience C

- 1. A la suite d'une période de croissance sous pression, comme en II, J Boyer coupe la racine et augmente encore la pression jusqu'à faire apparaître la sève à la section: c'est une mesure "classique" de potentiel hydrique dans les tissus.
- 2. L'écart entre la pression d'ambiance et la pression d'équilibre est proportionnel à la vitesse d'allongement.
- La différence (δP) mesure l'écart entre la pression du xylème (proche de 0) et le potentiel des cellules en croissance. C'est à dire le gradient de potentiel. Ce gradient est proportionnel à la vitesse de croissance.



4. Le gradient de potentiel, de l'ordre de 0.2 MPa dans le cas où la vitesse est maximale, est donc induit par la croissance.



Discussion



Nous avons là une illustration directe du rôle de la relaxation des parois et du jeu de la pression sur l'expansion des organes, en même temps qu'une démonstration de la création d'un gradient de potentiel induit par la croissance. Cette expérience aurait pu, matériellement, être réalisée dans la plupart des salles de TP d'Université depuis une quarantaine d'année. Je ne sais pas pourquoi ca n'est pas arrivé mais je soumets à la réflexion de chacun une hypothèse qui m'est venue un jour que je lisais le livre de Münch sur le mouvement de la sève phloémienne (Münch, 1930). Je me suis demandé si Münch aurait découvert le mécanisme de la circulation de la sève

élaborée s'il avait connu le potentiel hydrique et les enzymes (pour ne pas parler de la biologie moléculaire). N'ayant à sa disposition que les variables de pression, de pression osmotique et des mesures de diamètres de plasmodesmes, il a été forcé de se représenter le phénomène en termes strictement physiques. Connaissant la nature protéique des plasmodesmes, ne se serait-il pas égaré stérilement pour leurs conférer un rôle indu dans la régulation de la circulation des assimilats ?? On ne le saura jamais et ça n'est pas une question scientifique ni historique. Mais il me semble que ne pas pousser au bout un certain nombre de réflexions physiques sur les plantes nous empêche de tirer tout les avantages que nous offrent quelques théories solides. Pis, nous sommes entraînés vers des interprétations erronées, des batailles stériles, dans le marais de l'empirisme. L'expérience de J Boyer est une remarquable illustration de la nécessaire continuation de la physique en biologie. Il y a de la place pour cela à côté de la post génomique (qu'il n'est pas dans mon intention non plus de la réduire à la confusion actuelle). Comme le dit Tyree (2003) tellement mieux, il est selon moi plus que jamais nécessaire de maintenir une forte activité de recherche aux interfaces entre la physique et la biologie.

RÉFÉRENCES

BOYER JS, 2001. J Exp Bot., 52, 1483-1488.

BOYER JS, CAVALIERI AJ, SCHULEZE E-D, 1985. Planta, 163, 527-543.

COSGROVE DJ, CLELAND RE, 1983. Plant Physiol., 72, 326-331.

MARTRE P, BOGEAT-TRIBOULOT M-B, DURAND J-L. 1999. New Phytologist, 142, 435-439.

MÜNCH E, 1930. Die Stoffbewegunen in der Pflanze. Gustav Fischer Verlag, Jena. 234 p.

TYREE MT, 2003. The future of Biology : reason for concern ? Editorial of Plant Physiology, 131, 3-5.