

Variabilité génétique et plasticité de l'efficience d'utilisation des ressources (eau et azote) chez les salicaceae cultivées en taillis à courte et à très courte rotation

Julien Toillon

▶ **To cite this version:**

Julien Toillon. Variabilité génétique et plasticité de l'efficience d'utilisation des ressources (eau et azote) chez les salicaceae cultivées en taillis à courte et à très courte rotation. Sylviculture, foresterie. Université de Lorraine, 2013. Français. NNT : 2013LORR0096 . tel-01749868

HAL Id: tel-01749868
https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01749868

Submitted on 29 Mar 2018

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

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

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

UFR Sciences et Technologies – Secteur Biologie
École Doctorale : Science et Ingénierie Ressources, Procédés, Produits et Environnement – RP2E –
Département de Formation Doctorale : Biologie Végétale et Forestière

Thèse

présentée pour l'obtention du titre de **Docteur de l'Université de Lorraine**

Discipline : Biologie Végétale et Forestière

Par

Julien TOILLON

VARIABILITE GENETIQUE ET PLASTICITE DE L'EFFICIENCE D'UTILISATION DES RESSOURCES (EAU ET AZOTE) CHEZ LES SALICACEES CULTIVEES EN TAILLIS A COURTE ET TRES COURTE ROTATIONS

Soutenue publiquement le 11 juillet 2013

THESE dirigée par :

Franck BRIGNOLAS	Professeur, Université d'Orléans
Nicolas MARRON	Chargé de Recherche, INRA de Nancy-Lorraine

Rapporteurs :

Annie DESROCHERS	Professeur, Université du Québec en Abitibi Témiscamingue
Marc VILLAR	Chargé de Recherche – HDR, INRA d'Orléans

JURY :

Jean-Charles BASTIEN	Ingénieur de Recherche, INRA d'Orléans – membre invité
Franck BRIGNOLAS	Professeur, Université d'Orléans
Sylvain DELZON	Chargé de Recherche – HDR, INRA de Bordeaux
Annie DESROCHERS	Professeur, Université du Québec en Abitibi Témiscamingue
Yves JOLIVET	Professeur, Université de Lorraine – Président du jury
Nicolas MARRON	Chargé de Recherche, INRA de Nancy-Lorraine
Marc VILLAR	Chargé de Recherche – HDR, INRA d'Orléans

UFR Sciences et Technologies – Secteur Biologie
École Doctorale : Science et Ingénierie Ressources, Procédés, Produits et Environnement – RP2E –
Département de Formation Doctorale : Biologie Végétale et Forestière

Thèse

présentée pour l'obtention du titre de **Docteur de l'Université de Lorraine**

Discipline : Biologie Végétale et Forestière

Par

Julien TOILLON

VARIABILITE GENETIQUE ET PLASTICITE DE L'EFFICIENCE D'UTILISATION DES RESSOURCES (EAU ET AZOTE) CHEZ LES SALICACEES CULTIVEES EN TAILLIS A COURTE ET TRES COURTE ROTATIONS

Soutenue publiquement le 11 juillet 2013

THESE dirigée par :

Franck BRIGNOLAS	Professeur, Université d'Orléans
Nicolas MARRON	Chargé de Recherche, INRA de Nancy-Lorraine

Rapporteurs :

Annie DESROCHERS	Professeur, Université du Québec en Abitibi Témiscamingue
Marc VILLAR	Chargé de Recherche – HDR, INRA d'Orléans

JURY :

Jean-Charles BASTIEN	Ingénieur de Recherche, INRA d'Orléans – membre invité
Franck BRIGNOLAS	Professeur, Université d'Orléans
Sylvain DELZON	Chargé de Recherche – HDR, INRA de Bordeaux
Annie DESROCHERS	Professeur, Université du Québec en Abitibi Témiscamingue
Yves JOLIVET	Professeur, Université de Lorraine – Président du jury
Nicolas MARRON	Chargé de Recherche, INRA de Nancy-Lorraine
Marc VILLAR	Chargé de Recherche – HDR, INRA d'Orléans

Je n'échapperai pas à la règle et remercierai toutes les personnes qui m'ont aidé à réaliser ces travaux de thèse. Afin de n'oublier personne, je remercie tous ceux et toutes celles qui ont participé, de près ou de loin, à cette réussite.

Je commencerai par remercier tout particulièrement mes directeurs de thèse, **Franck BRIGNOLAS** et **Nicolas MARRON** qui m'ont fait confiance dès le début pour mener à bien ces travaux. Si j'en suis maintenant à rédiger cette partie, c'est bien grâce à vous, **Franck** et **Nicolas**, qui avez su me faire confiance au cours de ces trois années. Je remercie l'agence nationale de la recherche Française (ANR) pour avoir financé le projet SYLVABIOM dans lequel s'incorporent mes recherches. Merci à tous les partenaires du projet SYLVABIOM et notamment au coordinateur du projet **Jean-Charles BASTIEN**. Je remercie également les financeurs et les membres du projet ERA-NET CREFF qui ont contribué au financement d'analyses élémentaires et isotopiques. Je tiens également à remercier les directeurs d'unités et/ou de laboratoires de recherche qui m'ont accueilli et ont mis à ma disposition les ressources de leurs unités respectives, **André GRANIER** et **Jean-Marc GUEHL** de l'unité mixte de recherche 1137 Ecologie et Ecologie Forestières (UMR 1137 EEF) de l'INRA et de l'Université de Lorraine, **Franck BRIGNOLAS** du Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures (UPRES EA 1207 LBLGC) de l'Université d'Orléans, **Michel VERGER** de l'unité expérimentale Génétique et Biologie Forestière de l'INRA d'Orléans (GBFOr) et **Gilles PILATE** de l'unité Amélioration Génétique et Physiologie Forestière (UR 0588 AGPF). Enfin, je remercie chaleureusement les membres de mon jury de thèse, **Jean-Charles BASTIEN**, **Sylvain DELZON**, **Annie DESROCHERS**, **Yves JOLIVET** et **Marc VILLAR**, qui ont évalué mes travaux de thèse par l'étude de ce manuscrit et ont effectué le déplacement afin de juger mon travail et ma prise de recul au cours de ma soutenance. Merci à vous tous qui m'avez permis de franchir cette première étape qu'est l'obtention du titre de docteur de l'Université de Lorraine car ce diplôme n'est pas la fin, mais bien le début de ma carrière en tant que chercheur.

~

Franck, je te suis infiniment reconnaissant de m'avoir accordé ta confiance pour mener à bien ces travaux de thèse. Certes, cela n'a pas été rose tous les jours… mais comme tu le sais, nous y sommes arrivés. Merci pour tout le temps que tu m'as donné malgré toutes tes autres « casquettes », directeur du laboratoire, chef d'équipe, président de Biotechnocentre, directeur adjoint de l'école doctorale, et j'en oublie certainement. Merci pour tout ce que tu m'as apporté ; avant de te connaitre, je n'avais que très peu de connaissances en écophysiologie et en statistiques… D'ailleurs, voici les quatre postulats de l'analyse de variance (ANOVA), *(i)* Indépendance des échantillons, *(ii)* Normalité de la distribution, *(iii)* Homogénéité des variances (ou homoscédasticité) et *(iv)* Variable dépendante numérique. Franck, merci pour tout ce que tu as fait et m'a apporté au cours de cette thèse.

Nicolas, pour m'avoir initié au monde de la recherche, pour toutes ces heures de terrains inoubliables et pour les heures de traitement des données qui ont suivies ainsi que pour toutes les ressources que tu as mises à ma disposition, ton temps et ta patience, je te remercie. Je n'oublierai pas que la première chose à faire avant d'envoyer un document, c'est de se lire et encore se relire… Merci pour ta complémentarité avec Franck car je pense que si nous avons réussis c'est bien grâce à nos

forces respectives qui ont su se compléter. Pour toutes les compétences que tu m'as apportées et notamment en termes d'écophysiologie et de suivis de croissance (phénologie), je te remercie. Tu m'as montré qu'en écophysiologie, il n'y a pas que la feuille qui est importante, mais qu'il faut également tenir compte de l'individu. Encore merci pour tout.

