



Mémoire présenté par

Hervé COCHARD

Pour obtenir une

Habilitation à Diriger des Recherches

**DE L'ARCHITECTURE HYDRAULIQUE DU XYLEME
ET DE SON APPORT A LA COMPREHENSION DES
RELATIONS HYDRIQUES DANS LA PLANTE**

Soutenance publique du 23 avril 2002 devant le jury composé de :

Bernard Saugier	Université Paris Sud, Orsay	Président
Daniel Laffray	Université Créteil	Rapporteur
Jean-Louis Prioul	Université Paris-Sud, Orsay	Rapporteur
François Tardieu	INRA, Montpellier	Rapporteur
Pierre Cruziat	INRA, Clermont-Ferrand	Examineur
Erwin Dreyer	INRA, Nancy	Examineur

1. CURRICULUM VITAE.....	3
1.1 ETAT CIVIL.....	3
1.2 ETUDES ET DIPLÔMES	3
1.3 ACTIVITÉS PROFESSIONNELLES	3
1.4 ACTIVITÉS DE FORMATION	3
1.4.1 Enseignement.....	3
1.4.2 Critique d'articles.....	3
1.4.3 Encadrement d'étudiants et publications assorties	4
1.5 PUBLICATIONS	5
1.5.1 Revues à comité de lecture.....	5
1.5.2 Chapitres d'ouvrages ou articles de vulgarisation.....	7
2. MÉMOIRE SUR LES TRAVAUX DE RECHERCHE	9
2.1 CADRE DU TRAVAIL	9
2.1.1 Problématique générale et évolution.....	9
2.1.2 Contexte scientifique au départ de l'étude	9
2.2 AVANCÉES MÉTHODOLOGIQUES	12
2.2.1 Méthode acoustique	12
2.2.2 Méthode hydraulique	13
2.2.3 Méthode cryogénique.....	14
2.2.4 Perspectives méthodologiques.....	14
2.3 RÉSULTATS	15
2.3.1 Travaux sur la cavitation et l'embolie du xylème	15
2.3.2 Architecture hydraulique	22
2.3.3 Embolie estivale et relations hydriques des plantes	24
3. DISCUSSION ET PERSPECTIVES DE RECHERCHES	27
3.1 TENDANCES GÉNÉRALES.....	27
3.2 CARACTÉRISATION DE LA VULNÉRABILITÉ DU XYLÈME	27
3.2.1 Vers une description spatio-temporelle plus complète	27
3.2.2 Vers de nouvelles espèces végétales	28
3.2.3 Vers le prise en compte de l'impact des facteurs du milieu	28
3.3 MÉCANISMES DE FORMATION ET DE RÉSORPTION DE LA CAVITATION.....	30
3.3.1 Structure de la paroi primaire des ponctuations	30
3.3.2 Propriétés physico-chimique de la paroi primaire des ponctuations	31
3.3.3 Mécanismes de résorption de l'embolie estivale	31
3.4 CONTRÔLE STOMATIQUE DE L'EMBOLE.....	32
3.4.1 Relations causales ou corrélative ?.....	32
3.4.2 Pourquoi une fermeture stomatique ?	33
3.4.3 Quel est la variable pertinente ?.....	33
3.4.4 Quel apport de l'écophysiologie ?.....	33
3.5 ARCHITECTURE HYDRAULIQUE DES PLANTES	35
3.5.1 Pertinence physiologique de l'architecture hydraulique.....	35
3.5.2 Résultats récents	35
3.5.3 Impact de l'architecture hydraulique sur la croissance	36
3.6 ÉCOLOGIE FONCTIONNELLE	37
3.6.1 Quel est le compromis de la vulnérabilité à cavitation ?	37
3.6.2 Quand y a-t-il trop d'embolie ?	38
3.6.3 De la plante vers l'association végétale.	39
3.7 MODÉLISATION	40
3.7.1 Un modèle pour quoi faire ?.....	40
3.7.2 Un modèle prédictif de la transpiration foliaire.....	40
3.7.3 Un modèle mécaniste de la croissance primaire et secondaire.....	41
3.7.4 Un modèle à l'échelle de la parcelle.	41
4. CONCLUSIONS	41
5. RÉFÉRENCES CITÉES	42

1. Curriculum Vitae

1.1 Etat Civil

Nom : COCHARD

Prénoms : Hervé, Jacques, Marie

Date et lieu de naissance : 10 Mars 1966 à CHOLET (M&L)

Situation familiale : Marié, 2 enfants

Adresse : Chemin de Boudonne, Berzet, 63122 Saint Genès Champanelle

1.2 Etudes Et Diplômes

1983 : Baccalauréat série C.

1988 : Ingénieur Agronome INA-PG.

1988 : DEA Ecologie Générale INA-PG / Université Paris-Sud, Orsay, « Utilisation d'un système de type "enceinte fermée" pour l'estimation de la transpiration journalière d'un sous-bois de Pin maritime (*Pinus pinaster* Ait.). »

1991 : Doctorat de 3^e cycle en Science de la vie, Université Paris-Sud, Orsay, « Vulnérabilité à la cavitation de quelques espèces forestières feuillues et résineuses: aspects méthodologiques, importance écophysiological. »

1.3 Activités Professionnelles

1988 : Attaché Scientifique Contractuel, INRA, Département de Recherches Forestières, Station de Sylviculture et Production, NANCY

1989 : Visiting Scientist, Botany Department, University of Vermont, USA

1992 : Service National de la Coopération, Smithsonian Tropical Research Institute, PANAMA.

1992 : Chargé de Recherche 2^{ème} classe, INRA, Département de Recherches Forestières, Unité d'Ecophysologie Forestière, Equipe Bioclimatologie Ecophysiological NANCY.

1996 : Chargé de Recherche 1^{ère} classe, même affectation

1998 : Affectation à l'UMR-PIAF, INRA/UBP, centre de Clermont-Theix

1.4 Activités de Formation

1.4.1 Enseignement

- Université de Nancy I : DEA de Biologie Végétale et Forestière (3 h de cours de 1993 à 2000)
- Université Paris-Sud Orsay. DEA d'Ecologie (3 heures de cours en 2001)
- ENITA Clermont-Fd : DESS Productions végétales (3 heures de cours depuis 1999)
- Atelier de l'arbre : L'eau et l'arbre (3 heures de cours depuis 1998)

1.4.2 Critique d'articles

Lecteurs régulier pour : *Plant Physiology*, *Plant Cell and Environment*, *Tree Physiology*, *Ecology*, *Journal of Experimental Botany*, *Annals of Forest Sciences*

1.4.3 Encadrement d'étudiants et publications assorties

1. **DI BATTISTA C.**, 1990. Circulation de la sève dans les troncs de Chênes. **Maîtrise** de Biologie Végétale, Université de Nancy I. (co-encadrement avec A. Granier)
2. **SIMONIN G.**, 1991. Implantation de *Ophiostoma quercus* dans le système vasculaire de Chênes pédonculés et action sur le fonctionnement hydrique. **DEA** de biologie forestière, Université de Nancy I. (co-encadrement avec C. Delatour).

Simonin G., Cochard H., Delatour C., Granier A., Dreyer E. 1994 Ann Sci For 51, 493-504

3. **DIANA I.**, 1994. Effets d'un doublement du taux de CO₂ atmosphérique sur les propriétés hydrauliques et la croissance de jeunes plants de pin maritime et de chêne liège. **DEA** de Biologie Forestière, Université de Nancy I.
4. **PEIFFER M.**, 1995. Analyse de la croissance, du fonctionnement hydrique, photosynthétique et de l'efficacité de l'eau de frênes de statuts concurrentiels variés. **DEA** de biologie forestière, Université de Nancy I. (co-encadrement avec A. Granier).

Cochard H., Peiffer M., Le Gall K., Granier A. 1997 J Exp Bot 48, 655-663

5. **LEMOINE D.** 1996. Architecture hydraulique des parties aériennes du hêtre : effets du froid et des variations d'éclairement. **DEA** de Biologie Forestière, Université de Nancy I.

Cochard H., Lemoine D., Dreyer E. 1999 Plant Cell Environ 22, 101-108

6. **MARTIN R.** 1998 Etude de la conductivité hydraulique racinaire du pin maritime (*pinus pinaster* ait.) Et du chêne pédoncule (*quercus robur* L.): aspects méthodologiques et importance ecophysiologique. **DEA** de Biologie Forestière, Université de Nancy I.

Cochard H., Martin R., Gross P., Bogeat-Triboulot MB 2000 J Exp Bot 51, 1255-1259

Bogeat-Triboulot MB, Martin R., Chatelet D, Cochard H. Ann For Sci (in press).

7. **FORESTIER S.** 1999. Variation du diamètre des tiges en fonction du potentiel hydrique chez le noyer. **Maîtrise** de Biologie Cellulaire et Physiologie. Université Balise Pascal, Clermont-Ferrand.

Cochard H, Forestier S, Améglio T 2001 J Exp Bot 52, 1361-1365

8. **COLL L.** 2000. Mise en évidence expérimentale d'un contrôle stomatique de l'embolie chez le noyer hybride. **DEA** de Biologie Forestière. Université Nancy I.

Cochard H, Coll L., Le Roux X., Améglio T. 2002 Plant Physiology 128, 282-290.

9. **LEMOINE D.** 2000. Fonctionnement hydrique du hêtre : architecture hydraulique et sensibilité à la cavitation. **Thèse** de doctorat de l'Université Nancy I. (co-encadrement avec A. Granier).

Lemoine D, Granier A, Cochard H 1999 Trees 13, 206-210

Lemoine D, Cochard H, Granier A 2002. Ann For Sci (in press)

Cochard H, Lemoine D, Améglio T, Granier A 2001 Tree Physiol 21, 27-33

10. **MARTRE P.** 2000. Architecture hydraulique d'une talle de fétuque élevée. Implications pour les relations entre la transpiration et l'expansion foliaire. **Thèse** de doctorat de l'Université de Poitiers. (co-encadrement avec JL Durand).

Martre P, Durand JL, Cochard H 2000 New Phytol 146, 235-247

Martre P, Cochard H, Durand JL 2001 Plant Cell Environ 24, 65-76

1.5 Publications

1.5.1 Revues à comité de lecture

1. **COCHARD H**, TYREE MT 1990. Xylem dysfunction in *Quercus* : vessel sizes, tyloses, cavitation and seasonal changes in embolism. *Tree Physiology* **6**, 393-407.
2. LOUSTAU D, **COCHARD H** 1991. Utilisation d'une chambre de transpiration portable pour l'estimation de l'évapotranspiration d'un sous-bois de pin maritime à molinie (*Molinia coerulea* L. Moench). *Annales des Sciences Forestières* **48**, 29-45.
3. **COCHARD H**, BREDA N, GRANIER A, AUSSENAC G 1992. Vulnerability to air embolism of three european oak species (*Quercus petraea* (Matt) Liebl, *Q. pubescens* Willd, *Q. robur* L). *Annales des Sciences Forestières*, **49**, 225-233.
4. **COCHARD H**, CRUIZIAT P, TYREE MT 1992. Use of positive pressures to establish vulnerability curves. Further support for the air-seeding hypothesis and implications for pressure-volume analysis. *Plant Physiology* **100**, 205-209.
5. **COCHARD H** 1992. Vulnerability of several conifers to air embolism. *Tree Physiol* **11**, 73-83.
6. BREDA N, **COCHARD H**, DREYER E, GRANIER A 1993. Field comparison of transpiration, stomatal conductance and vulnerability to cavitation of *Quercus petraea* and *Quercus robur* under water stress. *Annales des Sciences Forestières* **50**, 571-582.
7. BREDA N, **COCHARD H**, DREYER E, GRANIER A 1993. Water transfer in a mature oak stand (*Quercus petraea*). Seasonal evolution and effects of a severe drought. *Canadian Journal of Forest Research* **23**, 1136-1143.
8. TYREE MT, **COCHARD H**, CRUIZIAT P, SINCLAIR B, AMEGLIO T 1993. Drought-induced leaf shedding in walnut. Evidence for vulnerability segmentation. *Plant, Cell and Environment*, **16**, 879-882.
9. SIMONIN G, **COCHARD H**, DELATOUR C, GRANIER A, DREYER E 1994. Vulnerability of young oak seedlings (*Quercus robur* L.) to embolism. Responses to drought and to an inoculation with *Ophiostoma querci* (Georgevitch) Nannf. *Annales des Sciences Forestières* **51**, 493-504.
10. TYREE M.T., DAVIS S.D., **COCHARD H**. 1994. Biophysical perspectives of xylem evolution: is there a tradeoff of hydraulic efficiency for vulnerability to dysfunction? *IAWA* **15**: 335-360.
11. **COCHARD H**, EWERS F.W., TYREE M.T. 1994. Water relations of a tropical vine-like bamboo (*Rhipidocladum racemiflorum*). Root pressures, vulnerability to cavitation and seasonal changes in embolism. *Journal of Experimental Botany* **45**, 1085-1089.
12. ZOTZ G., TYREE M.T., **COCHARD H**. 1994. Hydraulic architecture, water relations and vulnerability to cavitation of *Clusia uvitana* Pittier. A C-3-CAM tropical hemiepiphyte. *New Phytologist* **127**, 287-295.
13. GRANIER A., ANFODILLO T., SABATTI M., **COCHARD H**., DREYER E., TOMASI M., VALENTINI R., BREDA N. 1994. Axial and radial water flow in the trunks of oak trees. A quantitative and qualitative analysis. *Tree Physiology* **14**, 1383-1396.
14. LU P., BIRON P., GRANIER A., **COCHARD H**. 1996. Water relations of adult Norway spruce (*Picea abies* L Karst) under soil drought in the Vosges mountains. Whole-tree hydraulic conductance, xylem embolism and water loss regulation. *Annales des Sciences Forestières* **53**, 113-121.
15. TYREE M.T., **COCHARD H**. 1996. Summer and winter embolism in oak. Impact on water relations. *Annales des Sciences Forestières* **53**, 173-180.
16. **COCHARD H**., BREDA N., GRANIER A. 1996. Whole tree hydraulic conductance and water loss regulation in *Quercus* during drought. Evidence for stomatal control of embolism ? *Annales des Sciences Forestières* **53**, 197-206.