~

Je tiens maintenant à remercier tout particulièrement **Sylvain CHAMAILLARD** *et* **Régis FICHOT**, *deux amis comme je n'en ai jamais eut, qui ont donné leur temps sans compter pour m'aider à rédiger ce manuscrit.*

Sylvain, *tu m'as rendu au centuple ce que j'ai pu te donner. Trouver les mots pour te dire combien tu as été important pour moi pendant les deux dernières années de ma thèse est un exercice difficile. Tu as su me remonter le moral quand il était « dans mes chaussettes ». Merci pour ton soutien, ta bonne humeur, ta gentillesse et aussi pour tes expressions du Berry dont je retiendrai les «bouch'tures » ou encore les « agas d'ieau ».*

Régis, *je ne te remercierai jamais assez pour tout ce que tu as fait pour moi. Car devoir monter les cours de ta première année en tant que maître de conférences et m'aider à finaliser mon article « peuplier » et le manuscrit de thèse n'était pas vraiment un cadeau de ma part ! Merci pour tout ce que tu m'as apporté. Je te remercierai également pour ta patience, ta pertinence et les heures de corrections que tu as passées sur mes proses... Alors que tu étais en post-doc, avec surprise tu m'as ouvert ta porte, ces quelques jours d'hospitalité en Belgique resteront inoubliables. Merci pour tout.*

~

Je remercie tous les partenaires du projet SYLVABIOM, **Bénédicte ROLLIN** *et* **Erwin DALLE** *de l'UMR EEF,* **Stéphane MAURY**, **Alain DELAUNAY**, **Isabelle LE JAN** *et* **Clément LAFON-PLACETTE** *du LBLGC,* **Jean GAUVIN**, **Ludovic PASQUIER** *et* **Guillaume BODINEAU** *de l'UE GBFOr,* **Alain BERTHELOT** *du FCBA,* **Dominique MERZEAU** *et* **François CHARNET** *de l'IDF-CNPPF et* **Olivier FORESTIER** *de la pépinière d'État de Guémené-Penfao.*

Je remercie tous les permanents et non permanents de l'unité mixte de recherche Ecologie et Ecophysiologie Forestières de l'INRA et de l'Université de Lorraine et plus spécialement **Laureline BESDEBERC**, **Julie DELEVAUX**, **Jennifer DUMONT**, **Rana EL ZEIN**, **Cécilia GANA**, **Dramane KONATE**, **Romain LERAY**, **Caroline PLAIN**, **Pierrick PRIAULT**, **Laurent ROUX**, **Anne-Sophie SERGENT**, **Fabien SPISHER**, **Viviane TCHICHELLE** *et* **Silvère VIALET-CHABRAND** *de l'UMR EEF.*

Je remercie également tous les membres du laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures de l'Université d'Orléans et plus particulièrement **Lucie BERTHEAU**, **France DARDEAU**, **Muriel FEINARD-DURANCEAU**, **Justine GUET**, **Claire HEBRARD**, **Laurent JEAN-ALPHONSE**, **Domenico MORABITO** *et* **Aurélien SALLE**.

Je remercie enfin les membres de l'unité de recherche Amélioration Génétique et Physiologie Forestière et notamment **Catherine BASTIEN**, **Jean DUFOUR**, **Redouane EL MALKI**, **Françoise LAURANS**, **Nadège MILLET**, **Maxime NARDIN** *et* **Vincent SEGURA**.

~

Enfin, je remercie ma famille pour m'avoir porté et supporté (au premier comme au second degré !!!)

Merci à ma **belle famille** qui a su me changer les idées quand j'étais « la tête dans le guidon », avec des repas, des apéros, des ballades et pour l'utilisation d'un poêle à granulé (produit transformé des résidus d'exploitation forestières et des arbres cultivés en taillis à courte et très rotations, oups déformation professionnelle) qui justifie un peu mes travaux de recherche… Merci à vous pour tout ce que vous nous apportez à Elliot, Sandrine et moi.

Merci à ma sœur, **Dorothée** et à mes frères **Maxime** et **Benjamin** pour leur soutien avec des réunions de familles, apéros et repas, toujours trop peu nombreuses (hé oui, pas facile de se réunir avec l'éloignement et le travail de tout le monde !). Merci à vous, je suis chanceux d'être votre frère.

Merci à **mes parents**, pour m'avoir laissé faire mes choix dans la réalisation de mes études ; partir d'un bac technologique agricole pour arriver à une thèse n'était pas le chemin le plus simple. Comme vous le voyez, j'ai réussi à me frayer mon petit bout de chemin pour bien débuter dans la vie active. Merci pour tout ce que vous avez fait pour moi et avoir su être présents quand j'ai eut besoin de vous. C'est une belle leçon de vie de montrer que la persévérance et la volonté paye.

Sandrine, merci pour ton amour, ton soutien et surtout avoir su écouté répété ma soutenance encore et encore. Désolé de t'avoir saoulé avec l'efficience d'utilisation de l'eau (maintenant, tu connais la définition par cœur !!!). Bref, je te remercie pour tout ce que tu as fait pour moi et m'avoir donné un fils, Elliot.

Elliot, tu es venu illuminer ma vie et agrandir mon cœur et notre famille. Merci d'avoir fait tes nuits rapidement (au bout de trois semaines…) et désolé de t'avoir imposé mes répétitions devant l'ordinateur qui dans l'ensemble t'ont permis de bien dormir…

REMERCIEMENTS

SOMMAIRE 1

LISTE DES PRINCIPALES ABREVIATIONS 3

INTRODUCTION GENERALE 6

1. Les énergies 7

2. Les énergies renouvelables 8

2.1. L'essor de la biomasse 8

2.2. Vers de nouveaux systèmes de culture adaptés à la production de bois-énergie 8

3. Les principales espèces ligneuses cultivées en taillis à courte et très courte rotation 10

3.1. La famille des Salicacées 10

3.2. La famille des Fabacées : exemple du genre *Robinia* 13

4. Problématique, Objectifs et Stratégie 14

CHAPITRE 1 19

ETAT DES CONNAISSANCES SUR L'EFFICIENCE D'UTILISATION DES RESSOURCES (EAU ET AZOTE) CHEZ *POPULUS* ET *SALIX* 19

1. L'efficience d'utilisation de l'eau 20

1.1. Définitions 20

1.2. Variabilité génétique 23

1.3. Plasticité phénotypique 28

1.4. Relations entre $\Delta^{13}C$ et productivité 32

2. L'efficience d'utilisation de l'azote 33

2.1. Définitions 33

2.2. Variabilité génétique 35

2.3. Plasticité phénotypique 35

2.4. Relation entre NUE et productivité 37

CHAPITRE 2 VARIABILITE GENETIQUE ET PLASTICITE DE LA PRODUCTIVITE ET DE L'EFFICIENCE D'UTILISATION DES RESSOURCES (EAU ET AZOTE) DE 56 *POPULUS DELTOIDES* × *POPULUS NIGRA* 38

CHAPITRE 2.1 EFFET DE LA DENSITE DE PLANTATION (TCR *VS*. TTCR) SUR L'EFFICIENCE D'UTILISATION DE L'EAU DE 56 *POPULUS DELTOIDES* × *POPULUS NIGRA* 39

CHAPITRE 2.2 EFFET DU CONTEXTE PEDOCLIMATIQUE SUR L'EFFICIENCE D'UTILISATION DE L'AZOTE CHEZ 56 *POPULUS DELTOIDES* × *POPULUS NIGRA* 51

CHAPITRE 3 VARIABILITE ET PLASTICITE DE LA PRODUCTIVITE ET DE L'EFFICIENCE D'UTILISATION DE L'EAU ET DU TAUX D'EXPORTATION D'AZOTE DU SAULE EN TTCR 61

CONCLUSIONS, LIMITES ET PERSPECTIVES 77

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES..... 92

VALORISATION DES TRAVAUX SCIENTIFIQUES.....129

LISTE DES PRINCIPALES ABREVIATIONS

♀	Femelle
♂	Mâle
°C	Degré centigrade
^{12}C	isotope 12 du carbone
^{13}C	isotope 13 du carbone
δ	Composition isotopique
$\Delta^{13}C$	Discrimination isotopique vis-à-vis du carbone 13
μ	Moyenne
a	Coefficient de fractionnement isotopique lors de la diffusion du CO_2 au travers des stomates
A	Assimilation nette de CO_2 par unité de surface
AFOCEL	Association Forêt CELlulose
AGPF	Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières
AILE	Association d'Initiative Locale pour l'Energie et l'Environnement
ANOVA	Analyse de variance ('*ANalysis Of Variance*')
ANR	Agence Nationale de la Recherche
ARBECO	Fonctionnement intégré de l'ARBre et de l'ÉCOsystème
ARCHE	Arbres et Réponses aux Contraintes Hydriques et Environnementales
b	Coefficient de fractionnement isotopique lors du processus de carboxyltation par la RuBisCO
BBCH	Echelle de notation des stades phénologiques ('*Biologishe Bundesanstalt, Bundessortenamt and CHemical industry*')
BIOE	Programme BIOEnergies
Br	Brinon-sur-Sauldre
C	Carbone
C3	Plantes à métabolisme photosynthétique en C3
C4	Plantes à métabolisme photosynthétique en C4
CAM	Plantes à métabolisme photosynthétique de type Métabolisme Acide Crassulacéen ('*Crassulassean Acid Metabolism*')
c_a	Fraction molaire du CO_2 dans l'atmosphère
ca.	*circa*
CEMAGREF	Centre national du MachinismeAgricole, du Génie Rural, des Eaux et des Forêts
cf.	*confer*
c_i	Fraction molaire de CO_2 dans les cavités sous-stomatiques
C_M / $C_{feuille}$	Teneur massique en carbone foliaire
C_{tige}	Teneur massique en carbone de la tige
CO_2	Dioxyde de carbone
CV_G	Coefficient de variation génétique
DOY	Jour de l'Année ('*Day Of Year*')
E	Taux de transpiration foliaire
EC	European Commission
ECH	Echigey
ED-RP2E	Ecole Doctorale 'Science et Ingénierie Ressources, Procédés, Produits et Environnement'
EEF	Ecologie et Ecophysiologie Forestières
eg.	*exempli gratia*
ER	Energie Renouvelable
ES	Erreur Standard (= SE : '*Standard Error*')
et al.	*et alii*
EUFORGEN	EUropean FORest GENetic resources network
EWBP	Partenariat européen pour la sélection des saules ('*European Willow Breeding Partneship*')
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FCBA	Institut Forêt Cellulose Bois-construction Ameublement
FCR	Futaie à Courte Révolution
GBFOr	Génétique et Biomasse Forestières Orléans
g_{CO_2}	Conductance stomatique au CO_2

GES	Gaz à effet de serre
GIS Peuplier	Groupement d'Intérêt Scientifique Peuplier
GLM	Modèle Linéaire Général ('*General Linear Model*')
GP	Guémené-Penfao
GSL	Longueur de la saison de végétation ('*Growing Season Lenght*')
g_s / g_{sw}	Conductance stomatique de la feuille à la vapeur d'eau
H^2	Héritabilité
H_2O	Eau
ha	Hectare
ie.	*id est*
IDF	Institut pour le Développenent Forestier
INRA	Institut National de la Recherche Agronomique
IPC	International Poplar Commission
IPCC	Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat ('*Intergovernmental Panel on Climate Change*')
IRSTEA	Institut national de Recherche en Sciences et Technologies pour l'Environnement et l'Agriculture
IRMS	Spectrométre de masse à rapport isotopique ('*Isotope Ratio Mass Spectrimeter*')
LA	Surface foliaire ('*Leaf Area*')
LARS	Station de Recherche de Long Ashton ('*Long Ashton Research Station*')
LBLGC	Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures
MAT	Températures moyennes annuelles ('*Mean Annual Temperatures*')
MRT	Temps de résidence moyen ('*Mean Residence Time*')
MS	Masse Sèche (= DM : *'Dry Mass*')
MST	Températures moyennes estivales ('*Mean Summer Temperatures*')
Mtep	Million de tonnes équivalents pétrole
n	Nombre d'invidus
N	Azote
N_2	Di-azote
N_{export}	Taux d'exportation d'azote
N_M / $N_{feuille}$	Teneur massique en azote foliaire
N_{tige}	Teneur massique en azote de la tige
NUE	Efficience d'utilisation de l'azote ('*Nitrogen-Use Efficiency*')
NupE	Efficience de prélèvement de l'azote ('*Nitrogen Uptake efficiency*')
OM	Matière Organique ('*Organic matter*')
PCA	Analyse en Composantes Principales ('*Principal Component Analysis*')
PDB	Standard international Pee Dee Belemnite
pH	Potentiel Hydrigène
PNUE	Efficience photosynthétique de l'utilisation de l'azote ('*Photosynthetic Nitrogen-Use Eficiency*')
PTEF	Plateau Technique d'Ecologie Fonctionnelle
$R_{échantillon}$	Rapport $^{13}CO_2/^{12}CO_2$ de l'échantillon
r_p	Coefficient de corrélation de Pearson
r_s	Coefficient de corrélation de Speaman
$R_{standard}$	Rapport $^{13}CO_2/^{12}CO_2$ du standard
REML	Méthode de maximum de vraisemblance ('*REstriced Maximum Likelihood*')
RuBisCO	Ribulose-1,5-BisPhosphate Carboxylase Oxygénase
SAP	Cumul des précipitations annuelles ('*Sum of Annal Precipitations*')
SCV	Saint-Cyr-en-Val
SLA	Surface foliaire spécifique ('*Specific Leaf Area*')
SLU	Université Suédoides des Sciences Agricoles ('*Sveriges LantbruksUniversitet*')
SNUE	Efficience d'utilisation de l'azote de la tige ('*Stem Nitrogen-Use Efficience*')
sp.	Espece
spp.	Sous espèce
SSP	Cumul des précipitations estivales ('*Sum of Summer Precipitations*')
SWBP	Programme Suédois de Sélection des Saules ('*Swedish Willow Breeding Programme*')
SYLVABIOM	Nouveaux Concepts de cultures ligneuses durables pour la production de biomasse à des fins énergétiques
TCR	Taillis à Courte Rotation (= SRF : '*Short-Rotation Forestry*')

TTCR	Taillis à Très Courte Rotation (= SRC : '*Short-Rotation Coppice*')
UdL	Université de Lorraine
UE	Union Européenne
UFR	Unité de Formation et de Recherche
UMR	Unité Mixte de Recherche
UPRES-EA	Unité Propres Enseignement Supérieur – Equipe d'Accueil
UR	Unité de Recherche
USA	Etat-unis d'Amérique ('*United State of America*')
USC	Unité Sous Contrat
VPD	Déficit de pression de vapeur ('*Vapor Pressure Deficit*')
vs.	*versus*
WUE	Efficience d'utilisation de l'eau ('*Water-Use Efficiency*')
WUE_i	Efficience intrinsèque d'utilisation de l'eau
WUE_{inst}	Efficience instantanée d'utilisation de l'eau
WUE_p	Efficience d'utilisation de l'eau à l'échelle de la plante entière

INTRODUCTION GENERALE

1. Les énergies

L'énergie a toujours constitué un enjeu vital pour l'Homme et les sociétés humaines. L'énergie au sens large du terme peut être divisée en deux types : l'énergie primaire et l'énergie secondaire. L'énergie primaire est issue d'une source d'énergie disponible dans l'environnement n'ayant besoin d'aucune transformation pour être utilisée contrairement à l'énergie secondaire. L'énergie primaire peut elle-même être subdivisée en deux catégories, les énergies dites « non-renouvelables » ou « fossiles » (*e.g*. le pétrole, le charbon, le gaz naturel et l'uranium) et les énergies dites « renouvelables » (fournies par le soleil, le vent, la chaleur de la terre, les chutes d'eau, les marées ou encore la biomasse végétale). Les énergies non-renouvelables engendrent des impacts majeurs sur l'environnement comme l'émission de gaz à effet de serre (GES), considérée comme étant une cause majeure des modifications climatiques (Arvizu *et al*., 2011). Par opposition, les énergies renouvelables (ER) sont des énergies dites « propres » ; elles sont inépuisables à très long terme et se constituent ou se reconstituent plus rapidement qu'elles ne sont utilisées.