17. **COCHARD H.**, RIDOLFI M., DREYER E. 1996. Responses to water stress in an ABA-unresponsive hybrid poplar (*Populus koreana x trichocarpa* cv. Peace) II. Hydraulic properties and xylem embolism. *New Phytologist* **134**, 455-461.
18. SPERRY J.S., SALIENDRA N.Z., POCKMAN W.T., **COCHARD H.**, CRUIZIAT P., DAVIS S.D., EWERS F.W., TYREE M.T. 1996. New evidence for large negative xylem pressures and their measurement by the pressure chamber method. *Plant, Cell and Environment* **19**, 427-436.
19. **COCHARD H.**, PEIFFER M., LE GALL K., GRANIER A. 1997. Developmental control of xylem hydraulic resistances and vulnerability to embolism in *Fraxinus excelsior* L. Impacts on water relations. *Journal of Experimental Botany* **48**, 655-663.
20. EWERS F.W., **COCHARD H.**, TYREE M.T. 1997. A survey of root pressures in vines of a tropical lowland forest. *Oecologia* **110**, 191-196.
21. GIRARD S., CLEMENT A., **COCHARD H.**, BOULET GERCOURT B., GUEHL J.M. 1997. Effects of desiccation on post-planting stress in bare-root corsican pine seedlings. *Tree Physiology* **17**, 429-435.
22. **COCHARD H.**, LEMOINE D, DREYER E 1999. The effects of acclimation to sunlight on the xylem vulnerability to embolism in *Fagus sylvatica* L. *Plant, Cell and Environ* **22**, 101-108.
23. LEMOINE D., GRANIER A., **COCHARD H.** 1999. Mechanism of freeze-induced embolism in *Fagus sylvatica* L. *Trees* **13**, 206-210.
24. **COCHARD H.**, MARTIN R., GROSS P., BOGEAT-TRIBOULOT M.B. 2000. Temperature effects on hydraulic conductance and water relations of *Quercus robur* L. *Journal of Experimental Botany* **51**, 1255-1259.
25. MARTRE P, DURAND JL, **COCHARD H** 2000. Changes in axial hydraulic conductivity along elongating leaf blades in relation to xylem maturation in tall fescue. *New Phytol* **146**, 235-247.
26. **COCHARD H.**, BODET C., AMEGLIO T., CRUIZIAT P. 2000. Cryo-scanning electron microscopy observations of vessel content during transpiration in walnut petioles. Facts or artifacts? *Plant Physiology* **124**, 1191-1202.
27. MARTRE P., **COCHARD H.**, DURAND J.L. 2001. Hydraulic architecture and water flows in a growing grass till (*Festuca arundinacea* Schreb.). *Plant, Cell and Environment* **24**, 65-76.
28. **COCHARD H.**, LEMOINE D., AMEGLIO T., GRANIER A. 2001. Mechanisms of xylem recovery from winter embolism in *Fagus sylvatica* L. *Tree Physiology* **21**, 27-33.
29. **COCHARD H.**, AMEGLIO T., CRUIZIAT P. 2001. Vessel content debate revisited. *Trends in Plant Science* **6**, 13.
30. AMEGLIO T., EWERS F.W., **COCHARD H.**, MARTIGNAC M., VANDAME M., BODET C., CRUIZIAT P. 2001. Winter stem xylem pressures in walnut trees: effects of carbohydrates, cooling and freezing. *Tree Physiology* **21**, 387-394..
31. **COCHARD H.**, FORESTIER S., AMEGLIO T. 2001. A new validation of Scholander pressure chamber technique based on stem diameter variations. *Journal of Experimental Botany* **52**: 1361-1365.
32. CROIZE L., LIEUTIER F., **COCHARD H.**, DREYER E. 2001. Effects of drought stress, and high density stem-inoculations with *Leptographium wingfieldii*, on hydraulic properties of young Scots pine trees. *Tree Physiology* **21** : 427-436
33. EWERS F.W., AMEGLIO T., **COCHARD H.**, MARTIGNAC M., VANDAME M., BODET C., CRUIZIAT P. Seasonal variation of xylem pressure in walnut trees: Root and Stem pressure. *Tree Physiology* **21**: 1123-1132
34. AMEGLIO T., **COCHARD H.**, EWERS F.W. 2001. Stem diameter variations and cold hardiness in walnut trees. *Journal of Experimental Botany* **52**: 2135-2142
35. **COCHARD H.**, AMÉGLIO T, CRUIZIAT P. 2001. The cohesion theory continues. *Trends in Plant Science* **6** : 456.

36. **COCHARD H.**, COLL L., LE ROUX X., AMÉGLIO T. 2002 Unraveling the effects of plant hydraulics on stomatal conductance during water stress in walnut. *Plant Physiology* **128**: 282-290.
37. LEMOINE D, **COCHARD H**, GRANIER A. 2002 Within crown variation in hydraulic architecture in beech (*Fagus sylvatica* L.): Evidence for a stomatal control of embolism. *Annals of Forest Sciences* (in press).
38. CRUIZIAT P, **COCHARD H**, AMÉGLIO T. 2002 The hydraulic architecture of trees: an introduction. *Annals of Forest Sciences* (in press).
39. **COCHARD H**. 2002 Xylem embolism and drought-induced stomatal closure in maize. *Planta* (in press).
40. **COCHARD H**. 2002 A technique for measuring xylem hydraulic conductance under high negative pressures. *Plant Cell and Environment* (in press).
41. BOGEAT-TRIBOULOT MB, MARTIN R, CHATELET D, **COCHARD H**. 2002 Hydraulic conductance of root and shoot measured with the transient mode of the high-pressure flowmeter. *Annals of Forest Sciences* (in press).

1.5.2 Chapitres d'ouvrages ou articles de vulgarisation

42. DREYER E., GRANIER A., BREDA N., **COCHARD H.**, EPRON D., AUSSENAC G. 1993. Oak trees under drought constraints. Ecophysiological aspects. In: LUISI N., LERARIO P., VANNINI A. (Eds), "*Recent advances in studies on oak decline*". International Congress, Proceedings, Tipografia Radio, Bari, (ITA), 293-322.
43. AUSSENAC G., GRANIER A., BREDA N., **COCHARD H.** 1993. Drought induced dysfunctions of the water transport in oak trees. In: LUISI N., LERARIO P., VANNINI A. (Eds), "*Recent advances in studies on oak decline*". International Congress, Proceedings, Tipografia Radio, Bari, (ITA), 413-423.
44. **COCHARD H.** 1994. Vulnérabilité du système conducteur du chêne rouge à la cavitation et à l'embolie. In « *Monographie du Chêne rouge d'Amérique* » J. TIMBAL *et al* coord., INRA, Paris, 90-94.
45. CRUIZIAT P., **COCHARD H.**, GIAUFFRET C. 1996. Eléments de l'organisation fonctionnelle des végétaux. Acte de l'Ecole-chercheur INRA en Bioclimatologie. Tome 1, 11-39.
46. HUBER L., BUSSIERE F., CLASTRE P., BONNEFOND J.M., **COCHARD. H** 1996. Interactions entre l'eau liquide et la végétation. Acte de l'Ecole-chercheur INRA en Bioclimatologie. Tome 1, 533-545.
47. CELLIER P., **COCHARD H.**, BONNEFOND J.M. 1996. Modélisation agrométéorologique : cas de la prévision des gelées de printemps. Acte de l'Ecole-chercheur INRA en Bioclimatologie. Tome 2, 399-409.
48. AMEGLIO T., **COCHARD H.**, PICON C., COHEN M. 1998. Water relations and hydraulic architecture of peach trees under drought conditions. *Acta Horticulturae* **465**, 355-361.
49. **COCHARD H**, GRANIER A. 1999. Fonctionnement hydraulique des arbres forestiers. *Revue Forestière Française* **51**,121-134.
50. GUEHL J.M., PICON C., VIVIN P., **COCHARD H.**, AUSSENAC G. 1999. Forêts et augmentation de la concentration atmosphérique en CO₂: effets bénéfiques ou adverses? *Revue Forestière Française* **51**, 254-265.
51. AMEGLIO T, LACOINTE A, **COCHARD H**, ALVES G, BODET C, VANDAME M, VALENTIN V, SAINT-JOANIS B, PLOQUIN S, CRUIZIAT P, EWERS F, JULIEN JL, GUILLOT A, PETEL G. 2001. Water relations in walnut tree during winter. *Acta Horticulturae* **544**, 239-246.

52. AMEGLIO T, **COCHARD H**, LACOINTE A, VANDAME M, BODET C, CRUIZIAT P, SAUTER J, MARTIGNAC M, EWERS F. 2001 Adaptation to cold temperature and response to freezing in walnut tree *Acta Horticulturae* **544**, 247-254.
53. AMEGLIO T., ALVES G, BONHOMME M.,**COCHARD H**.,EWERS F., GUILLIOT A., JULIEN J.L., LACOINTE A., PETEL G., RAGEAU R., SAKR S., VALENTIN V. 2001 Winter functioning of walnut: Involvement in branching processes. Ed. Labrecque M." L'Arbre 2000 The Tree". Collection Collectif, I.Q. editeur, Montréal (Quebec) Canada, pp. 216-224.
54. **COCHARD H.**, BODET C., AMEGLIO T., CRUIZIAT P., 2001 A method for visualizing xylem vessel content with a Cryo-SEM. In Ed. Labrecque M. " L'Arbre 2000 The Tree". Collection Collectif, I.Q. editeur, Montréal (Quebec) Canada, pp. 253-256.
55. AMEGLIO T., **COCHARD H.**, EWERS FW, LACOINTE A., LEVEQUE A. 2001 Cold hardiness: a new tool for testing acclimation- 2001- Ed. Labrecque M. " L'Arbre 2000 The Tree". Collection Collectif, I.Q. editeur, Montréal (Quebec) Canada, pp. 310-314.
56. CRUIZIAT P, AMÉGLIO T, **COCHARD H**. 2001 La cavitation: un mécanisme perturbant la circulation de l'eau chez les végétaux. *Mec. Ind.* **2**: 289-298.

Tableau récapitulatif des publications dans des journaux à comité de lecture

	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	00	01	02	Σ
TiPS												2		2
Plant Physiol			1								1		1	3
Planta													1	1
Plant Cell Environ				1			1			1		1	1	5
J Exp Bot					1			1			1	2		5
Oecologia								1						1
Tree Physiol	1		1		1			1				4		8
New Phytol					1		1				1			3
Can J For Res				1										1
Trees										1				1
Ann Sci For		1	1	1	1		3						3	10
Iawa J					1									1
TOTAL	1	1	3	3	5	0	5	3	0	2	3	9	6	41

2. Mémoire sur les travaux de recherche

Ce mémoire fait état des travaux de recherche menés sur le fonctionnement hydraulique des plantes depuis mon entrée à l'INRA en 1989. J'ai effectué ma première année de thèse dans le laboratoire de Melvin Tyree aux USA, puis les deux années suivantes dans l'Unité de Sylviculture et Production de l'INRA de Nancy sous la direction de Gilbert Aussenac et André Granier. En 1992 et 1993, j'ai rempli mes obligations militaires dans le laboratoire de Melvin Tyree au Panama avant de prendre mes fonctions de Chargé de Recherche à Nancy. En 1998 j'ai rejoint le PIAF de Clermont-Ferrand pour y poursuivre mes travaux avec Pierre Cruiziat et Thierry Améglio. Il ne s'agit bien sûr pas de présenter de façon exhaustive tous les résultats obtenus ou publiés au cours de cette période. Mon objectif est d'illustrer, par les faits expérimentaux qui me semblent les plus marquants, l'évolution de ma problématique scientifique et la façon dont ils justifient les perspectives de recherches développées dans la seconde partie de ce mémoire. Je ferai référence à mes publications par leur référence numérique telle qu'elle apparaît dans la liste jointe à ce mémoire (i.e. [4]). La référence à des travaux de la littérature se fera de manière classique (i.e. Login et Logoff 1987).

2.1 Cadre du travail

L'objet de cette première partie est de décrire brièvement ma problématique de recherche et de la situer dans un contexte historique national et international.

2.1.1 Problématique générale et évolution

La problématique générale de mes recherches est celle de l'analyse du fonctionnement hydraulique du xylème des plantes, principalement arborées. Mes travaux portent donc, pour l'essentiel, sur les transferts d'eau en phase liquide dans le système conducteur de sève brute, de ses interactions avec les facteurs du milieu et de ses implications dans le fonctionnement intégré de la plante. Le sujet de thèse qui m'a été proposé par l'équipe d'écophysiologistes de l'INRA de Nancy (G. Aussenac et A. Granier principalement) avait pour objet l'étude du fonctionnement et, surtout, des dysfonctionnements hydrauliques chez différentes espèces de chênes. Mon travail de thèse a donc consisté à caractériser la vulnérabilité à la cavitation d'un certain nombre d'espèces forestières et à développer certaines méthodes d'étude. Nous avons également contribué à l'identification des mécanismes de formation et de résorption de l'embolie. La mise en évidence de la grande diversité intra et interspécifique de la vulnérabilité des essences à l'embolie fut un résultat important de ce travail. La suite logique de ce travail fut d'analyser l'impact de la formation d'embolie sur les transferts d'eau dans la plante d'où la nécessité de définir l'architecture hydraulique des arbres, c'est à dire l'étude spatialisée des résistances hydrauliques dans l'arbre. Enfin, l'évolution plus récente de ce travail vise à replacer les données sur la vulnérabilité à l'embolie et sur l'architecture hydraulique dans l'étude du fonctionnement intégré des plantes, que ce soit en termes de régulation des échanges gazeux foliaires ou de potentialité de croissance. Les différentes étapes de mon travail de recherche, brièvement résumées ci-dessus, seront développées dans cette première partie. Mais dans un premier temps, il me semble intéressant de replacer mes travaux dans le contexte scientifique national et international du début de cette période.

2.1.2 Contexte scientifique au départ de l'étude

2.1.2.1 Recherches sur l'écophysiologie des chênes

A la suite de la grande sécheresse de 1976, des dépérissements sont apparus dans les chênaies séculaires du centre de la France. Des deux chênes mésophiles indigènes (le chêne pédonculé - *Quercus robur*- et le chêne sessile -*Q. petraea*-), principalement le premier a manifesté des symptômes de dépérissement. Cet événement majeur a occasionné de nombreuses recherches sur l'autécologie de ces espèces, leur sylviculture, la recherche de critères morphologiques fiables de reconnaissance, leurs caractères génétiques, et, enfin, sur leur écophysiologie. Les études écophysiologiques n'ont pas permis de mettre en évidence des différences de fonctionnement significatives entre ces deux espèces (voir [42] pour une synthèse des données). Les critères d'analyses classiques étaient, en particulier, le potentiel hydrique, les courbes pression-volume, le flux de sève brute et les échanges gazeux. A la fin des années 80, un nouveau critère d'évaluation du fonctionnement hydrique des arbres est apparu : la vulnérabilité du xylème à la cavitation. D'où le sujet de thèse qui m'a été proposé, mon recrutement, mes travaux passés et à venir.

2.1.2.2 Bref historique de la cavitation

Depuis que la théorie de la tension-cohésion pour expliquer la circulation de la sève brute a été proposée à la fin du XIX^{ème} siècle (finalement par je ne sais plus trop qui ! voir [38] pour un historique), nous savons que la sève est sous tension, c'est à dire sous pression négative. L'eau sous cette forme est dans un état instable et donc sujette à se vaporiser. La vaporisation soudaine de la colonne d'eau sous tension constitue le phénomène de cavitation (terme du domaine de la physique décrivant des phénomènes similaires dans les hélices de bateaux ou les canalisations hydrauliques). La conséquence de la cavitation est un arrêt de la circulation de la sève, ce qui crée une thrombose, une embolie gazeuse (terme médical bien connu). Si le risque de cavitation xylémien était connu, il a été ignoré jusqu'à la fin des années 60 car il était démontré physiquement que la vaporisation endogène de l'eau ne se produit qu'à des pressions extrêmes (<-50MPa, Briggs 1950, voir aussi Mercury et Tardy (2001) pour une étude récente sur la physique de l'eau sous pressions négatives).

John Milburn fut probablement le premier à montrer que les pressions seuils de cavitation *in planta* étaient en réalité beaucoup plus élevées (moins négatives) que celles prédites par la physique de l'eau (Milburn 1966). Il eut l'idée de détecter le bruit de la cavitation par une méthode acoustique (initialement à l'aide d'une tête de lecture d'une platine disque!). Sa technique de détection (dans les fréquences du domaine audible) était malheureusement très lourde et très contraignante. Il fut pratiquement le seul à l'employer. Hommage doit lui être rendu pour avoir donné naissance (en 1966 !) aux travaux modernes sur la cavitation chez les plantes.

Au début des années 80, **Melvin Tyree** a résolu le problème méthodologique de Milburn en détectant les émissions acoustiques produites lors de la cavitation dans le domaine ultrasonique. L'avantage certain de cette technique était qu'elle pouvait être employée en conditions normales de laboratoire, et même *in situ*. Son inconvénient majeur est qu'elle fournit des informations plus qualitatives que quantitatives sur le fonctionnement du xylème, nous y reviendrons. La technique est restée finalement très confidentielle même si un appareil a été commercialisé.

John Sperry, pendant son travail de thèse dans le laboratoire de **Martin Zimmermann** (père fondateur de l'architecture hydraulique moderne) fut le premier à proposer une méthode quantitative d'estimation du degré d'embolie dans le xylème (Sperry 1985, 1986 ; Sperry *et al* 1988). Sa technique consiste à mesurer l'effet direct de l'embolie sur la réduction de la conductance hydraulique d'un segment de xylème. John Sperry raconte que M Zimmermann pensait qu'un vaisseau embolisé restait simplement occupé par de la vapeur d'eau à sa pression partielle de saturation (proche du vide donc). En plongeant un échantillon dans de l'eau libre l'embolie devait donc rapidement se résorber. Nous reviendrons sur cette hypothèse ultérieurement. L'expérimentation a prouvé le contraire, prouvant ainsi que le vaisseau embolisé se remplit non seulement de vapeur d'eau mais se sature également d'un mélange gazeux en équilibre avec l'atmosphère¹. La technique de Sperry s'est rapidement imposée comme technique de référence, certainement en raison de sa pertinence, de sa simplicité, et de sa fiabilité.

Pierre Cruiziat est largement responsable d'avoir relayé en France les travaux d'outre-Atlantique sur l'embolie.

En 1989, une première synthèse sur la vulnérabilité du xylème à la cavitation est publiée par Tyree et Sperry. A cette date seulement huit espèces ligneuses ont été caractérisées du point de vue de leur vulnérabilité (*Rhapis excelsa*, *Juniperus virginiana*, *Thuja occidentalis*, *Tsuga canadensis*, *Abies balsamea*, *Rhizophora mangle*, *Cassipourea elleptica*, et *Acer saccharum*). En 1989 les études sur l'embolie en sont donc encore à leurs premiers balbutiements, les méthodologies d'études sont encore à améliorer, les mécanismes en jeu sont à confirmer et la pertinence scientifique de ces études reste à asseoir. La chance m'a été offerte d'effectuer ma première année de thèse (1989) dans le laboratoire de Melvin Tyree où John Sperry y terminait une étude postdoctorale et donc d'avoir accompagné l'envol des travaux sur l'embolie et, peut-être, d'y avoir modestement contribué (figure 1).

¹ John avait inscrit sur sa paillasse l'adage chinois: "The one who says "*it can't be done*", shall not disturb the one trying to do it"

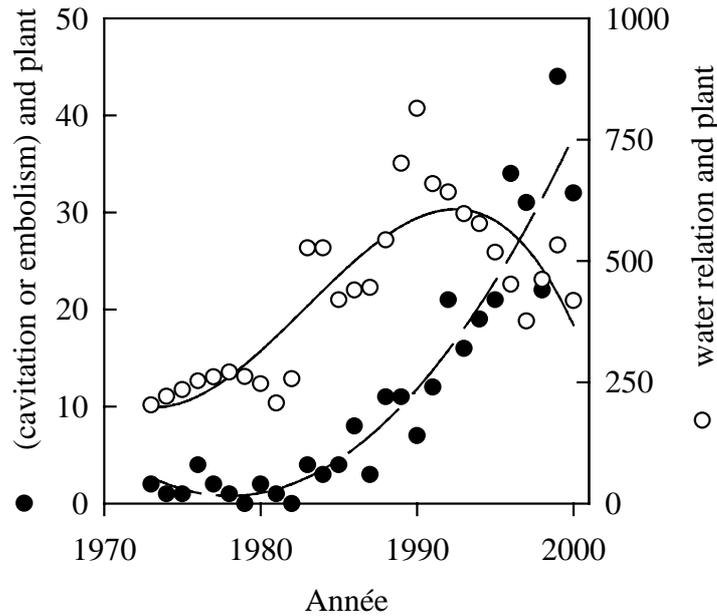


Figure 1: Evolution temporelle, de 1973 à nos jours, du nombre d'occurrences des mots "cavitation" ou "embolie" dans la base bibliographique CAB interrogée sous OVID. Le recoupement avec l'occurrence du mot "plant" est nécessaire pour filtrer les références médicales. L'envol, exponentiel, des travaux sur l'embolie commence vers la fin des années 80. Cet envol se fait malgré une diminution des travaux sur les relations hydriques des plantes en général. Remarquons enfin qu'avec quelques dizaines de publications par an les recherches sur l'embolie restent encore relativement confidentielles!

Table 1 : Critères d'évaluation et performance de différentes techniques d'estimation du fonctionnement du xylème. Les « + » correspondent aux avantages de la technique, les « - » à ses inconvénients.

Critères	Méthodes				
	Colorations	Acoustique	Hydraulique	Cryo-SEM	RMN
Mesure quantitative	+	-	++	+	+
Absolue (non amnésique)	++	--	+	++	+
Rapidité de la mesure	++	-	++	--	--
Automatisation	--	++	-	-	-
Résolution spatiale	+	-	+	++	+
Coût d'achat	++	+	++	--	--
Coût d'utilisation	++	++	++	-	--
Facilité d'utilisation	+	++	+	--	-
Non Destructive	--	++	--	--	++
Mesures <i>in situ</i>	+	++	+	--	--
Conditions <i>in planta</i>	-	++	- (+)	-	++
Facilité d'interprétation	+	--	+	+	?
Absence de biais	+	--	+	+	?
Médiatique	-	++	--	+	++
Nombre d'utilisateurs actuels	+	-	++	--	--

2.2 Avancées méthodologiques

Les méthodes de détection de l'embolie et de la cavitation ont fait l'objet d'un certain nombre d'améliorations mais aussi de critiques au cours de cette décennie de recherche. Les avantages et inconvénients des différentes techniques sont compilés dans le tableau 1.

2.2.1 Méthode acoustique

La méthode acoustique développée par Tyree (Tyree et Dixon 1983), consiste à détecter et à compter les émissions ultrasoniques produites par un segment végétal. Nous avons utilisé cette technique au début de notre travail, sur chêne rouge [1] et sur sept espèces de conifère [5]. Depuis, l'utilisation du "clickomètre" est réservée aux portes ouvertes ou autres exhibitions publiques. Plusieurs raisons nous ont conduit à l'abandonner rapidement. Tout d'abord, elle ne permet pas d'apprécier de façon quantitative l'évolution de la fonctionnalité du xylème au cours du temps. La technique ne permet pas de différencier un "click" produit par la cavitation d'une trachéide de celui provenant d'un vaisseau. Or l'impact d'un point de vue hydraulique de la perte d'une trachéide n'a rien de comparable avec celui d'un vaisseau. Ensuite, la technique ne permet pas de filtrer des "clicks" produits par des éléments conducteurs (vaisseaux, trachéides) de ceux produits par d'autres tissus (fibres par exemple). Nous avons illustré ce problème chez le chêne rouge [1] par une expérience reproduite ci-contre (figure 2). Dernier inconvénient majeur, la technique est "amnésique" en ce sens qu'elle ne garde trace des événements passés (un rameau totalement sec produit autant de clicks qu'un rameau à saturation, soit aucun). La technique acoustique nous a néanmoins fourni des résultats satisfaisants chez les gymnospermes [5]. Le bois de ceux-ci est en effet constitué très majoritairement de trachéides, ayant toutes des capacités conductrices relativement comparables. A la condition d'utiliser des échantillons n'ayant pas subi d'embolie (mais comment savoir?) et de procéder à leur déshydratation totale, on peut obtenir une relation quasi linéaire entre le pourcentage de cavitation et le pourcentage de perte de conductance hydraulique. Un certain nombre d'auteurs continuent à utiliser cette technique, leurs résultats me semblent parfois étranges, et ne sont pas exempts de critiques. Pour terminer sur la technique acoustique, il serait peut-être intéressant de revenir à la méthode audible de Milburn pour les Angiospermes qui semble, elle, détecter de façon plus spécifique les émissions produites par les vaisseaux (Ritman et Milburn 1988). Il serait peut-être également opportun de re-visiter la technique ultrasonique de Tyree en associant des acousticiens des matériaux qui ont probablement fait progresser considérablement leurs connaissances depuis les années 80. Il est peut être envisageable maintenant de concevoir des capteurs ultrasoniques sensibles spécifiquement aux émissions acoustiques produites par les vaisseaux.

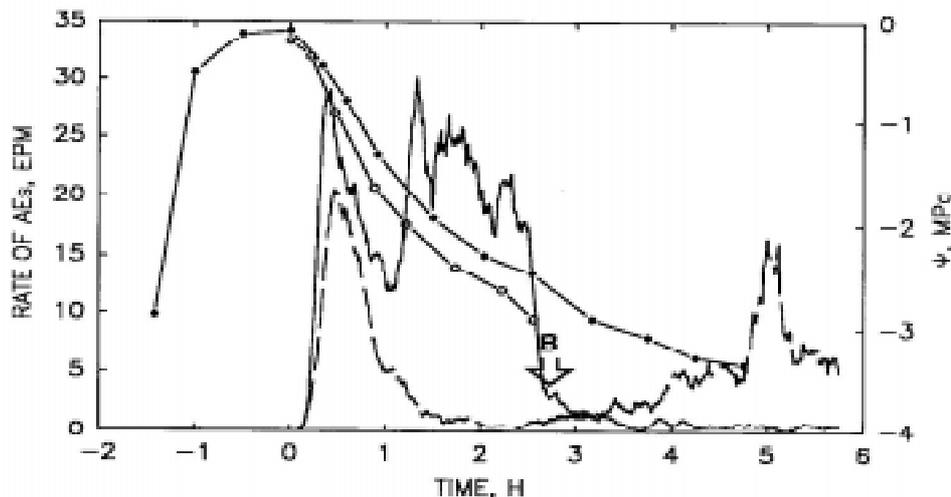


Figure 2 : Effect of repeated dehydration on acoustic emissions (AEs). Positive times on the *x*-axis give the time since the beginning of the dehydration period for both dehydration events; negative times indicate rehydration after the first dehydration. The rate of AEs (10 min running means) are indicated by solid and dashed lines without symbols for the first and second dehydration, respectively. Water potentials, Ψ_{wp} , are indicated by solid lines with open and closed circles for the first and second dehydration, respectively. After 2.8 h of the first dehydration, Ψ_{wp} had reached -3 MPa; the shoot was covered in a plastic bag to reduce transpiration and the rate of AEs declined. After 20 h, the water potential had changed little as indicated by the reading at -1.5 h (closed circle). The negative times (closed circle) indicate a 1.5-h period of rehydration after the base of the shoot was placed in water (without recutting the stem). At time zero the second dehydration began. Fewer AEs were found on the second dehydration but once Ψ_{wp} had fallen below the previous low (-3 MPa at 3.2 h during the second dehydration) more AEs were observed.

2.2.2 Méthode hydraulique

Le principe de la méthode hydraulique définie par Sperry en 1985 puis en 1988 est de mesurer la conductance hydraulique d'un segment de xylème et de la comparer à sa conductance après complète resaturation. C'est à nos yeux la technique de référence, celle que nous utilisons en routine et celle qui répond le mieux à nos besoins. Nous avons contribué à l'améliorer, à identifier certains problèmes méthodologiques et surtout à lever une critique de fond qui lui était faite. Pour un certain nombre d'espèces, la resaturation du xylème par pressurisation est inopérante. Nous avons rencontré ce problème chez des chênes [6][9] et certains conifères [5]. Nous avons attribué le problème à la formation de thylles dans les vaisseaux embolisés chez les chênes. Pour les conifères, le problème est vraisemblablement lié à l'aspiration irréversible des ponctuations contre les parois. La façon de résoudre ces difficultés est d'établir des courbes de références sur des arbres témoins (diamètre *versus* conductivité par exemple) et de calculer les conductivités théoriques à saturation. On diminue la précision de la mesure en procédant de la sorte mais on évite des sous-estimations systématiques du taux d'embolie. Une coloration à la phloxine de l'échantillon resaturé permet en général de lever le «lièvre». Nous avons constaté depuis longtemps que pour de nombreuses espèces, on observe une diminution de la conductance hydraulique au début de la mesure lorsqu'on utilise de l'eau distillée comme perfusât. L'adjonction d'une faible quantité de KCl résout en général le problème. Ce problème a été étudié en détail par Zwieniecki *et al* (2001), nous y reviendrons dans nos perspectives.

Le second point que nous voulons aborder à propos de la méthode hydraulique concerne la critique portée par Martin Canny. Martin Canny et ses collègues (eg Canny 1995 ; McCully *et al* 1998), pour expliquer les résultats de leur méthode cryogénique (voir ci-dessous), ont mis en doute la validité de la méthode hydraulique. En effet, ces auteurs ont montré avec leur technique des taux d'embolie en milieu de journée très importants, même en l'absence de toute sécheresse édaphique. La méthode de Sperry sous-estimerait le taux réel d'embolie *in planta* car les vaisseaux cavités resteraient sous vide partiel et non à la pression atmosphérique. Les vaisseaux se resatureraient donc pendant la mesure de leur conductance hydraulique initiale. Pour répondre à cette critique, on se devait de mesurer la conductance hydraulique de segments de xylème non plus sous pression hydrostatique légèrement positive comme le veut l'usage avec la méthode de Sperry, mais sous des pressions hydrostatiques aussi négatives que celles présentes *in planta*. Nous avons utilisé la force centrifuge (Pockman *et al* 1995) pour générer des pressions négatives et mesurer simultanément la conductance hydraulique d'un segment [26][40]. Les résultats montrent que, quelle que soit la méthode utilisée pour mesurer la conductance hydraulique, celle-ci demeure indépendante de la pression hydrostatique tant que le seuil de cavitation n'est pas atteint. Nos résultats suggèrent en fait que c'est la méthode cryogénique de Canny qui est artefactuelle (cf infra). Nous avons récemment amélioré notre dispositif de centrifugation [40] ce qui devrait nous permettre de mieux comprendre certains mécanismes de résorption de l'embolie.

Le dernier point à souligner à propos de la méthode hydraulique est notre contribution à l'utilisation de pressions positives pour induire de l'embolie ou générer des courbes de vulnérabilité. Sperry et Tyree (1990) ont pour la première fois montré l'intérêt d'utiliser des pressions pneumatiques positives pour induire de l'embolie. Leur technique consistait à injecter directement de l'air dans le xylème. Nous avons montré que l'on parvenait au même résultat en pressurant une branche entière dans une chambre à pression (avec la base à l'extérieur de la chambre évidemment) [3][4][5]. Le taux d'embolie induit par la pressurisation à +P MPa correspond alors au taux d'embolie observé par déshydratation à -P MPa. L'avantage de ce mode opératoire est que l'on peut déshydrater très rapidement un segment végétal et avoir une grande précision sur le niveau de déshydratation atteint. L'inconvénient est qu'il faut pressuriser autant de branches que l'on veut de points sur une courbe de vulnérabilité. Une variante de cette méthode de pressurisation permet de palier à cet inconvénient et donc de construire une courbe de vulnérabilité entière avec un seul échantillon. Nous utilisons des chambres de pressurisation ouvertes aux deux bouts que traversent entièrement des rameaux. On peut alors suivre l'évolution de la conductance hydraulique du rameau alors que la pression pneumatique dans la chambre est augmentée. Cette technique donne de très bons résultats pour les conifères et, en général, pour les feuillus à pores diffus. Pour les espèces possédant de très longs vaisseaux, les résultats nous semblent parfois douteux. L'utilisation de pressions pneumatiques pour générer des courbes de vulnérabilités est maintenant assez généralisée.

Notons enfin que nous avons conçu un nouvel appareil pour mesurer l'embolie par la méthode hydraulique. L'originalité de notre système est que la mesure du flux est effectuée par un débitmètre massique de grande précision. Ceci dispense donc de l'utilisation d'une balance analytique et rend donc possible la mesure sur le terrain. Un contrat de licence a été défini avec la société Instrutec et la commercialisation de l'appareil est prévue très prochainement.