Sachant que les besoins énergétiques de la planète pourraient augmenter de plus de 50 % d'ici 2030 (Agence Internationale de l'Energie, 2007), le développement des ER apparaît comme étant un moyen raisonné de satisfaire les besoins en énergie. Dans ce contexte, l'Union Européenne (UE) a demandé à ses pays membres de produire 20 % de leur énergie totale à partir des ER à l'horizon 2020 (directive européenne 2009/28/CE). Cette demande de l'UE a pour but *(i)* d'atteindre une plus grande indépendance énergétique, *(ii)* de lutter contre le changement climatique en évitant d'utiliser les ressources fossiles et *(iii)* de créer de nouvelles filières professionnelles et de l'emploi. Les objectifs de production d'énergie primaire issue des ER sont différents entre pays membres de l'UE et ceci en fonction de leur situation de départ et de leur potentiel. Ainsi à l'horizon 2020, le Royaume-Uni devra porter sa production d'énergie primaire issue des ER à 15 %, l'Italie à 17 %, l'Allemagne à 18 %, l'Espagne à 20 %, la France à 23 % et la Suède à 49 % (directive européenne 2009/28/CE).

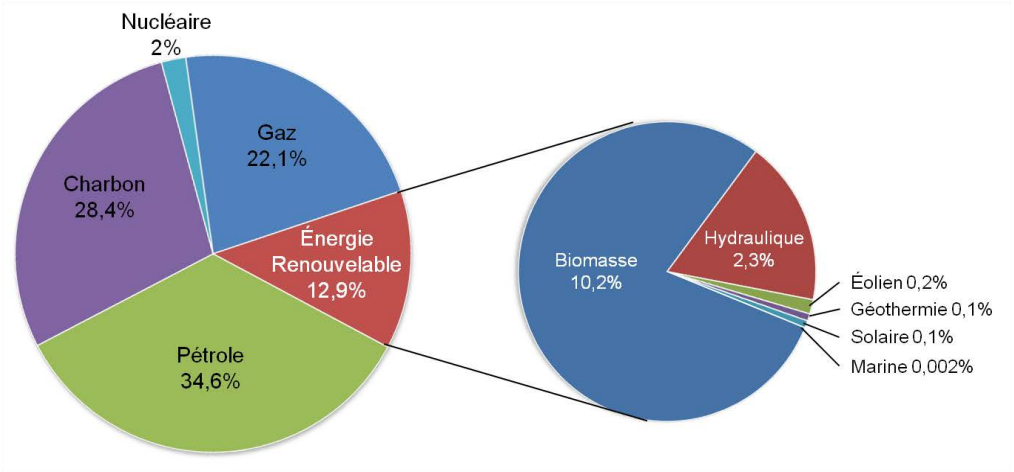


Figure 1. Part des sources énergétiques dans la production totale d'énergie primaire mondiale en 2008. Adapté de Arvizu *et al*. (2011)

2. Les énergies renouvelables

2.1. L'essor de la biomasse

La production d'énergie issue des ER représentait 12,9 % de l'énergie primaire produite dans le monde en 2008 ; près de 80 % de cette énergie provenait de la biomasse [Figure 1 ; (Arvizu *et al*., 2011)]. La biomasse se définit comme « *la fraction biodégradable des produits, déchets et résidus provenant de l'agriculture, y compris les substances végétales et animales issues de la terre et de la mer, de la sylviculture et des industries connexes, ainsi que de la fraction biodégradable des déchets industriels et ménagers* » (article L211-2 du code de l'énergie français). En d'autres termes, la biomasse représente l'ensemble de la matière organique, qu'elle soit d'origine végétale ou animale.

La biomasse d'origine végétale, tout comme les autres ER (vent, soleil, marée), présente l'avantage de provenir de source d'énergie virtuellement inépuisable et de dégager très peu de gaz à effet de serre. En plus de ces avantages, la biomasse végétale présente un atout majeur. En effet, malgré une émission de CO_2 au cours de sa combustion, elle est fixatrice de CO_2 (*via* le processus de photosynthèse), rendant ainsi le bilan carboné « neutre ». La biomasse végétale provient de trois types de plantes : les plantes herbacées [(*Beta vulgaris* (betterave), *Zea mays* (maïs), *Miscanthus* ×*giganteus* (miscanthus), *Sorghum bicolor* (sorgho)], les plantes aquatiques (algues) et les plantes ligneuses. Les plantes herbacées et aquatiques sont principalement utilisées pour la production de biocarburants alors que les plantes ligneuses sont utilisées pour la production de bois-énergie. En France, la biomasse ligneuse provient essentiellement de résidus d'exploitations forestières de feuillus et de résineux, et des déchets de l'industrie du bois. Le bois-énergie représentait 10,1 millions de tonnes équivalent pétrole (Mtep) en 2010, soit 44 % de la production française d'énergie renouvelable. Le succès de la production de bois à vocation énergétique va reposer sur la culture d'espèces ayant pour caractéristiques une croissance rapide et la capacité de rejeter de souche après récolte. L'aulne, le châtaignier, l'eucalyptus, le peuplier, le saule ou encore le robinier sont des espèces répondant à de telles exigences (Karp & Shield, 2008).

2.2. Vers de nouveaux systèmes de culture adaptés à la production de bois-énergie

Dans le monde, la majorité des plantations d'arbres à croissance rapide est conduite sous la forme de futaies à courte révolution (FCR) destinées à l'industrie papetière et au sciage. Ce type de plantation se caractérise par une faible densité de plantation (250 arbres/ha) associée à un abattage unique au terme de 20 à 25 années de croissance. Ce système cultural peut être

conduit avec différentes essences de feuillus telles que l'eucalyptus, le peuplier, ou encore le robinier mais également des résineux comme le douglas (*Pseudostuga sp.*) ou le thuya (*Thuja sp.*).

Dans le contexte de production de biomasse actuel, de nouveaux systèmes de cultures utilisant des espèces à croissance rapide et aptes à rejeter de souche après récolte sont mis en place : les taillis à courte rotation (TCR) et les taillis à très courte rotation (TTCR). Le TCR se caractérise par une densité de plantation variant de 1000 à 2000 arbres/ha, associée à des récoltes de biomasse aérienne réalisées tous les six à huit ans sur une période de 20 à 25 ans. Le TTCR se caractérise par une densité de plantation variant de 7500 à 20000 arbres/ha, associée à des récoltes de biomasse aérienne réalisées tous les deux à trois ans sur une période de 15 à 20 ans. Les TTCR, de par leurs densités de plantation élevées et leurs périodes de rotations courtes, sont des systèmes qui se situent à la lisière entre l'agriculture et la foresterie. L'avantage majeur des TTCR par rapport aux TCR est qu'une densité de plantation initiale élevée facilite l'établissement de la culture tout en réduisant les besoins de désherbants pour le contrôle des plantes herbacées et peut également procurer des rendements élevés en première rotation (Mitchell *et al*., 1999). Les TCR et les TTCR présentent cependant des inconvénients quant à la disponibilité et à l'exportation des ressources du sol. En effet, les ressources, qu'elles soient hydriques ou azotées, doivent être suffisamment abondantes pour permettre une croissance optimale des arbres cultivés et la plus faible proportion possible de ces ressources doit être retrouvée dans les parties exportées au moment de la récolte. Afin de préserver le sol d'un appauvrissement important de sa teneur en éléments nutritifs (essentiellement l'azote), la récolte des TCR et des TTCR doit préférentiellement être réalisée en hiver. D'une part, parce que la sénescence foliaire doit avoir eu lieu afin d'éviter une exportation d'azote trop importante de la plantation grâce au retour d'une partie de cet azote dans la litière de la plantation et d'autre part, parce que le sol doit être porteur pour qu'il puisse supporter le poids des machines de récolte afin de ne pas risquer d'endommager les racines et les souches des arbres.