2.2.3 Méthode cryogénique

La méthode cryogénique, brièvement abordée précédemment, consiste à figer des échantillons par congélation rapide à l'azote liquide. Le contenu des vaisseaux du xylème est alors observé dans un microscope électronique à balayage dont le porte échantillon est lui-même refroidi par de l'azote liquide (Cryo-SEM). Un tel microscope est en service sur le centre INRA de Clermont-Theix. Canny et ses collègues ont publié de très nombreux articles sur les résultats de cette méthode montrant de façon systématique une forte présence de bulle d'air (= embolie) dans les vaisseaux. L'occurrence de vaisseaux à moitié vides est également assez grande, ce qui a été interprété comme une preuve de la possibilité de résorption de l'embolie du xylème alors que la plante transpire fortement. La présence de ces vaisseaux à moitié pleins nie également l'existence de pressions négatives dans le xylème. Ceci a conduit Canny à proposer une autre théorie («compensating pressure theory») pour expliquer la montée de la sève. Nous avons démontré que la formation de ces bulles d'air se produisait pendant la phase de congélation avec l'azote liquide lorsque l'échantillon était congelé intact sur la plante (figure 3) i.e., en présence de pressions négatives. En prenant soin d'exposer la pression de la sève à la pression atmosphérique avant congélation, les résultats de la méthode cryogénique deviennent en parfait accord avec la méthode hydraulique. Nous avons donc défini les conditions de préparation des échantillons pour cette technique de façon à limiter la source d'artefacts.

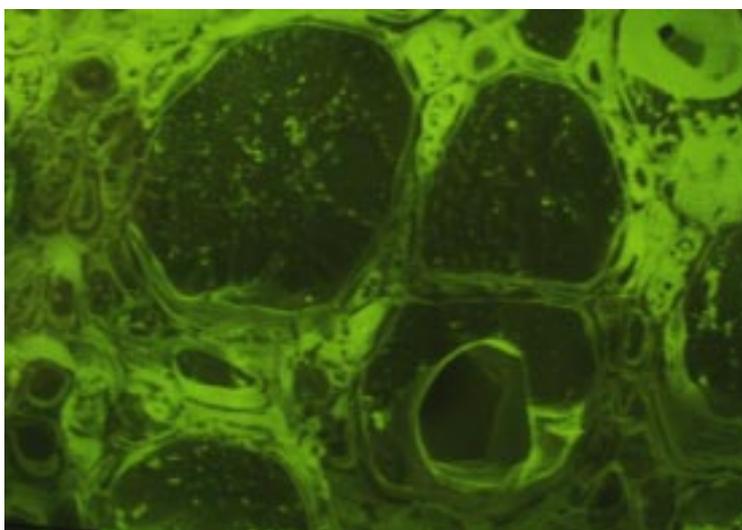


Figure 3 : Photographie en Cryo-microscopie, d'un pétiole de noyer congelé sur l'arbre à l'azote liquide alors que la pression hydrostatique était proche de -0.7MPa dans le xylème. La présence mystérieuse d'une bulle d'air dans ce vaisseau est en fait un artefact de congélation !

2.2.4 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'efficacité 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 xylémien de la sève, soit décisif pour comprendre le fonctionnement intégré des plantes.

La seconde méthode qui nous paraît 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 $20\mu\text{m}$, 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.

2.3 Résultats

On recherchera dans l'exposé de ces résultats plus une certaine suite logique qu'une description temporelle. Je présenterai donc en premier les résultats de connaissance de base sur la cavitation, sa variabilité et les mécanismes en jeu. Ensuite je replacerai ces données dans un contexte plus général et montrerai leur importance pour comprendre le fonctionnement hydrique des plantes. Mon intention est de faire ressortir un certain nombre de faits expérimentaux objectifs. L'interprétation, subjective, de ces faits se trouvera plus dans la seconde partie du mémoire.

2.3.1 Travaux sur la cavitation et l'embolie du xylème

2.3.1.1 Evolutions saisonnières de l'embolie *in situ*

Comme je le rappelais dans la première partie de ce mémoire, au départ de notre étude, les travaux sur l'embolie étaient encore embryonnaires. La démarche que nous avons suivie fut tout d'abord d'observer, *in situ*, le cycle annuel de développement de l'embolie, pour mettre en évidence la réalité du phénomène. En 1989, un tel cycle de développement n'avait été publié que pour une espèce (l'érable à sucre, Sperry *et al* 1988). Des données partielles sur vigne étaient également disponibles (Sperry *et al* 1987). La réalité du phénomène d'embolie pour une espèce d'arbre à zone initiale poreuse (comme les chênes) était alors inconnue. Nos travaux sur chênes nord-américains [1] et européens [3][6][7][15] nous ont apporté les conclusions suivantes:

- En l'absence de sécheresse, le taux d'embolie dans les pousses de l'année est faible, mais non nul.
- Le taux d'embolie dans les pousses des années précédentes est plus élevé.
- En présence d'une sécheresse forte, l'embolie vasculaire se développe très progressivement.
- L'embolie se développe de façon spectaculaire dès les premiers gels de l'automne.
- Les vaisseaux embolisés se remplissent de thyllles pendant l'hiver.
- L'embolie n'est pas résorbée au printemps.

Ce schéma est aussi valable pour le frêne [19] (figure 4), une autre espèce à zone initiale poreuse.

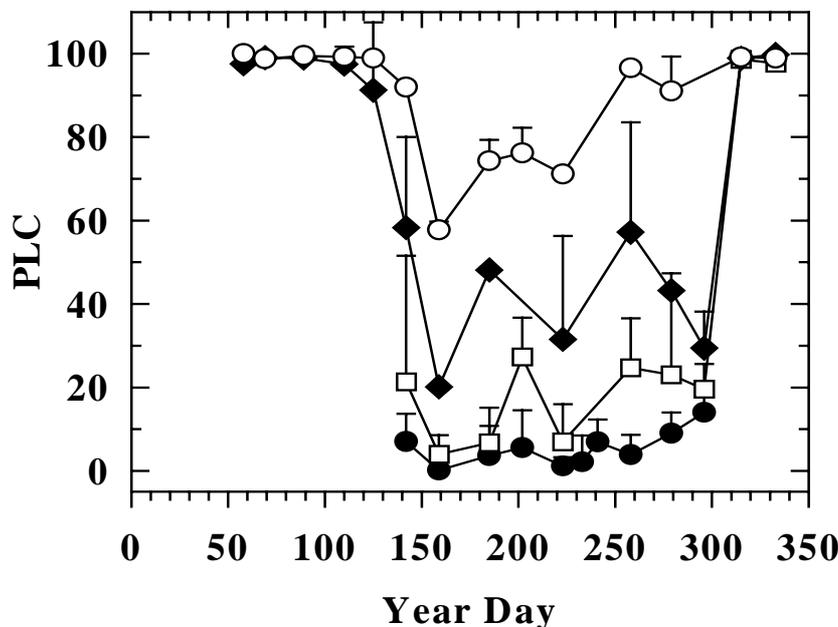


Figure 4 : Evolution du pourcentage d'embolie dans différents organes au cours d'une saison de végétation d'un Frêne. Les différentes courbes représentent, de bas en haut, les pétioles de l'année n, les tiges de l'année n, les tiges n-1, et les tiges n-2. Le recouvrement printanier est due à la formation de nouveaux vaisseaux, ce qui explique des taux résiduels en été de plus en plus importants avec l'âge des tiges. D'après la référence [19], modifié.

Nos résultats sur hêtre [22][28], une espèce à pores diffus, sont comparables aux chênes pour les trois premiers points ci dessus mais diffèrent significativement pour les points suivants :

- L'embolie se développe progressivement pendant tout l'hiver.
- Peu (ou pas ?) de thyllles se développent dans les vaisseaux embolisés.
- L'embolie est partiellement résorbée au printemps.

Chez les conifères, l'embolie ne semble pas plus se développer en été qu'en hiver [5][14]. D'autres suivis d'embolie vasculaire *in situ* effectués sur noyer [51] ou pêcher [48] (ou même sur un bambou tropical [11]) confirment les trois faits généraux suivants pour les espèces que nous avons étudiées :

- En saison de végétation, la contrainte hydrique édaphique ne peut induire de l'embolie vasculaire que dans des conditions extrêmes de sécheresse.
- L'embolie se développe en hiver avec une fréquence très variable selon les espèces.
- L'embolie est ou non résorbée au printemps selon les espèces.

Ces résultats de terrain confirment donc que l'embolie est bien une réalité biologique pour les végétaux. On se devait alors de comprendre pourquoi elle se développe peu en été, pourquoi l'occurrence de l'embolie hivernale est très variable selon les espèces et dans quelle mesure ces données sur le fonctionnement hydraulique des plantes pouvaient interagir avec le fonctionnement hydrique global de la plante. Dans un premier temps, nous avons donc été conduit à analyser, en conditions contrôlées de laboratoire, la variabilité de la réponse des espèces tant à l'embolie hivernale qu'estivale, et à étudier les mécanismes de formation et de résorption.

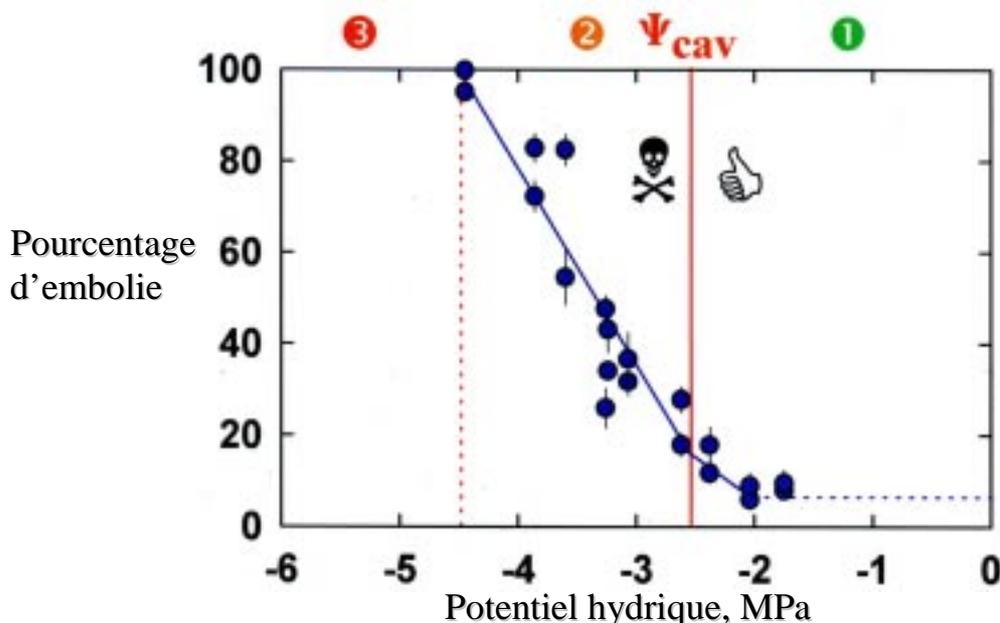


Figure 5 : Courbe de vulnérabilité typique montrant trois zones distinctes limitées par la pression seuil de vulnérabilité et la pression correspondant à 100 % d'embolie. Exemple du *Quercus petraea*, d'après [3].

2.3.1.2 Variabilité de la vulnérabilité des espèces à l'embolie

A l'origine même de notre travail se posait une question sur la variabilité des réponses de différentes espèces de chênes à la sécheresse. Nous avons analysé les capacités intrinsèques des conduits du xylème de ces espèces à supporter des pressions hydrostatiques de plus en plus négatives. La relation entre la pression hydrostatique et le taux d'embolie est ce que l'on appelle une «courbe de vulnérabilité». Une courbe de vulnérabilité typique présente trois zones distinctes (figure 5). Pour des pressions supérieures à une valeur seuil P_{cav} , le degré d'embolie est faible et indépendant de la pression. En deçà de P_{cav} , l'embolie se développe rapidement, i.e. elle devient fortement dépendante de la pression. Enfin, pour des pressions inférieures à une seconde valeur seuil (P_{100}), tout le tissu conducteur est embolisé. On se réfère fréquemment au P_{50} , la pression hydrostatique dans le xylème provoquant 50% d'embolie. P_{cav} , P_{50} et P_{100} sont des paramètres fortement corrélés entre eux. Nous utilisons des fonctions logistiques pour les décrire. Nos travaux ont montré que la variabilité de ces différents paramètres hydrauliques est singulièrement grande, et ce à plusieurs niveaux d'analyse.

2.3.1.2.1 Variabilité interspécifique

C'est au niveau interspécifique que la variabilité est la plus grande. Les espèces les plus vulnérables que nous ayons rencontrées sont les peupliers [17][4], les saules [4], le noyer [8], [26] le maïs [39] et un arbre CAM tropical [12]. Pour ces espèces, la pression seuil de cavitation se situe entre -1 et -2MPa. Les espèces les moins vulnérables sont des chênes méditerranéens [15], des cèdres [5], un pin corse [21] ou un bambou tropical [11]. Les valeurs seuils de cavitation sont inférieures à -4MPa pour ces espèces. Enfin, de nombreuses espèces montrent des pressions seuils d'embolie entre -2 et -4 MPa (chênes tempérés [1][3], hêtre [22][37], frêne [19], et conifères tempérés [5][14]). Les variations mesurées sont donc, en absolue et en relatif, très conséquentes. C'est une condition nécessaire pour rendre un paramètre physiologique pertinent d'un point de vue fonctionnel, mais à l'évidence, pas suffisant. Néanmoins, ces premiers résultats étaient, de façon qualitative, très encourageants. En effet, la hiérarchisation des espèces par le paramètre de pression seuil de cavitation correspond globalement bien à la notion empirique de résistance à la sécheresse de ces espèces. Les espèces xériques sont les moins vulnérables. Ces données sont également cohérentes avec les «stratégies» de réponse des espèces à la sécheresse. Les espèces tolérantes, qui, par opposition aux espèces évitantes, maintiennent des activités physiologiques à des niveaux de contrainte hydrique plus élevés, sont les moins vulnérables. Dans la suite de notre travail, nous nous sommes attachés à montrer que ces paramètres hydrauliques étaient également pertinents d'un point de vue quantitatif.

2.3.1.2.2 Variabilité génotypique

Des résultats de la littérature montrent que la variabilité de la vulnérabilité du tissu conducteur à la cavitation existe à un niveau infra-spécifique, entre génotypes (Neufeld *et al* 1992) ou provenances géographiques d'un même taxon (Franks *et al* 1995, Ladjal 2001). Nous avons peu de résultat à notre actif à ce sujet, mais nous sommes convaincus de l'importance que va prendre ce genre d'étude dans le futur. Nous avons récemment étudié la vulnérabilité à la cavitation de quatre génotypes de maïs (*Zea mays forestris*) [39]. Nous avons demandé à des semenciers de nous fournir des couples de génotypes qu'ils jugeaient extrêmes du point de vue de leur «résistance à la sécheresse». Nos résultats montrent que le critère de vulnérabilité à la cavitation ne permet pas de distinguer ces génotypes. Ceci illustre le fait que la notion de «résistance à la sécheresse» est évidemment très large et très vague et que dans ce cas précis ce sont sur des critères spécifiques de l'élaboration du rendement, en interaction avec la contrainte hydrique, qu'une différenciation des génotypes aurait pu être faite. Néanmoins cette étude fut riche d'enseignements quant' au fonctionnement hydrique du maïs.

2.3.1.2.3 Segmentation de vulnérabilité dans l'arbre

Autre niveau d'organisation où la variabilité de la vulnérabilité à la cavitation est conséquente : entre les différents organes d'un même individu. Nous avons mis en évidence des vulnérabilités contrastées selon le diamètre des rameaux de conifères [5]. Ces différences, comme celles observées par Sperry *et al* (1988) sur érable restent faibles et, bien que statistiquement significatives, probablement peu significatives d'un point de vue fonctionnel. En revanche, nos résultats sur noyer [8][26] montrent une nette segmentation de vulnérabilité à laquelle on peut attribuer un rôle fonctionnel. En effet, chez cette espèce, les pétioles des feuilles sont nettement plus vulnérables que les tiges qui les portent. La différence entre les seuils de vulnérabilité est telle (~ 1MPa) que lorsque les pétioles sont totalement embolisés, l'embolie ne s'est toujours pas produite dans les tiges. Ainsi, lors du développement progressif d'une sécheresse édaphique, l'embolie se forme d'abord dans les pétioles, les feuilles alors tombent ce qui réduit considérablement les pertes en eau de l'arbre et maintient le système conducteur des tiges toujours intact. Cette segmentation de vulnérabilité est probablement un mécanisme de protection contre les effets d'une contrainte hydrique. Nous l'avons rencontré chez le noyer, mais pas chez les chênes [1][3], ni les peupliers [17], ni le frêne [19].

2.3.1.2.4 Variabilité phénotypique

Enfin, nous avons identifié une source de variabilité phénotypique de la vulnérabilité à l'embolie liée à des conditions environnementales de croissance. Chez le hêtre tout d'abord [22][37], nous avons montré que, pour un même type d'organe (les pousses de l'année) et sur un même arbre, les branches développées à la lumière étaient très nettement moins vulnérables que celles développées à l'ombre (différence de l'ordre de 1 MPa). Nous avons pu reproduire ces résultats sur jeunes plants de hêtres mis en culture sous différents niveaux de lumière incidente [22]. Ces résultats ont été vérifiés pour un certain nombre d'autres espèces ligneuses par T Ibrahim et E Dreyer depuis (non publié). Chez le frêne également des différences nettes de vulnérabilité ont été mises en évidence au niveau des pétioles des

feuilles en fonction de leur position dans le houppier [19]. A la différence du hêtre, ce sont les pétioles portés par les branches de la base du houppier qui sont les moins vulnérables. Nous nous sommes également intéressés à l'impact d'une augmentation de la teneur en CO₂ atmosphérique sur la vulnérabilité du pin maritime à l'embolie [50]. Dans les conditions de notre expérimentation, nous n'avons mis en évidence aucun effet significatif chez cette espèce.

Ces mesures en laboratoire des potentialités intrinsèques du xylème à tolérer la déshydratation nous permettent de tirer, à ce stade de l'exposé, les trois conclusions suivantes :

- Il est possible de caractériser, à un instant donné, la vulnérabilité d'un organe donné d'un végétal donné (ou d'une collection d'organes identiques) par sa courbe de vulnérabilité. Cette courbe est unique et représentative du matériel végétal considéré. En d'autres termes, la courbe de vulnérabilité est un paramètre intrinsèque au tissu conducteur, fixe et non variable à court terme.
- Il existe une variabilité considérable de la vulnérabilité à l'embolie selon les taxons, les organes, les conditions de croissance. Cette variabilité possède donc une composante génétique certaine, mais avec des expressions contrastées au cours du développement et de l'organogenèse des plantes ; d'où la formation de phénotypes très contrastés.
- La vulnérabilité d'un organe à l'embolie ne semble pas être un paramètre fortuit. Au contraire, on peut reconnaître dans ce paramètre une certaine cohérence avec ce que l'on sait par ailleurs du fonctionnement hydrique des plantes et de leur réponse à la sécheresse en particulier. Cette appréciation n'est que qualitative, nous la quantifierons plus tard.

Dans la suite de notre travail, nous nous sommes intéressés aux mécanismes de formation et de résorption de l'embolie de façon à interpréter de manière déterministe les faits expérimentaux décrits précédemment.

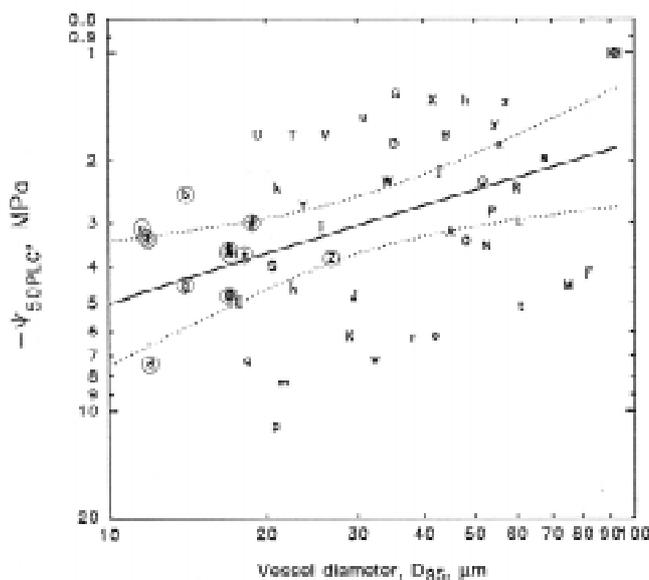


Figure 6 : Relation entre le diamètre hydraulique des conduits du xylème de différentes espèces et la pression hydrostatique provoquant 50 % de perte de conductance hydraulique. D'après [10].

2.3.1.3 Mécanismes de formation

Les suivis saisonniers d'embolie *in situ* montrent que différents mécanismes sont susceptibles d'être à l'origine d'un dysfonctionnement xylémien. Il convient donc de distinguer l'embolie qui se développe en hiver de celle liée à la contrainte hydrique. Nous mentionnerons également des perturbations liées à l'action de certains pathogènes.

2.3.1.3.1 Embolie estivale

Nous avons montré que le système conducteur des plantes peut être très diversement vulnérable à l'embolie induite par déshydratation. Contrairement à une idée préconçue (et tenace), il est rapidement apparu que le seuil de cavitation n'était en rien corrélé aux dimensions des conduits du xylème (Figure 6). Il existe par exemple des espèces de conifère (diamètre des trachéides : quelques dizaines de microns) beaucoup plus vulnérables que des bambous-liane tropicaux (diamètre des vaisseaux :

quelques centaines de microns). C'est donc ailleurs et à une autre échelle que l'on devait rechercher le mécanisme de formation de cette embolie.

Différents mécanismes sont en fait susceptibles d'être à l'origine de la rupture d'une colonne d'eau sous tension. Ces mécanismes possibles ont été proposés dès le début des années 80 par Zimmermann (1983) et Pickard (1981). En revanche, les preuves expérimentales en faveur de l'une ou l'autre de ces hypothèses n'étaient alors pas disponibles. Deux hypothèses principales étaient annoncées : i) une source de nucléation "endogène" qui serait liée à une rupture des liaisons faibles entre les molécules d'eau dans le lumen des conduits ; ii) une nucléation "hétérogène" où le site de nucléation se ferait au niveau des parois des conduits. L'hypothèse du "germe d'air" de Zimmermann s'inscrit dans cette deuxième catégorie. Cet auteur a proposé que la rupture de la colonne d'eau serait causée par l'entrée d'une bulle d'air à travers un pore de la paroi primaire des conduits. A la fin des années 80 c'est cette hypothèse qui prévalait. Elle avait reçu un certain nombre de confirmations expérimentales (Sperry et Tyree 1988) : similarité entre les pressions capillaires due à la taille des pores des conduits et P_{cav} ; influence de tensioactifs sur P_{cav} etc... Notre contribution à la validation de l'hypothèse du germe d'air provient d'une expérience de pressurisation [4]. L'idée à l'origine de la manipulation était que si l'hypothèse de germe d'air était correcte alors la variable déterminante est la *différence* de pression entre les phases liquides et gazeuses au niveau des ménisques dans les conduits. Dans un tissu conducteur en déshydratation, la pression dans la phase gazeuse est en équilibre avec la pression atmosphérique et la pression dans la phase liquide est de plus en plus négative. Si l'hypothèse était la bonne, alors augmenter la pression pneumatique dans la phase gazeuse et maintenir une pression nulle dans la phase liquide devait avoir le même effet sur la formation de l'embolie. Nous avons réalisé l'expérience avec des tiges flexibles de saule et peuplier insérées dans l'enceinte d'une grande chambre à pression, les deux extrémités des tiges restant seules à l'extérieur. L'une des extrémités est connectée à une colonne d'eau afin d'imposer un flux d'eau à travers la tige et de maintenir la pression hydrostatique dans les vaisseaux proche de zéro. La mesure de l'évolution du flux d'eau à travers l'échantillon lorsque la pression pneumatique dans la chambre est augmentée démontre que l'embolie ne se forme que lorsqu'une pression seuil est atteinte. Cette pression correspondant à la pression seuil obtenue par déshydratation, l'hypothèse de travail est alors validée.

A la suite de ce travail, l'hypothèse du germe d'air a reçu d'autres confirmations expérimentales, comme l'élégante expérience de perfusion de microbilles par Jarbeau *et al* (1995). Le mécanisme est légèrement différent entre les conifères et les feuillus. L'hypothèse du germe d'air semble maintenant bien assise expérimentalement. C'est donc au niveau de l'anatomie fine des parois primaires des conduits que l'on doit rechercher l'origine de la formation d'embolie en présence d'une contrainte hydrique. Ceci explique donc que, de façon générale, la vulnérabilité d'un conduit à la déshydratation ne soit pas liée à son diamètre. En ce qui concerne l'embolie hivernale, la réalité est différente.

2.3.1.3.2 Embolie hivernale

L'embolie hivernale est un phénomène dont l'occurrence est très variable selon les espèces. A la différence de l'embolie estivale, cette vulnérabilité semble très dépendante de l'anatomie du xylème : plus les conduits sont larges, plus ils sont sensibles. La formation d'embolie en hiver est très étroitement liée aux alternances de gels et de dégels de la sève. Nous avons en effet montré que chez le frêne [19], la chute des feuilles n'augmente pas significativement le degré d'embolie dans les tiges (ni dans les pétioles d'ailleurs !). En revanche, dès les premiers gels, l'embolie gagne tout le système conducteur. Mais c'est en étudiant en laboratoire l'effet du gel sur la capacité conductrice d'un rameau que l'on met le mieux en évidence son rôle dans la formation de l'embolie. Nous avons réalisé de telles expériences sur chêne rouge [1], hêtre [23] et plus récemment sur noyer [51]. Sur chêne rouge, nous avons montré qu'un seul cycle gel/dégel suffisait à réduire considérablement la conductance hydraulique d'un rameau. Sur hêtre, l'effet est plus progressif et on obtient un degré important d'embolie seulement après plusieurs cycles. De plus, le fait d'exposer le xylème à des pressions hydrostatiques négatives avant congélation facilite le développement de l'embolie. Par ailleurs, nous avons montré que chez cette espèce l'embolie se développe de façon préférentielle dans l'apex des branches bien que les vaisseaux y soient de plus faible diamètre que dans les tiges.

Ces données montrent que le mécanisme de formation d'embolie pendant la phase hivernale est assez complexe et met en jeu plusieurs paramètres. Il y a tout d'abord la taille du conduit qui joue sur le diamètre et donc le volume maximal des bulles d'air qui se forment lors de la prise en masse de la sève (la sève est saturée en gaz, et les gaz ne sont pas solubles dans la glace). L'anatomie des vaisseaux a certainement un rôle à jouer également. En effet, la présence de perforations scalariformes

entre deux éléments de vaisseaux pourrait éviter la fusion des bulles d'air et par conséquent la formation de grosses bulles. Il y a ensuite l'état de pression dans lequel se trouve la sève lorsque celle-ci dégèle. Plusieurs composantes peuvent intervenir sur cette pression : le poids de la colonne d'eau, la dilatation volumique de la glace qui peut créer des surpressions ou au contraire des dépressions, la dynamique de congélation dans la branche, la déshydratation par cristallisation. La combinaison de ces paramètres fera que, soit la pression de la sève est inférieure à la pression capillaire due à la convexité des bulles d'air et alors le conduit s'embolisera ; soit, dans la situation contraire, les bulles d'air se redissolueront dans la sève et le conduit restera fonctionnel.

Je ne reviendrai pas de façon détaillée sur cette question d'embolie hivernale dans mes perspectives de recherches car cette thématique est maintenant principalement assurée par Thierry Améglio dans notre équipe.

2.3.1.3.3 Embolie d'origine biotique

Un certain nombre de pathogènes sont susceptibles de provoquer des dysfonctionnements au niveau du xylème. Le cas le plus connu est celui de la maladie de l'orme due à un *Ophiostoma*. Il a été démontré que la cause de mortalité liée à cette maladie est due à une embolisation massive du xylème (Newbanks *et al* 1983). Deux hypothèses ont été émises pour rendre compte de cette embolie : soit l'embolie se forme lorsque les hyphes pénètrent dans le xylème, soit le pathogène rend le tissu conducteur plus vulnérable à la cavitation, par l'émission de tensioactifs par exemple. Même si la première hypothèse semble la plus probable, la seconde n'a jamais été testée expérimentalement. Nous avons tenté de tester ces hypothèses sur un autre *Ophiostoma*, parasite des chênes celui-ci [9] ainsi que sur un pathogène du pin [32]. Notre expérimentation sur chêne s'est révélée peu concluante en raison de la faible pathogénicité de la souche utilisée. En revanche, sur pin, nous avons observé une plus forte progression du pathogène en présence d'une contrainte hydrique. Cette pathogénicité accrue peut être attribuable à une moindre efficacité des mécanismes de défenses de l'arbre en présence d'une sécheresse édaphique. La question reste donc ouverte et mériterait d'être revisitée.

2.3.1.4 Mécanismes de recouvrement de l'embolie

Un certain nombre de faits expérimentaux attestent d'une possibilité de recouvrement de la capacité de conduction des conduits du xylème après embolie. C'est la raison pour laquelle nous avons étudié ces mécanismes de recouvrement. Il convient ici aussi de distinguer les mécanismes liés à l'embolie hivernale de ceux inhérents à l'embolie estivale.

2.3.1.4.1 Embolie hivernale

Les suivis saisonniers que nous avons effectués sur chêne [1][3], frêne [19], hêtre [28] ou noyer [51] suggèrent un recouvrement de l'embolie hivernale au printemps (et même en hiver chez le noyer !). Deux mécanismes très distincts peuvent, à priori, rendre compte de tels recouvrements : i) une résorption de l'embolie, et donc une réactivation des conduits embolisés ; ii) une production de nouveaux vaisseaux fonctionnels. Le premier mécanisme suppose la disparition de l'air contenu dans les conduits. D'un point de vue physique, cela implique l'existence d'une différence de pression entre les lumens des conduits et leur environnement, c'est à dire d'une pression pneumatique supra-atmosphérique dans le conduit embolisé. Nous avons donc effectué des mesures de pression de sève pendant la phase de recouvrement chez ces espèces. Les résultats montrent que chez les chênes, le frêne et le pêcher, le recouvrement s'effectue en l'absence de génération de pressions positives. Chez ces espèces nous avons donc attribuer le recouvrement à la formation de nouveaux conduits fonctionnels au printemps. Il n'y a donc pas de résorption active de l'embolie chez ces espèces, et les conduits embolisés pendant l'hiver le sont à jamais. Chez le hêtre ou le noyer en revanche, des pressions positives de sève sont mesurables au printemps, mais de façon plus ou moins concomitante avec la reprise cambiale. Une étude précise des caractéristiques hydrauliques du xylème pendant cette période nous a permis de distinguer quantitativement les deux phénomènes chez le hêtre [28]. En effet, les cellules cambiales ont tendance à générer des conduits de plus en plus larges, au moins dans les premières années. Il y a donc un profil radial de diamètres croissants de la moelle vers l'écorce. La conductance d'un conduit variant avec la puissance 4 de son diamètre, la conductivité spécifique (par unité de surface conductrice) augmente donc de cernes en cernes. Si un tissu conducteur embolisé est resaturé sans formation de nouveaux vaisseaux, alors la diminution du taux d'embolie s'opère sans modification de la conductivité spécifique. S'il y a production de vaisseaux, la conductivité spécifique augmente pendant le recouvrement de l'embolie. Chez le hêtre, nous avons donc pu distinguer deux phases successives (figure 7), une première durant laquelle l'embolie est résorbée activement, une

seconde correspondant à la reprise de l'activité cambiale. Pendant l'année d'étude, le recouvrement de l'embolie hivernale fut principalement attribuable à l'activité cambiale. Néanmoins, les variations inter-annuelles ou inter-individus de pressions racinaires et de croissance cambiale restent mal connues. Il est probable qu'une faible croissance combinée à de faibles pressions puissent expliquer de forts taux d'embolie résiduels dans les tiges âgées de hêtres lorrains pendant l'été 1993. Ces questions attendent des études complémentaires.