Les TCR sont récoltés de manière forestière (coupe des grumes à la tronçonneuse) alors que les TTCR sont récoltés de façon plus agricole. Il existe plusieurs techniques de récolte des TTCR ; il s'agit *(i)* de la coupe associée au broyage en plaquettes, copeaux ou chips qui est réalisée à l'aide d'une machine agricole de type « ensileuse à maïs » pour laquelle une tête de récolte spécifique à la collecte des arbres a été adaptée et *(ii)* de la coupe en tiges entières qui est réalisée à l'aide d'une machine permettant de conditionner les tiges en fagots. Ces fagots seront ensuite soit passés directement au broyeur à bois afin d'obtenir des copeaux, soit

broyés après une période de séchage de plusieurs mois à l'air libre ou sous abris (AILE, 2003).

La biomasse-bois issue de ces plantations peut être valorisée de deux manières : les copeaux de bois et les cylindres de bois en substitution des granulés de bois. Les plaquettes sont principalement valorisées dans des chaufferies à bois mais également dans des petits poêles à granulés de bois que peuvent acheter les particuliers. Les plaquettes peuvent également être valorisées en litière animale en mélange avec la paille dans les stabulations et en tant que paillage végétal afin de protéger les plantes contre les intempéries et le froid ou la compétition vis-à-vis des plantes herbacées. Les cylindres de bois sont quant à eux destinés aux particuliers.

Depuis cinq ans, les surfaces allouées aux TTCR sont en constante augmentation en France (Figure 2, F. Houiller, communication personnelle). De façon conjointe, de nouveaux procédés de transformation de la biomasse ligneuse ont vu le jour au cours de cette même période afin de produire des biocarburants ; on parle aussi de biocarburants de 2ème génération produits à partir de biomasse lignocellulosique issue des cultures agricoles et forestières.

3. Les principales espèces ligneuses cultivées en taillis à courte et très courte rotation

Sous les climats de type tempéré, les principales espèces ligneuses cultivées en TCR et/ou en TTCR font partie des familles des Bétulacées (*Alnus sp*.), des Fabacées (*Robinia pseudoacacia*), des Fagacées (*Castanea sativa*), des Myrtacées (*Eucalytus sp*.) ou encore de la famille des Salicacées (*Populus*, *Salix*). Toutes ces espèces ne sont pas systématiquement cultivées en TCR et/ou TTCR. Ainsi, des espèces comme l'eucalyptus sont principalement cultivées en TCR alors que le saule n'est cultivé qu'en TTCR. L'eucalyptus est une espèce très utilisée sous climat tropical (Brésil, Congo) mais également sous climat méditerranéen (Espagne, Sud de la France). L'aulne, le châtaignier, le peuplier et le robinier peuvent quant à eux être cultivés à la fois en TCR et en TTCR.

3.1. La famille des Salicacées

La famille des Salicacées est composée des genres *Populus* et *Salix*. Les espèces du genre *Populus* (peuplier) et du genre *Salix* (saule) sont des plantes ligneuses Angiospermes Eucotylédones. Ces deux genres partagent de nombreuses caractéristiques ; elles sont

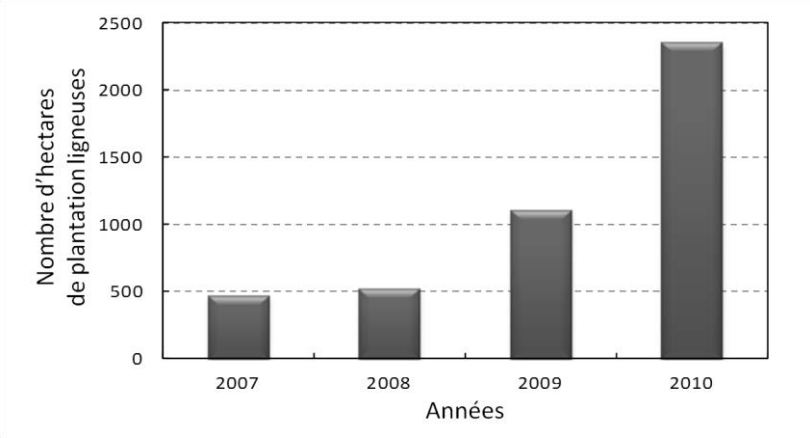


Figure 2. Evolution annuelle du nombre d'hectares attribués aux TTCR en France entre 2007 et 2010. F. Houiller, Communication personnelle.

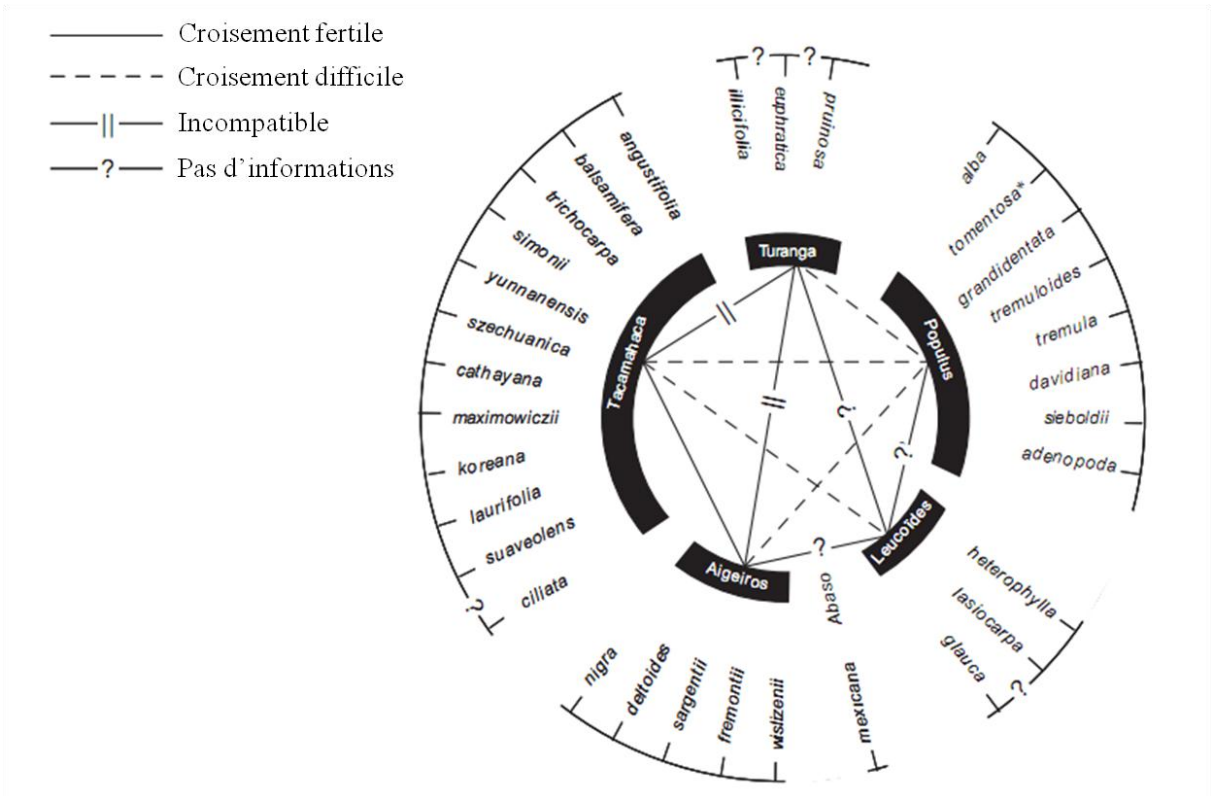


Figure 3. Faculté au croisement des espèces de peuplier. * l'espèce *P. tomentosa* est considérée comme une espèce pure. Source : Dillen *et al*. (2011a)

dioïques, diploïdes (2*n* = 38), héliophiles, à croissance rapide, à feuilles caduques, à pollinisation anémophile et productrices de graines à fibres cotonneuses (Dickmann & Kuzovkina, 2008). Elles présentent également une forte propension à la multiplication végétative. De nos jours, l'aire naturelle de répartition des genres *Populus* et *Salix* couvre la totalité de l'hémisphère Nord (États-Unis, Canada, Europe, Afrique du Nord, Russie, Chine et Japon) ; aucun de ces genres ne pousse à l'état spontané dans l'hémisphère Sud.