Chez le noyer, sur l'initiative de Thierry Améglio, nous nous sommes intéressés aux mécanismes à l'origine des pressions positives de sève [30][33]. Nous avons montré que le phénomène est en fait complexe et met en action des pressions d'origine racinaires et d'autres provenant des tiges elles-mêmes. Les premières seraient plutôt liées à l'absorption d'ions par les racines, les secondes au chargement en sucre des vaisseaux.

De nombreux points restent donc à éclaircir au sujet de la formation et de la résorption de l'embolie hivernale. De même, l'impact physiologique d'une embolie résiduelle après la phase de recouvrement n'est pas connu. Je reviendrai peu sur ces questions dans mes perspectives, car ces recherches seront principalement assurées par Thierry Améglio dans notre équipe.

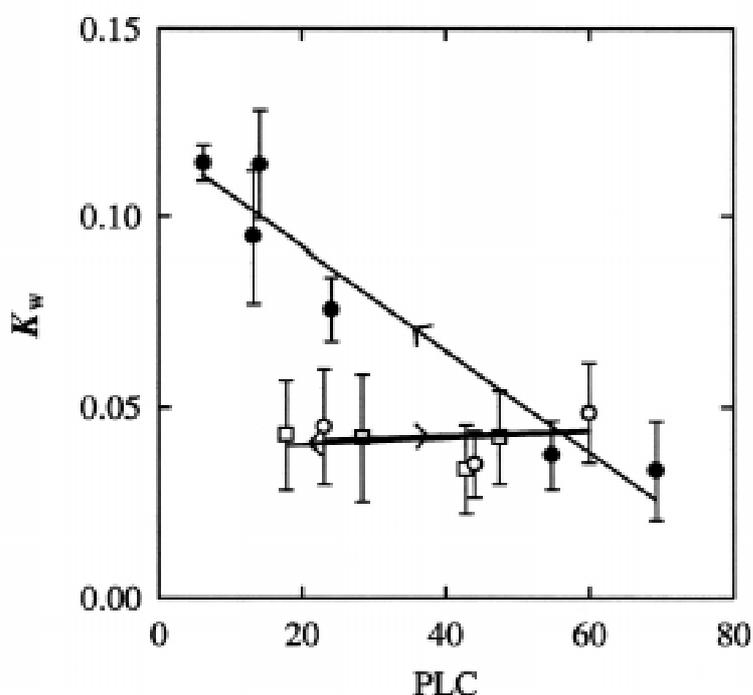


Figure 7 : Mise en évidence de deux mécanismes de recouvrement de l'embolie chez le hêtre. Pour le premier mécanisme (symboles ouverts) on observe une diminution du taux d'embolie (axe des x) à conductivité hydraulique constante (axe de y). Il s'agit donc d'une réactivation des conduits embolisés par resaturation. Pour le deuxième mécanisme (symboles fermés), le recouvrement est concomitant avec une augmentation de la conductivité. Ce recouvrement s'explique par la formation de nouveaux vaisseaux fonctionnels. D'après [28].

2.3.1.4.2 Embolie estivale

La possibilité d'une résorption de l'embolie pendant la phase estivale est l'une des questions le plus d'actualité dans notre microcosme scientifique. Des travaux suggèrent des variations journalières d'embolie et des résorptions actives même en présence de pressions très négatives dans le xylème des vaisseaux non embolisés. Nous y reviendrons plus en détail lors de nos perspectives. Pour l'heure, je me contenterai d'abord de signaler à nouveau que les diminutions du taux d'embolie après une phase de sécheresse chez le chêne [7][9] étaient en réalité des artefacts de mesure de la technique hydraulique liés à la formation de thylles dans les vaisseaux embolisés. De même les variations journalières d'embolie dans les pétioles de noyer étaient des artefacts de la méthode cryogénique [26]. Enfin, sur maïs, nous n'avons pas été en mesure de montrer des pertes significatives de conductances hydrauliques sur des plants fortement déshydratés [39]. Ce résultat est en désaccord avec les travaux de Tyree *et al* (1986) reposant sur une détection acoustique de la cavitation.

Dans la suite de ce mémoire, je ne ferai référence qu'à nos travaux en relation avec l'embolie liée à la contrainte hydrique. A ce stade de nos recherches nous avons donc acquis les connaissances suivantes sur l'embolie estivale :

- La vulnérabilité du système conducteur à la cavitation est extrêmement variable.
- La cavitation se forme lorsque la pression du xylème devient inférieure à une pression seuil déterminée par l'anatomie fine des punctuations.
- Il existe une relation qualitative entre la vulnérabilité à la cavitation et le fonctionnement hydrique des plantes.
- La cavitation ne se forme, *in situ*, qu'en exposant les plantes à une sécheresse très drastique.
- Il existe, à long terme, des mécanismes de recouvrement.

Nous nous devons alors d'identifier des relations fonctionnelles, quantitatives, entre les fonctionnements hydriques et hydrauliques des plantes, ainsi que de comprendre pourquoi le développement de l'embolie semble contrôlée *in situ*. Cette étape était décisive pour établir la pertinence de ces travaux sur la cavitation pour la compréhension du fonctionnement hydrique des plantes et de leur réponse à une sécheresse.

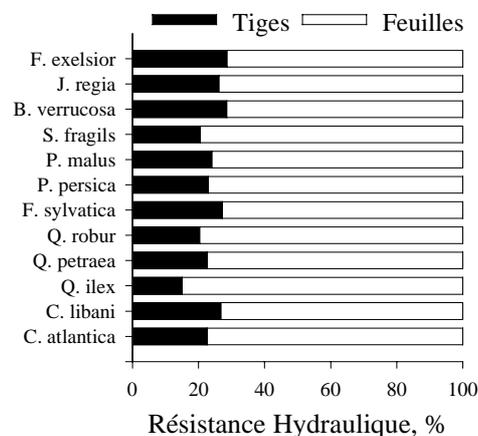


Figure 8 : Distribution des résistances hydrauliques aériennes chez 12 espèces ligneuses. De façon générale, la résistance principale se situe au niveau des limbes foliaires.

2.3.2 Architecture hydraulique

De façon à comprendre les relations éventuelles entre les phénomènes de cavitation et le fonctionnement hydrique de la plante, nous avons été amenés à étudier l'architecture hydraulique de différentes espèces. Il s'agit en particulier d'analyser les relations entre, d'une part, un paramètre, le taux d'embolie, qui dépend, du point de vue de son mécanisme, de la pression hydrostatique du xylème et qui module sa conductance hydraulique, et d'autre part, des paramètres tels le potentiel hydrique du sol, la conductance stomatique ou la transpiration qui eux modulent la pression hydrostatique du xylème. Pour expliciter ces relations, nous faisons appel au formalisme Ohmique de Van den Honert (1948). On peut ainsi relier la pression hydrostatique P_x à chaque point du trajet de la sève à la résistance hydraulique R du trajet et au flux de sève F ($P_x = \Psi_{soil} - R \cdot F - pgh$)

L'objet de nos études sur l'architecture hydraulique était d'analyser la variable résistive de cette équation et de définir ses variations spatio-temporelles. Nous avons combiné plusieurs approches expérimentales pour évaluer ces résistances hydrauliques :

- mesure indirecte, à l'échelle de l'arbre, de la résistance hydraulique totale du trajet [7][14][16][24][32][36]. Cette mesure se fait *in situ* en dérivant R des mesures journalières de flux et de potentiels hydriques foliaires selon l'équation ci-dessus.
- mesure directe, à l'échelle de la branche ou du système racinaire, de la résistance hydraulique totale du trajet [19][24][36][48]. Cette mesure se fait à l'aide d'un fluxmètre à haute pression (HPFM) et permet de distinguer les résistances vasculaires des résistances extravasculaires.

- mesure directe de la résistance hydraulique d'un segment de xylème, typiquement un entre-nœud eg : [3][5][12][17][19][22]. Cette mesure est similaire à celle employée pour déterminer hydrauliquement le taux d'embolie dans un segment. Ces mesures locales peuvent alors être intégrées au niveau d'une branche [12][27][38].

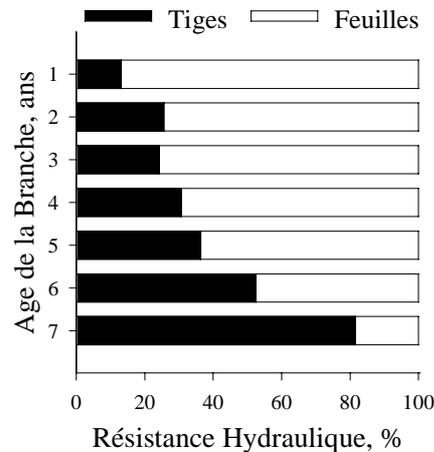


Figure 9 : Distribution des résistances hydrauliques aériennes entre les différentes branches d'un houppier de frêne. Plus les branches sont âgées, et donc localisées à la base du houppier, plus la part de la résistance vasculaire est grande. D'après [19].

En considérant des niveaux d'observation de plus en plus fins, nous pouvons conclure de ces travaux sur l'architecture hydraulique les faits principaux suivants :

- à l'échelle du continuum sol-plante, la résistance hydraulique est fortement dépendante des conditions hydriques dans le sol. Nous avons analysé ces relations lors de nos travaux *in situ* sur chêne [7][16] ou épicéa [14] ou en conditions contrôlées sur noyer [36] ou pin [32]. La résistance hydraulique d'un sol bien hydraté étant faible, la résistance se situe principalement dans la plante en situation de bonne alimentation en eau. En revanche dès que la teneur en eau dans le sol diminue, sa résistance hydraulique augmente très fortement. Les variations de résistance observées au cours d'une sécheresse édaphique à ce niveau d'intégration sont donc principalement attribuables à des variations de résistances localisées dans le sol, ou à l'interface entre le sol et les racines.
- à l'échelle de la plante, les mesures au HPFM montrent que les résistances sont, en général, distribuées de façon équivalente entre la partie aérienne et la partie racinaire [24][36].
- A l'intérieur de chacun de ces compartiments, les résistances sont très majoritairement situées dans la partie extravasculaire du trajet (i.e., dans la partie corticale des racines et dans le mésophylle des feuilles) [19][24][27][36]. Pour la partie aérienne, 80% en moyenne de la résistance hydraulique est localisée dans les limbes foliaires (figure 8). Néanmoins, nos mesures sur frêne [19] et hêtre [37] montrent que cette proportion de résistance foliaire peut varier entre les différentes branches composant le houppier d'un arbre (figure 9). Pour les jeunes branches situées dans la partie apicale de l'arbre, la résistance hydraulique est effectivement en majorité localisée dans les limbes foliaires. Pour les branches plus âgées de la base du houppier, elle est au contraire principalement dans le xylème. L'augmentation de la résistance xylémienne est due à l'augmentation de la densité de nœuds. Ces changements de résistance hydraulique au cours du développement sont accompagnés d'une modification de la vulnérabilité du xylème à la cavitation. De même, chez le pêcher [48], les pousses vigoureuses de l'année se développant directement sur le tronc ont des résistances vasculaires plus faibles que les pousses plus âgées.
- enfin, à l'échelle du segment de xylème, nous avons mis en évidence des différences importantes d'efficacité hydraulique (mesurées par la conductivité hydraulique spécifique du xylème) entre différents types de pousses : les pousses "courtes" du hêtre [38] ou du frêne [19] ont un tissu vasculaire plus résistif que les pousses "longues".

Ces résultats montrent qu'il existe bien une architecture du système hydraulique dans la plante, c'est à dire qu'il existe une certaine construction, un plan d'organisation du xylème. Il nous appartiendra alors de rechercher l'implication fonctionnelle de cette architecture, si elle existe.

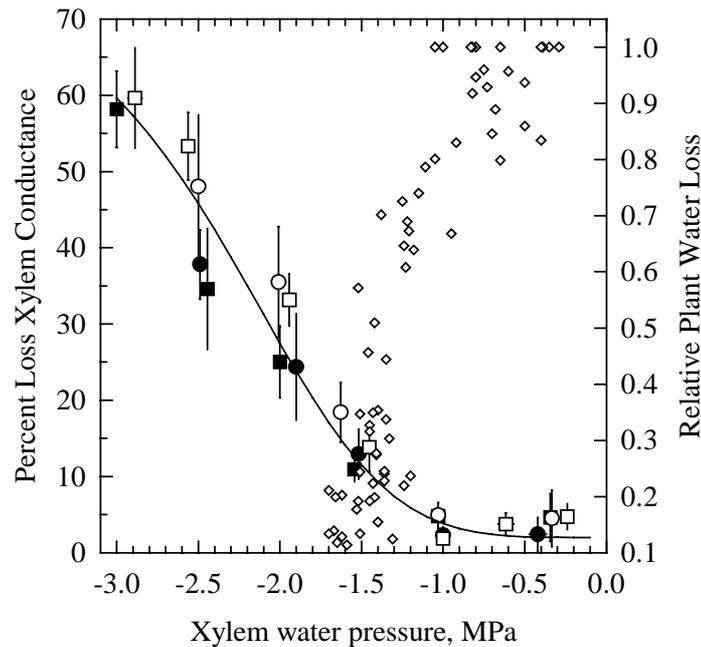


Figure 10 : Exemple de couplage entre le fonctionnement stomatique et le fonctionnement hydraulique du xylème (ici chez le maïs). On note une correspondance entre la diminution de la transpiration foliaire (échelle de droite, petits losanges vides) et le point d'induction de la cavitation (échelle de gauche). D'après [39].

2.3.3 Embolie estivale et relations hydriques des plantes

Le dernier ensemble de résultats que je présenterai concerne des essais d'intégration de nos connaissances sur le fonctionnement hydraulique du xylème. L'objet de ces études est d'analyser leurs implications dans le fonctionnement hydrique et la régulation des flux d'eau dans la plante.

2.3.3.1 Sécheresse édaphique et relations hydriques

Pour un certain nombre d'espèces (chêne [6][7][16], bambou [11], épicéa [14], noyer [8][36], peuplier [17], hêtre [37], et maïs [39]) nous avons caractérisé l'évolution d'un certain nombre de paramètres physiologiques (potentiel hydrique foliaire, pression du xylème, transpiration, conductance stomatique) au cours d'une sécheresse édaphique. Ces résultats ne sont originaux que dans la mesure où nous les avons confrontés à nos données sur le fonctionnement hydraulique de ces mêmes espèces. De façon générale, encore une fois, nous pouvons tirer les conclusions suivantes de ces études :

- Du fait de la forte augmentation de la résistance hydraulique du sol et, dans une moindre mesure, de la diminution de son potentiel hydrique, la pression hydrostatique du xylème devient très rapidement proche de la pression seuil de cavitation. La différence entre ces valeurs n'est alors réduite qu'à une fraction de MPa. Si la sécheresse se prolonge, la pression hydrostatique peut devenir inférieure à la pression seuil et de l'embolie se forme.
- Lorsque la pression hydrostatique du xylème approche le seuil de cavitation, on observe une diminution progressive de la transpiration et de la conductance stomatique (figure 10). Ainsi, pour l'ensemble des espèces renseignées sur ce point, on observe une corrélation étroite en la pression hydrostatique provoquant 10 % d'embolie et celle correspondant à 90 % de fermeture stomatique (figure 11).

Le premier point est important car il répond, pour partie, à la question de la pertinence des travaux sur la cavitation. En effet, il suggère que les espèces que nous avons étudiées opèrent très près de leur seuil de cavitation, ce qui confirme une hypothèse émise dès 1988 par Tyree et Sperry. On imagine alors que le risque de cavitation puisse former une limitation fonctionnelle pour la plante et que ce paramètre puisse interférer avec son fonctionnement hydrique. On aurait pu imaginer un tout

autre scénario : la même variabilité intra et interspécifique de la vulnérabilité à la cavitation, la même cohérence avec la réponse de ces espèces à la sécheresse (les espèces les moins vulnérables sont les plus xériques) mais une incompatibilité entre les pressions seuil de cavitation et les pressions mesurées *in planta* lors d'une sécheresse (par exemple un seuil de cavitation à -6MPa chez un peuplier et -10MPa chez un cèdre). Les études sur la cavitation auraient été intéressantes en tant que telles, avec éventuellement certaines implications fonctionnelles, mais non pertinentes pour la compréhension du fonctionnement des espèces soumis aux effets d'une sécheresse édaphique modérée.

Le second point est également important car il suggère, implicitement, une relation entre les fonctionnements stomatiques et hydrauliques. Y a-t-il un contrôle stomatique du risque d'embolie vasculaire chez les plantes ?

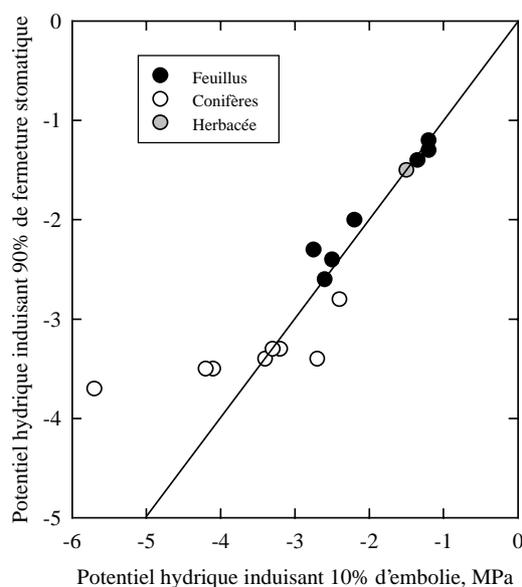


Figure 11 : Relation empirique entre la pression hydrostatique du xylème provoquant 10% d'embolie et celui correspondant à 90% de fermeture stomatique. D'après la référence [38] (modifié).

2.3.3.2 Contrôle stomatique de l'embolie

La réponse à la question d'un contrôle stomatique de l'embolie n'est évidemment pas simple, en particulier à cause de la complexité du fonctionnement stomatique et du nombre de facteurs pouvant l'affecter. De plus, l'écophysiole, telle que nous la pratiquons, est une science corrélative. Nous pouvons mettre en évidence des corrélations statistiquement très robustes (comme celle de la figure 11), sans pour autant prouver l'existence de relations de causalité entre les différentes variables mesurées. A l'inverse, l'absence de corrélation ne nie pas forcément l'existence d'une relation de causalité (elle peut être la preuve d'un système très régulé, maintenant une variable constante).

Une première façon de mettre en évidence le rôle de la régulation stomatique dans la limitation du développement de l'embolie est de raisonner par la négative, c'est à dire en se posant la question de ce qui se passerait si la régulation n'avait pas lieu. Nous avons appliqué ce mode de raisonnement dans notre étude sur chêne *in situ* [16]. On montre ainsi facilement que si la transpiration des arbres soumis à une sécheresse édaphique était restée constante, alors le système vasculaire se serait très rapidement embolisé, contrairement à la réalité. Encore une fois, cette prédiction s'explique d'une part par le fait que la résistance hydraulique du continuum sol-plante augmente fortement, et, d'autre part, par le fait que ces arbres opèrent très près de leur pression seuil de cavitation.

Ce genre de calcul est simpliste dans la mesure où il ne prend pas en compte le "feed back" de la formation d'embolie sur la pression hydrostatique. En effet, dès que de l'embolie se forme, la résistance hydraulique augmente. Si la transpiration reste constante alors la pression hydrostatique diminue ce qui crée encore plus d'embolie. Ce cercle vicieux est celui de "l'emballage de l'embolie" (Tyree et Sperry 1988). Nous avons récemment développé un tel modèle sur noyer [36] prenant en compte de façon explicite la distribution des résistances dans l'arbre et les différences de vulnérabilité entre les différents organes chez cette espèce. Les simulations montrent que la transpiration s'ajuste au

cours de dessèchement de façon à maintenir le taux d'embolie à une valeur inférieure à 10 %, c'est à dire bien en deçà du point d'emballement qui lui se situe vers 100 %.

Nos travaux sur peuplier [17] apportent également une confirmation expérimentale à l'hypothèse d'un contrôle stomatique de l'embolie. Nous avons utilisé un hybride entre *P trichocarpa* et *P koreana*, dont les stomates des feuilles perdent leur sensibilité à l'ABA au cours de leur maturation. Face à une sécheresse édaphique, les stomates des jeunes feuilles apicales se ferment alors que les autres restent largement ouverts. Nos mesures montrent que, dans ces conditions expérimentales, l'embolie se développe rapidement dans les pétioles des feuilles matures alors qu'elle reste faible dans ceux des jeunes feuilles. La perte de régulation stomatique chez cette espèce s'accompagne donc d'une incapacité à conjurer le développement de l'embolie.

La suite logique de ce travail est d'analyser de façon plus précise les relations entre les fonctionnements stomatiques et hydrauliques. Ces travaux ne font que commencer et feront donc l'objet d'un certain nombre de perspectives. Je présenterai ici les résultats d'un certain nombre d'expériences visant à identifier les variables hydriques et hydrauliques pertinentes dans ces relations.

L'installation d'une sécheresse édaphique s'accompagne d'une modification d'un certain nombre de paramètres hydriques ou hydrauliques : potentiel hydrique du sol, résistance hydraulique du sol, voire résistance hydraulique des tiges en cas d'embolie, et potentiel hydrique foliaire. Ces paramètres sont de plus fortement corrélés entre eux. Quel est, de ces paramètres hydriques, celui ou ceux les mieux corrélés à la fermeture stomatique ? Pour répondre à cette question, nous avons tenté de découpler expérimentalement ces paramètres. Nous avons, tout d'abord, fait varier la température du sol de plants en pots saturés en eau. En procédant de la sorte, on module la conductance hydraulique du système racinaire (ainsi que celle du sol mais celle-ci est négligeable dans ces conditions) mais on n'altère pas le potentiel hydrique du sol. Nos résultats sur chêne [24] ou sur noyer [36] montre qu'un tel traitement provoque une fermeture stomatique. Le potentiel hydrique du sol n'est donc pas seul responsable dans ce type de réponse. Ensuite, nous avons modulé la résistance hydraulique du xylème des troncs en provoquant de l'embolie par injection d'air [36] ou par incision du xylème [37]. A nouveau, ce traitement provoque une fermeture stomatique suggérant ainsi que la modification d'une propriété hydrique au niveau du système racinaire ne soit pas seule à l'origine d'une réponse stomatique dans ce type d'expérience. Dans notre travail sur noyer [36], qui combinait ces différentes expériences (déshydratation du sol, température racinaire, injection d'air) nous avons par ailleurs mis en évidence une relation unique entre la pression hydrostatique du xylème et la transpiration (ou la conductance stomatique). La même relation peut être établie avec le potentiel hydrique foliaire ou la pression de turgescence foliaire, ces paramètres étant fortement corrélés dans ce genre d'expérience. Ces résultats tendent à montrer que ce ne sont pas le potentiel hydrique du sol, sa conductance hydraulique ou les conductances xylémiennes qui sont, en tant que telles, pertinentes pour comprendre la réponse des stomates, mais la façon dont ces paramètres jouent sur les paramètres hydriques foliaires. Cette façon est exprimée explicitement dans l'équation 1. Nous reviendrons plus en détail dans nos perspectives sur ce point.

Les conclusions, provisoires, que nous pouvons tirer de ces travaux encore embryonnaires sur le couplage des fonctionnements hydrauliques et stomatiques sont les suivantes :

- Les espèces fonctionnent très près de la limite fonctionnelle de leur tissu conducteur.
- Le maintien de l'intégrité du xylème lorsque la plante est exposée à une contrainte hydrique édaphique nécessite une régulation de sa pression hydrostatique
- La corrélation entre les fonctionnements hydrauliques et stomatiques suggèrent une implication de ces derniers dans le contrôle du développement de l'embolie.

Au terme de l'exposé de nos travaux sur l'architecture hydraulique que nous avons menés au cours d'une décennie de recherches, parallèlement à des études menées ailleurs bien sûr, je ferai le constat suivant : la mise en évidence d'un risque réel d'embolisation vasculaire chez les plantes est reconnue comme étant l'une des avancées récentes les plus significatives dans le domaine des relations hydriques. C'est d'ailleurs l'une des rares disciplines de l'écophysiologie "classique" à trouver encore presse dans des revues de physiologie maintenant à forte connotation moléculaire. Ces travaux apportent de plus un nouveau regard voire une nouvelle compréhension, sur le fonctionnement des stomates en réponse à une contrainte hydrique. Ce sont ces raisons qui m'amènent à proposer un certain nombre de perspectives de recherche dans la continuité des travaux menés jusqu'à aujourd'hui. Il ne faut pas y voir un entêtement, mais une conviction personnelle de leur pertinence.

3. Discussion et Perspectives de recherches

La deuxième partie de ce mémoire est consacrée aux perspectives de recherches sur l'architecture hydrauliques. Ce sont des perspectives à moyen ou long terme que j'entends développer au sein du PIAF et au sein du groupe "Xylème" (groupe informel de travail regroupant l'ensemble des acteurs de l'hydraulique en France). Ce sont donc des perspectives de recherche relativement larges qui concernent la thématique hydraulique dans sa globalité. J'essaierai néanmoins de positionner mon action personnelle dans ces perspectives. Mon intention est surtout de faire part d'un certain nombre de réflexions et de soulever des points de blocage conceptuels. Je me suis également livré à l'exercice de faire émerger un certain nombre de sujets de thèse autour de certaines de ces perspectives.

3.1 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 devons 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 généralité 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. J'ai structuré ces perspectives autour de ces différentes échelles d'analyse et commencerai par l'échelle la plus fine.

3.2 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.

3.2.1 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 je l'ai souligné précédemment, il est probable que ce soit à ces deux extrémités du système vasculaire des plantes que la signifiante 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 cryogénique 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'efficacité 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 (cf 2.2.3).

3.2.2 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 généralité 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.

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

Nous avons souligné dans la première partie de ce mémoire, la variabilité phénotypique importante des paramètres hydrauliques. 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 ayant 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 minimum, pression hydrostatique du xylème, pression de turgescence etc...). L'expérimentation pourra combiner deux approches complémentaires : une approche de terrain qui visera à caractériser des individus dans des conditions stationnelles contrastées. La difficulté évidente de cette approche est qu'elle combine inévitablement 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 la 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 provoquent 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 traitée 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 (cf 1.3.2.1.4). 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 capacités 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. La majeure partie de ces études ne présentent pas de difficultés majeures, ni d'un point de vue conceptuel ni méthodologique. Les résultats attendus sont importants et le risque d'échec me semble faible. Ceci m'amène donc à définir un premier projet de thèse.

Sujet de thèse N°1

ETUDE DE LA VARIABILITE PHENOTYPIQUE DE LA VULNERABILITE A LA CAVITATION INDUITE PAR DES FACTEURS DU MILIEU

Objectifs de la thèse : L'objectif principal de la thèse sera de quantifier expérimentalement l'action de certaines variables pertinentes du milieu sur les caractéristiques hydrauliques du xylème. Un second objectif sera d'analyser l'impact de cette variabilité sur le fonctionnement hydrique et stomatique des plantes.

Expérimentations envisagées : L'expérimentation portera sur différents types de matériel ligneux. Elles combineront des espèces plus ou moins vulnérables, des espèces pionnières et climaciques, des espèces ayant une forte amplitude écologique et des espèces à niches écologiques plus étroites. Les variables environnementales à privilégier seront : la disponibilité en eau, la texture du sol et l'irradiance. La prise en compte de la teneur en CO2 atmosphérique et de la température seront pris en compte si le contexte de l'étude, ou du financement, correspond à des préoccupations de changement climatique global. L'expérimentation sera réalisée principalement en conditions de culture contrôlées, mais on cherchera, dans la mesure du possible, à valider les observations par des mesures de terrain. Les mesures feront appel aux techniques classiques de l'écophysologie.

Résultats attendus : Les résultats attendus concernent la compréhension des interactions entre la physiologie des plantes et leur environnement (c'est ce que l'on doit appeler l'écophysologie). Ils permettront d'objectiver les capacités d'acclimatation des arbres voire à identifier des possibilités de dysfonctionnement face à des environnements changeants.

3.3 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 cf 1.3.1.3.1), de nombreux points restent encore à élucider. Ces recherches se situent clairement à l'extrémité fondamentale de la thématique et nécessiteront une approche multi-disciplinaire.

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 physico-chimiques de la sève sont donc de première importance pour les études sur la cavitation.

3.3.1 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 fautive. 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 $\pm 5\%$. La variabilité autour du diamètre D des pores est donc du même ordre. Si $P_{\text{cav}} = -3\text{MPa}$, alors $D = 100\text{ nm}$ et l'écart maximum à la moyenne est 5nm . En d'autres 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 paraît 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 xylogénèse. 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 xylogénèse 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 xylogénèse 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 différenciation 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.

3.3.2 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'efficacité 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'étude des mécanismes qui régulent la composition chimique de la sève, que ce soit au niveau racinaire ou au niveau des cellules associées au vaisseau.

L'enjeu cognitif de ces études est certain, leur difficulté et leur risque d'échec également, je ne me hasarderai donc pas à proposer un sujet de thèse sur ce thème. En revanche 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.

3.3.3 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 (cf § 1.3.1.4.2) 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 (Cryo-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 (§1.3.1.4.1) 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 hydrophobe 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 sommes évertués à rompre la voie apoplasmique !). Le gradient de potentiel hydrique entre le symplasme et la cellule cavitée 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 -0.1MPa (l'ouverture de la ponctuation est de l'ordre de $3\text{ }\mu\text{m}$). 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.

3.4 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.

3.4.1 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 maintien 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 (cf § 2.7.2) 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.

3.4.2 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 maintien 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.

3.4.3 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 façon dont la contrainte hydrique la module semble moins renseignée.

3.4.4 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 xylogénèse (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 décorrélérer 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 porte-greffes 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 géotypes «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 écophysologiques. De tels géotypes 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.

Sujet de thèse N°2

ETUDE DETERMINISTE DU COUPLAGE ENTRE LE FONCTIONNEMENT STOMATIQUE ET LES CARACTERISTIQUES HYDRAULIQUES DU XYLEME.

Objectif de la thèse : L'objectif de la thèse sera d'analyser, du point de vue des mécanismes, les relations entre la vulnérabilité du xylème à la cavitation induite par la contrainte hydrique et la réponse des stomates à la même contrainte hydrique. L'objectif sera donc de démontrer si ces relations sont causales ou simplement corrélatives.

Expérimentations envisagées : Différentes approches expérimentales seront mises en œuvre pour atteindre cet objectif. Il s'agira en particulier de découpler le fonctionnement stomatique des caractéristiques hydrauliques. Ceci peut être fait en utilisant des géotypes modifiés pour leur fonctionnement stomatique (mutant ABA- par exemple) ou par la pratique de greffes (greffon d'une plante vulnérable sur un porte greffe résistant par exemple). Des expérimentations devront également tenter d'identifier les paramètres hydriques impliqués dans la perception de la contrainte hydrique. Elles viseront en particulier à découpler le potentiel hydrostatique du xylème du potentiel de turgescence foliaire. Des mesures cellulaires de pression de turgescence, voire de pression hydrostatiques seront envisagées.

Résultats attendus : Les principaux résultats que l'on peut attendre de ces études sont, d'un point de vue cognitif, une compréhension de la régulation des échanges gazeux des plantes en phase de sécheresse. D'un point de vue plus finalisé, ces recherches pourraient fournir des marqueurs physiologiques de résistance ou de performance des plantes face à la sécheresse.

3.5 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.

3.5.1 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 défini 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 significatives 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 fonctionnement 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.

3.5.2 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 (figure 12). 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.