3.1.1. Le genre *Populus*

Le genre *Populus* se compose d'une trentaine d'espèces réparties en six sections botaniques définies sur la base de critères à la fois morphologiques et écologiques. Une des grandes particularités du genre *Populus* réside dans la quasi-inexistence de barrières entre espèces (Stanton, 2009). Ainsi, les hybridations inter-spécifiques sont possibles et spontanées entre espèces d'une même section botanique et entre certaines espèces de différentes sections (Eckenwalder, 1996). Cette caractéristique permet d'expliquer la grande variabilité morphologique présente au sein de ce genre. Certaines hybridations restent toutefois impossible en conditions naturelles comme en conditions contrôlées, notamment entre les membres de la section *Populus* et ceux des sections *Aigeiros*, *Tacamahaca* ou encore *Leucoides*. D'autres hybridations sont elles, unidirectionnelles, telles que l'hybridation entre *P. deltoides* et *P. nigra* (*P.* ×*euramericana*), possible uniquement dans le sens *P. deltoides* (♀) × *P. nigra* (♂) (Figure 3 ; Dillen *et al*., 2011a). L'hybridation inter-spécifique est à l'origine du développement de la populiculture et constitue le principal moteur des programmes de création et de sélection variétale (Stanton, 2009). Les descendants F_1 issus de ces croissements présentent le plus souvent une forte vigueur hybride (*i.e*. phénomène d'hétérosis) en terme de productivité (Marron & Ceulemans, 2006 ; Marron *et al*., 2006, 2007 ; Dillen *et al*., 2009). L'hybridation peut ainsi permettre de combiner au sein d'individus des caractères d'intérêts présents chez leurs parents. La majorité des peupliers hybrides commercialisés sont issus de croisements entre deux espèces pures d'Amérique du Nord (*P. deltoides* et *P. trichocarpa*) et une espèce pure Européenne (*P. nigra*) (Figure 4).

Le peuplier est présent sur près de 80 millions d'hectares dans le monde dont 25 millions sont cultivés (FAO, 2008). En France, le peuplier correspond à la troisième essence après le chêne et le hêtre en termes de volume de bois récolté jouant ainsi un rôle majeur dans l'industrie du bois. La France dispose des surfaces populicole les plus importantes d'Europe avec plus 236 000 hectares (ha) (Dickmann & Kuzovkina, 2008).

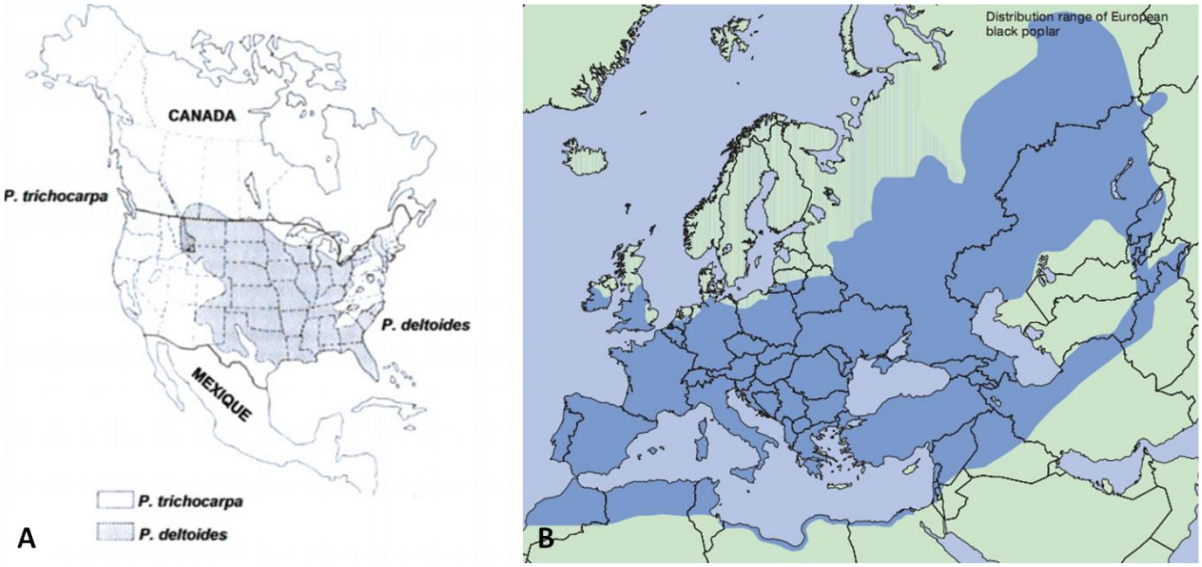


Figure 4. Aire de distribution naturelle de *P. deltoides* (blanc), *P. trichocarpa* (gris) (A) et *P. nigra* (bleu) (B). Ceulemans (1990) (A) et Vanden Broeck (2003) (B)

Tableau 1. Caractéristiques et exemples des sections du genre *Salix.* (Hanley & Karp, 2003)

Section	Caractéristiques	Exemples
Salix	arbres debout, semi-tombants ou tombants, grands arbustes à feuilles étroites et dentelées	*S. alba* L. *S. babylonica* L. *S. fragilis* L. *S. nigra* Marsh.
Caprisalix ou *Vertix*	Arbustes et petits arbres avec une grande variation de la forme des feuilles	*S. caprea* L. *S. aurita* L. *S. viminalis* L. *S. dasyclados* Wimm. *S. schwerinii* Wolf
Chamaetia	Arbustes de zones arctiques, de montagne et rampants, avec de petites feuilles arrondies ou émoussées	*S. reticulata* L. *S. herbacea* L. *S. retusa* L. *S. myrsinites* L.

Les faibles surfaces d'exploitation (2% des surfaces boisées) dédiées à sa culture (*i.e*. populiculture) sont compensées par une vitesse de croissance très élevée et par l'utilisation de génotypes sélectionnés et cultivés en plantations monoclonales. En France, plus de 80 % des peupliers hybrides commercialisés sont issus du croisement entre *P. deltoides* et *P. nigra* (*P. ×euramericana*).

La majorité des génotypes *P. ×euramericana* présents sur le marché populicole mondial sont issus de programmes de sélection Belges, Italiens et Néerlandais. En France, un Groupement d'Intérêt Scientifique (GIS) a été créé en 2001 par un consortium composé de l'AFOCEL (devenue FCBA), du CEMAGREF (devenu l'IRSTEA) et de l'INRA. Le GIS-peuplier a permis de structurer le programme Français d'amélioration génétique du peuplier. Les génotypes hybrides testés au sein de ce programme devraient être homologués et déployés dans les années à venir. L'objectif de ces programmes d'amélioration est de fournir aux propriétaires forestiers du matériel génétique qui soit le mieux adapté à la fois aux exigences stationnelles ou pédoclimatiques et au mode de culture pour la production de bois. Les critères de sélections étaient jusqu'à présent centrés sur des critères de productivité, de forme et de degré de branchaison et de résistance aux agents pathogènes (*i.e*. rouille foliaire, chancre bactérien et brunissure des feuilles) (Berthelot *et al*., 2005).