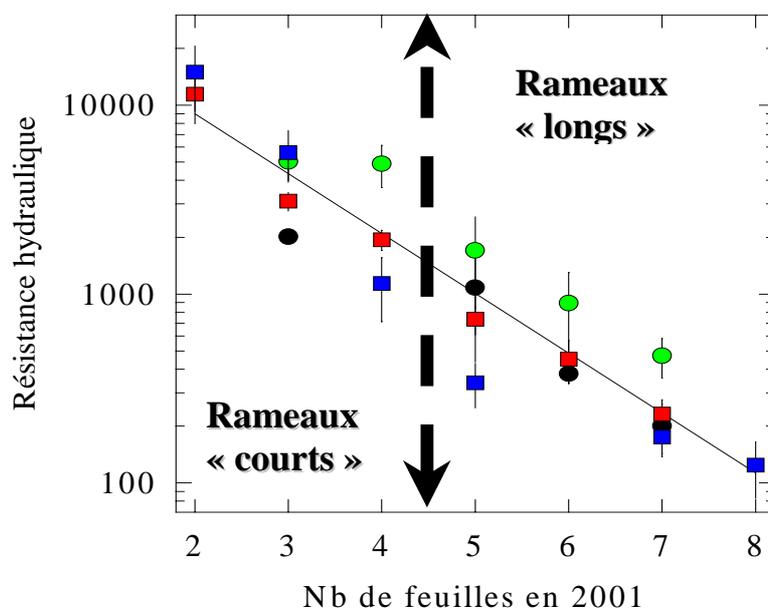


Figure 12 : Relation entre le nombre de primordia foliaires du bourgeon (= nombre de feuilles qui se développeront) et la résistance hydraulique du xylème alimentant le bourgeon. Les différents symboles correspondent à des mesures sur différents types d'axes. La ligne verticale correspond à la transition entre les rameaux courts et les rameaux longs. (Cochard, Nicoloni *et al* non publié)

3.5.3 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 méristématique. Nous éludons le problème hormonal dans ces recherches (ratio auxine/cytokinine par exemple) car leur étude sort de notre champ de compétence écophysologique. 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 ? Est-ce 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 reçue 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 pertinentes (potentiel hydrique et ses composantes, conductances 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 ^{13}C 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. Un sujet de thèse me semble envisageable sur ce thème.

**ETUDES DES DETERMINISMES ECOPHYSIOLOGIQUES DE L'ORGANOGENESE
DES BOURGEONS ET DES FLUCTUATIONS INTER-ANNUELLES DE LA SURFACE
FOLIAIRE CHEZ LE HETRE.**

Objectif de la thèse: L'objectif de la thèse est de fournir des bases fonctionnelles de la mise en place des ébauches foliaires dans les bourgeons de Hêtre de façon à comprendre et modéliser les fluctuations inter-annuelles d'architecture, de surface foliaire et in fine d'indice foliaire des peuplements.

Expérimentations envisagées: L'expérimentation combinera différents niveaux d'analyse. A l'échelle de la parcelle, des analyses rétrospectives de variations relatives d'indice foliaire seront effectuées grâce à des analyses architecturales rétrospectives de l'architecture des arbres. En effet, la présence de marqueurs anatomiques externes de la succession des unités de croissance annuelles et des traces foliaires chez cette espèce permet de reconstruire l'histoire et l'évolution architecturale des couronnes sur de nombreuses années. Ces mesures seront effectuées sur des parcelles dont l'indice foliaire a été suivi depuis plusieurs années. Elles seront mises en relation avec des paramètres pédo-climatiques pouvant altérer la formation du bourgeon: températures et disponibilité en eau du sol. Des mesures écophysiologicals seront effectuées à une échelle plus fine, celle de la branche. Elles feront appel aux techniques classiques de l'écophysiological (échanges gazeux foliaires, relations hydriques, discrimination isotopique du carbone, etc..). Elles auront pour objectifs d'apporter des validations expérimentales aux observations corrélatives effectuées en peuplement. Un volet important de ces expérimentations consistera à étayer l'hypothèse d'un contrôle hydraulique de la mise en place des ébauches foliaires.

Résultats attendus : Du point de vue cognitif, ces études renseigneront le déterminisme de la croissance et de la ramification du hêtre. D'un point de vue plus finalisé, ces travaux permettront de comprendre les variations actuelles ou futures de productivité des hêtraies.

3.6 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.

3.6.1 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 mettent-elles 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'efficacité 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 effondrés (figure 13), 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 mécaniciens (C Coutand, B Moulia et G Jeronimidis) pour calculer la résistance mécanique au collapsus des trachéides. La piste biomécanique semble assez prometteuse et devra être évaluée en collaboration avec des mécaniciens.

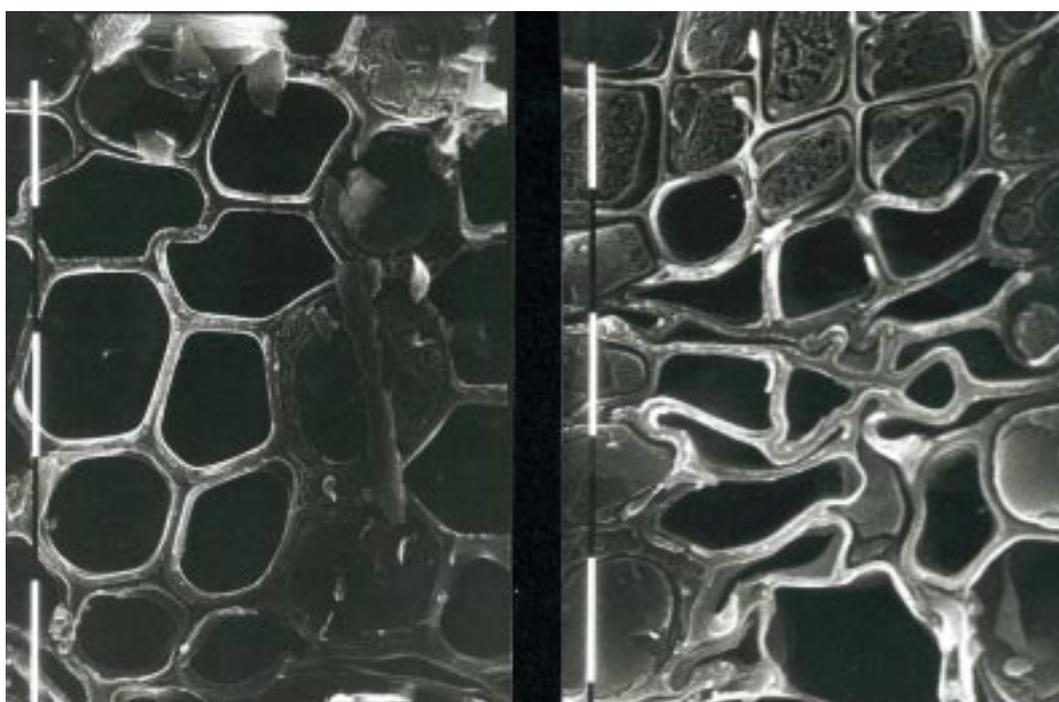


Figure 13 : Coupes transversales à travers le tissu vasculaire d'aiguilles de pin noir observées au Cryo-SEM. Les aiguilles sont prélevées sur des branches bien hydratées ($P_x = -0.5\text{MPa}$; à gauche) ou déshydratées ($P_x = -1.8\text{MPa}$; à droite) et congelées à l'azote liquide. La déshydratation s'accompagne par un effondrement des parois des trachéides et non par leur embolisation. Les cellules non effondrées sont des cellules parenchymateuses. Les barres correspondent à $10\mu\text{m}$. (Cochard et Froux, non publié).

3.6.2 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 continue 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 (cf § 1.3.3.2). 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, comme nous l'avons développé précédemment (§ 2.5.3), 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.

3.6.3 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 ces caractéristiques un trait fonctionnel écologiquement significatif. On peut alors 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 où 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 ayant 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 inmanquablement 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. Ces études pourraient être reprises dans le cadre de ce dernier sujet de thèse.

IMPLICATIONS FONCTIONNELLES DE L'ARCHITECTURE HYDRAULIQUE DANS LA STRUCTURE ET LA DYNAMIQUE DES ECOSYSTEMES VEGETAUX.

Objectif de la thèse : L'objectif de la thèse sera de mettre en relation les caractéristiques hydrauliques du xylème (vulnérabilité, efficacité) des espèces qui partagent un même milieu et les caractéristiques pédo-climatiques de ce milieu.

Expérimentations envisagées : Les mesures et les observations se feront principalement dans des milieux naturels. On favorisera des milieux où la contrainte hydrique est potentiellement limitante. Les mesures consisteront à caractériser les propriétés hydrauliques et le fonctionnement hydrique des différentes espèces au cours de la saison de végétation. Une expérimentation sera également envisagée sur une parcelle expérimentale de Noyer mise en place au PIAF il y a quelques années. Cette parcelle comprend des noyers enherbés isolés et des noyers en association avec trois autres espèces ligneuses. Un modèle de bilan hydrique parcellaire et de fonctionnement hydrique des espèces sera également élaboré au cours de ce travail

Résultats attendus : Des résultats en terme de compréhension de la structure naturelle des associations végétales et de leur biodiversité sont attendus. L'approche de modélisation fournira des résultats prédictifs quant à l'évolution future de ces associations en réponse à des changements climatiques globaux.

3.7 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 :

3.7.1 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.

3.7.2 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).

3.7.3 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.

3.7.4 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.

4. Conclusions

Au cours de l'histoire encore récente du fonctionnement hydraulique des arbres, nous avons, je pense, fait la preuve de pertinence de cette approche pour la compréhension de leur fonctionnement physiologique. Le caractère générique de ces études, avec en particulier sa pertinence pour les plantes non ligneuses, reste largement à établir. La part qu'auront prises mes perspectives dans ce mémoire traduit le fait qu'énormément de travail reste à faire. Ce travail se fera collectivement et en développant des collaborations multidisciplinaires.

5. 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
- Briggs LI** 1950. Limiting negative pressure of water. *Journal of Applied Physics* 21, 721-722
- Canny MJ** 1995. A new theory for the ascent of sap-cohesion supported by tissue pressure *Annals of Botany* 75, 343-357.
- Franks PJ, Gibson A, Bachelard EP** 1995. Xylem permeability and embolism susceptibility in seedlings of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh from two different climatic zones. *Australian Journal of Plant Physiology* 22, 15-21
- 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
- Jarbeau JA, Ewers FW, Davis SD** 1995. The mechanism of water-stress-induced embolism in two species of chaparral shrubs. *Plant, Cell and Environment*, 18, 189-196
- Ladjal M.** 2001. Variabilité de l'adaptation à la sécheresse des cèdres méditerranéens (*Cedrus atlantica*, *C. brevifolia* et *C. libani*), aspects écophysiologicals. 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
- McCully ME, Huang CX, Ling LEC** 1998. Daily embolism and refilling of xylem vessels in the roots of field-grown maize. *New Phytologist* 138, 327-342
- Mercury L, Tardy Y** 2001. Negative pressure of stretched liquid water. *Geochimistry of soil capillaries. Geochimica et Cosmochimica Acta* 65, 3391-3408
- Milburn JA** 1966. The conduction of sap 1. Water conduction and cavitation in water stressed leaves. *Planta* 69, 34-42
- Neufeld HS, Grantz DA, Meinzer FC, Goldstein G, Crisosto GM, Crisosto C** 1992. Genotypic variability in vulnerability of leaf xylem to cavitation in water-stressed and well-irrigated sugarcane *Plant Physiology* 100, 1020-1028
- Newbanks D, Bosch A, Zimmermann MH** 1983. Evidence for xylem dysfunction by embolization in dutch elm disease. *Phytopathology* 73, 1060-1063
- Pickard WF** 1981. The ascent of sap in plants *Progress in Biophysics and molecular Biology* 37, 181-229
- Pockman WT, Sperry JS, Oleary JW** 1995. Sustained and significant negative water pressure in xylem. *Nature* 378, 715-716
- Ritman KT, Milburn JA** 1990. The acoustic detection of cavitation in fern sporangia *Journal of Experimental Botany* 41, 1157-1160
- 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, Holbrook NM, Zimmermann MH, Tyree MT** 1987. Spring filling of xylem vessels in wild grapevine. *Plant Physiology* 83, 414-417

- Sperry JS, Donnelly JR, Tyree MT** 1988. A method for measuring hydraulic conductivity and embolism in xylem. *Plant, Cell and Environment* 11, 35-40
- Sperry JS, Donnelly JR, Tyree MT** 1988. Seasonal occurrence of xylem embolism in sugar maple (*Acer saccharum*) *American Journal of Botany* 75, 1212-1218
- Sperry JS, Tyree MT** 1988. Mechanism of water stress-induced xylem embolism. *Plant Physiology* 88, 581-587
- Sperry JS, Tyree MT** 1990. Water-stress-induced xylem embolism in three species of conifers. *Plant, Cell and Environment* 13, 427-436
- 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, Dixon MA.** 1983. Cavitation events in *Thuja occidentalis* L. Ultrasonic acoustic emissions from the sapwood can be measured. *Plant Physiology* 72, 1094-1099
- Tyree MT, Fiscus EL, Wullschlegel SD, Dixon MA** 1986. Detection of xylem cavitation in corn under field conditions. *Plant Physiology* 82, 597-599
- 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
- Tyree MT, Sperry JS** 1989. Vulnerability of xylem to cavitation and embolism. *Annual Review of Plant Physiology and Plant molecular Biology* 40, 19-38
- Van Den Honert TH** 1948. Water transport in plants as a catenary process. In « Interaction of water and porous materials » *Discus. Faraday Soc.*, 146-153
- Zimmermann MH** 1983. Xylem structure and the ascent of sap. In: *Springer Verlag, Berlin, (DEU)*, 143 p.
- Zwieniecki MA, Melcher PJ, Holbrook NM** 2001. Hydrogel control of xylem hydraulic resistance in plants. *Science* 291, 1059-1062

Résumé

Les connaissances sur le fonctionnement hydraulique des plantes, des arbres en particulier, ont considérablement progressé au cours de la dernière décennie. Un certain nombre de propriétés hydrauliques du xylème semblent jouer un rôle important dans le fonctionnement physiologique des plantes.

La première propriété concerne la vulnérabilité des conduits du xylème à la cavitation. Il est établi que ce phénomène se produit lorsque la pression hydrostatique du xylème excède une pression seuil déterminée par les caractéristiques anatomiques de la paroi primaire des ponctuations. Ce seuil de cavitation montre une variabilité considérable, entre espèce, entre organes ou selon les conditions environnementales de croissance. Les pressions seuils de cavitation sont très proches des pressions mesurées *in planta*. Par conséquent, le maintien de l'intégrité des vaisseaux du xylème impose une limitation fonctionnelle aux flux d'eau dans la plante. Des corrélations fortes entre les seuils de fermeture des stomates et les seuils de cavitation suggèrent une implication des stomates dans le contrôle de l'embolie. Les déterminismes qui sous-tendent ces relations ne sont pas connus. La vulnérabilité du xylème à la cavitation apparaît ainsi comme un paramètre physiologique pertinent pour évaluer la réponse des plantes à la sécheresse.

La seconde propriété importante du tissu conducteur de sève brute, est la façon dont sont distribuées les résistances hydrauliques dans la plante, i.e., son architecture hydraulique. Des mesures de résistances hydrauliques dans le xylème, montrent des contrastes marqués entre différents types d'axes ou leur position dans la plante. Néanmoins, les résistances hydrauliques vasculaires sont en général faibles par rapport aux résistances situées dans le cortex des racines ou le mésophylle. Par conséquent, le poids de l'architecture hydraulique dans la répartition des flux d'eau et leur régulation par les stomates est faible. En revanche, son impact sur les capacités de croissance des méristèmes primaires et secondaires est plus certain, comme en attestent quelques résultats. Les mécanismes qui sous-tendent ces relations ne sont pas avérés.

Les perspectives de recherches concernent d'une part l'identification des mécanismes qui lient les caractéristiques hydrauliques au fonctionnement physiologique des plantes, d'autre part l'implication de ces processus dans le fonctionnement à long terme des plantes et des communautés végétales.

Mots clés : Relation hydrique, potentiel hydrique, xylème, cavitation, embolie, architecture hydraulique, stomate, croissance, régulation.