3.1.2. Le genre *Salix*

Le genre *Salix* regroupe entre 330 et 500 espèces (Argus, 1997) réparties en trois sections botaniques : *Salix* (saules vrais), *Caprisalix* ou *Vertix* (osiers et saules) et *Chamaetia* (saules nains) [Tableau 1 ; (Hanley & Karp, 2003)]. À ces espèces, s'ajoutent plus de 200 hybrides naturels (Newsholme, 1992).

Sur la totalité des espèces de saules, les saules buissonnants (*Salix viminalis* en Europe et *Salix eriocephala* en Amérique du Nord et au Canada) sont considérés comme étant les plus appropriés pour la production de biomasse-bois (Stott, 1984 ; Larsson, 1998 ; Kuzovkina *et al*., 2008). D'autres espèces telles que *S. dasyclados*, *S. schwerinii*, *S. triandra*, *S. caprea*, *S. daphnoides* et *S. purpurea* ainsi que de nombreuses variétés d'hybrides inter-spécifiques sont également utilisées pour la production de biomasse-bois (Karp & Shield, 2008). Tout comme au sein du genre *Populus*, l'hybridation joue un rôle important dans les schémas de sélection.

La superficie mondiale de saules plantés est estimée à 176 000 ha, dont 90 000 ha sont destinés à la production de bois, le reste étant planté à des fins environnementales (FAO, 2008). On trouve en Argentine, en Chine et en Suède les plus grandes superficies de

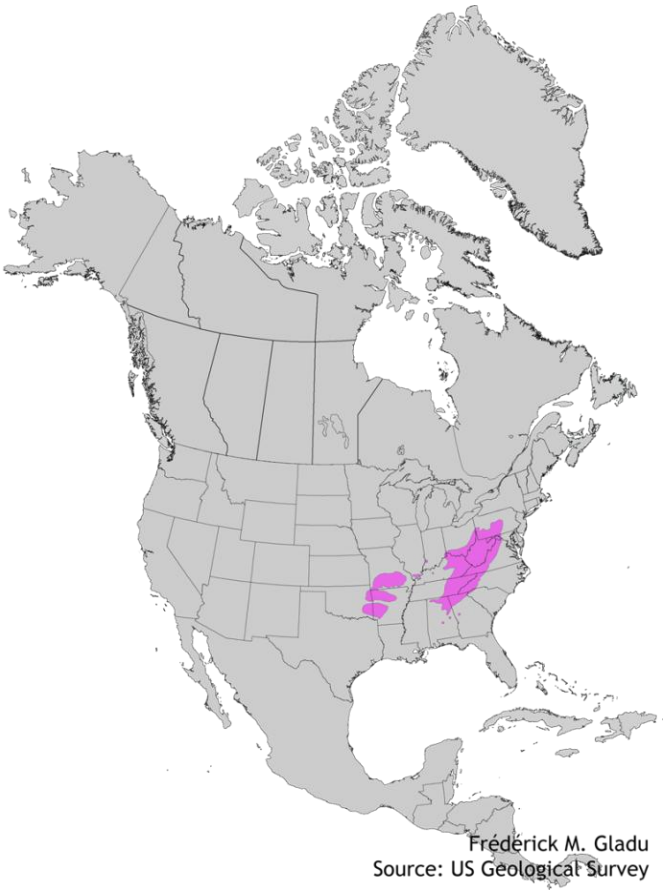


Figure 5. Aire de répartition naturelle du robinier

plantations de saules (FAO, 2008). L'Argentine et la Suède utilisent le saule majoritairement pour la production de biomasse (Ball *et al*., 2005). En Chine, la majorité des plantations de saules sont installées avec *S. viminalis* et ses hybrides et servent à combattre la désertification. Les premières plantations d'hybrides de saules ont été installées au cours des années 1970 en Suède pour atteindre plus de 16 000 ha au début des années 2000. *S. viminalis* a été favorisée pour la production de biomasse du fait de *(i)* sa croissance rapide, *(ii)* sa capacité à maintenir une architecture rectiligne et *(iii)* sa capacité d'être cultivée sous forme de taillis (Pei *et al*., 2008). Les premiers pays européens à avoir mis en place des programmes de sélection sur le saule sont les pays scandinaves (Suède & Finlande) et le Royaume-Uni. À ce jour, les critères de sélections chez les saules sont *(i)* la productivité, *(ii)* la résistance aux insectes et aux maladies, *(iii)* l'arborescence et *(iv)* la tolérance au froid et à la sécheresse (Lindegaard *et al*., 2001). Le programme Suédois de sélection des saules (SWBP) a été mis en place au début des années 1970 par l'Université suédoise des sciences agricoles (SLU). Le « SWBP » utilisait principalement des génotypes issus de Suède, d'Europe centrale, de Russie centrale et de Sibérie [*i.e*. *S. viminalis* et *S. dasyclados* (Larsson, 1998)]. Les premiers génotypes de saule commercialisés étaient issus du croisement intra-spécifique de *S. viminalis* (Hanley, 2003) ; des génotypes issus de croisements inter-spécifiques comme 'Björn' et 'Tora' ont ensuite été sélectionnés (Larsson & Pirrwitz, 1998).

Le programme Européen de sélection des saules (EWBP) a été initié en 1996 par la station de recherche de Long Ashton (LARS) en Angleterre, regroupant les différents fonds génétiques issus du « SWBP », du « LARS » et du Murray Carter Ltd (UK) (Karp, 2007). Le « EWBP » a commercialisé huit nouvelles variétés dédiées à la biomasse au début des années 2000 : 'Quest', 'Beagle', 'Resolution', 'Discovery', 'Nimrod', 'Terra_Nova', 'Endurance' et 'Endeavour' (Karp, 2007).

3.2. La famille des Fabacées : exemple du genre *Robinia*

Le robinier faux-acacia (*Robinia pseudoacacia* L.) fait parti de la famille des Fabacées qui se compose de 20 genres parmi lesquels se trouve le genre *Robinia*. Le robinier est originaire du Sud-Est des États-Unis (Figure 5) mais il est à présent répandu partout en Europe excepté dans les zones d'altitude. C'est une espèce pionnière héliophile s'adaptant très bien aux différentes conditions de basses altitudes. C'est une espèce que l'on retrouve sur des sols riches à pauvres, profonds à superficiels, et avec des pH très variables mais qui prospère surtout sur des sols légers bien alimentés en eau, restant tout de même tolérant aux sols secs (Bunger & Thomson, 1938 ; Ranney *et al*., 1990). Le robinier peut donc être utilisé sur des

sites appelés « marginaux », c'est-à-dire qui ne sont pas utilisés pour l'agriculture conventionnelle car trop couteux en intrants pour permettre une rentabilité de la culture. Le robinier présente une forte aptitude à rejeter de souche et au drageonnement, c'est-à-dire qu'il est capable de former de nouvelles tiges à partir de sa souche et de son système racinaire. Un des principaux avantages du robinier est qu'il a la particularité de vivre en symbiose avec des bactéries symbiotiques fixatrice de di-azote atmosphérique (N_2) du type *Rhizobium* (Batzli *et al*., 1992). En agriculture, mais également en foresterie, il est possible d'utiliser la symbiose *Rhizobium* – légumineuse pour remplacer la partie azotée des engrais et ainsi, diminuer considérablement les coûts à la fois financiers et environnementaux liés à l'utilisation de ces intrants. La taxonomie des rhizobiums évolue rapidement, mais compte principalement les genres suivants : *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Rhizobium* et *Sinorhizobium* (Perret *et al*. 2000).

Le robinier est présent sur 3,2 millions d'hectares dans le monde, ce qui en fait la troisième essence feuillue de production après le peuplier et l'eucalyptus (Garcia & NGuyen-The, 2007). Parmi ces 3,2 millions d'hectares, un million d'hectares était recensé en Chine et 350 000 ha en Hongrie. En 2004, l'Inventaire Forestier National (IFN) estimait la surface métropolitaine française couverte par le robinier à plus de 130 000 ha.

Les plantations de robinier sont généralement réalisées à partir de plants en racine nues. Ces plants sont pour l'essentiel issus de semis obtenus à partir de graines sélectionnées. Les principaux programmes d'amélioration génétique du robinier ont été entrepris en Europe de l'est (Hongrie et Roumanie). Ces pays produisent ainsi la majorité des génotypes et des provenances plantés en vue de production de biomasse ; par exemple les génotypes Hongrois 'Nyirségi', 'Üllöi', ou 'Zalai', ou encore les graines issus de vergers à graines 'Nyirseg' ou 'Nagybudmerii'. La France a également entrepris des programmes d'amélioration pour la création de génotypes de robinier dit « Aquitain » et est présente sur le marché des graines grâce à la provenance « RPS-900 France ».

4. Problématique, Objectifs et Stratégie

Les travaux présentés dans cette thèse peuvent être replacés dans le cadre général de la thématique des deux équipes de recherche dans lesquelles ils ont été développés :

(i) l'équipe « Fonctionnement Intégré de l'Arbre et de l'Écosystème » (ARBECO) de l'unité mixte de recherche Écologie et Écophysiologie Forestières (UMR 1137 EEF) de l'Université de Lorraine et du centre INRA de Nancy-Lorraine, et

(ii) l'équipe « Arbres et Réponses aux Contraintes Hydriques et Environnementales » [ARCHE, Unité Sous Contrat (USC) INRA 1328] du Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures de l'Université d'Orléans (LBLGC, UPRES-EA 1207).

La thématique de recherche de **l'équipe ARBECO** s'intéresse *(i)* aux cycles et bilans d'eau et de carbone à l'échelle de l'arbre jusqu'à l'échelle des écosystèmes et ceci en interaction avec les facteurs du climat, *(ii)* à la disponibilité en eau dans le sol et *(iii)* aux modifications du couvert par la gestion des plantations. Au sein de cette équipe, l'axe « cycles biogéochimiques dans les taillis à courte et à très courte rotations » s'intéresse à la dynamique de croissance inter- et intra-rotations et aux allocations de l'azote et du carbone au sein de plantations très intensives. Cet axe a notamment pour objectif de prévenir les risques d'appauvrissement du milieu liés aux exportations massives de minéraux (*i.e*. azote). Dans ce contexte, des travaux étudiant la diversité d'allocation, d'acquisition et d'efficience d'utilisation des ressources sont menés sur différents génotypes de peupliers, de saules, de robiniers et d'eucalyptus. Au sein de cet axe, une thèse s'intéressant à la modélisation des bilans hydriques et carbonés de plantations à croissance rapide d'eucalyptus vient d'être soutenue (Marsden, 2010).

La thématique de recherche de **l'équipe ARCHE** développe chez le peuplier une approche intégrative dans le but d'identifier les bases écophysiologiques et moléculaires impliquées dans les variations génétique et phénotypique de caractères d'intérêt tels que le potentiel de croissance, l'efficience d'utilisation de l'eau (WUE) et la tolérance à la sécheresse. Cette thématique est développée en associant des approches complémentaires (écophysiologie, génétique quantitative, épigénétique, protéomique et transcriptomique) sur différents fonds génétiques [compartiment cultivé (hybrides inter-spécifiques de *P. deltoides* × *P. nigra* (*P.* ×*euramericana*) et de *P. deltoides* × *P. trichocrapa* ou *P. trichocarpa* × *P. deltoides* (*P.* ×*interamericana*) *versus* compartiment sauvage (*P. nigra*)]. Sur le plan appliqué, les travaux ont pour objectif final *(i)* de juger de la possibilité de sélectionner du matériel génétique à la fois performant et adapté aux exigences stationnelles (compartiment cultivé) et *(ii)* de fournir des informations utiles à la conservation des ressources génétiques

naturelles (compartiment sauvage). Les travaux de recherche entrepris au LBLGC sur les hybrides *P. deltoides* × *P. nigra*, *P. deltoides* × *P. trichocarpa* et *P. trichocarpa* × *P. deltoides*, commercialisés en Europe ont fait l'objet de quatre thèses de doctorat (Marron, 2003 ; Monclus, 2006 ; Bonhomme, 2009 ; Fichot, 2010). Les travaux de recherche entrepris au LBLGC sur les populations naturelles de *P. nigra* ont fait l'objet d'une thèse de doctorat (Chamaillard, 2011). Ces cinq travaux de doctorat ont permis de mettre en évidence une forte variabilité pour des caractères comme le potentiel de croissance, l'efficience d'utilisation de l'eau (WUE) et la tolérance à la sécheresse, et ce quels que soient le fond génétique, l'âge des arbres et l'environnement de croissance (serre, pépinière, peupleraie) (Marron *et al*., 2005, 2008 ; Monclus *et al*., 2005, 2006, 2009, 2012 ; Fichot *et al*., 2010, 2011 ; Chamaillard *et al*., 2011).

Mes travaux de thèse s'insèrent dans le cadre du projet SYLVABIOM (ANR-08-BIOE-006), intitulé « *Nouveaux concepts de cultures ligneuses durables pour la production de biomasse à des fins énergétiques* », financé par le programme Bioénergie de l'Agence Nationale de la Recherche (ANR) sur la période 2008-2013. Ce projet avait pour objectif de comparer le potentiel de production de biomasse d'une large gamme d'espèces, pour des conditions édaphiques et climatiques françaises contrastées et pour des modalités de gestion de plantation variées, notamment en terme de choix des ressources génétiques, d'espacement des arbres et de durée des rotations.

Compte-tenu de la complémentarité des thématiques de recherche entre l'équipe ARBECO et l'équipe ARCHE, les travaux menés au cours de cette thèse visaient à estimer les contributions génétiques et environnementales (pédoclimat et pratiques culturales) de la production de biomasse et de l'efficience avec laquelle l'arbre utilise les ressources. En effet, afin de maximiser la production de bois, il est possible d'intervenir sur le choix *(i)* du matériel végétal (espèces/génotypes), *(ii)* du site de plantation (conditions climatiques et édaphiques) et *(iii)* du système de culture (TCR *vs*. TTCR).

À ce jour, les critères de sélection chez le peuplier et le saule ont porté principalement sur le niveau de productivité et la résistance aux agents pathogènes. Cependant, l'augmentation d'évènements climatiques extrêmes de types sécheresse et canicule pourrait avoir un impact sur la productivité des génotypes (IPCC, 2007). Dans ce contexte, de nouveaux critères de sélection sur des caractères tels que les efficiences d'utilisation de l'eau et de l'azote, la tolérance à des sécheresses modérées ainsi que la capacité de survie à des sécheresses plus drastiques pourraient s'avérer pertinents. En effet, une façon raisonnée d'ajuster les génotypes

aux exigences stationnelles tout en faisant face aux modifications climatiques prédites serait de disposer de ressources génétiques productives qui soient aussi capables de produire une même quantité de biomasse à moindre coût en eau et en azote et de limiter l'impact de contraintes édaphiques ponctuelles et modérées sur leur niveau de productivité. En d'autres termes, sachant que *(i)* l'efficience d'utilisation de l'eau (WUE) se définie comme le rapport entre la biomasse accumulée et la quantité d'eau utilisée pour produire cette quantité de biomasse et que *(ii)* l'efficience d'utilisation de l'azote (NUE) est définie par le rapport entre la biomasse accumulée et la quantité d'azote utilisée pour produire cette quantité de biomasse, il est donc important de disposer de génotypes à la fois productifs et efficients vis-à-vis de l'utilisation de l'eau et de l'azote, et plastiques vis-à-vis des contraintes environnementales. Dans ce contexte, ce travail de thèse a pour objectif d'aider au choix raisonné de l'espèce et du génotype au sein de l'espèce à planter dans une condition de culture donnée sur un site caractérisé.

Cette thèse vise donc :

(i) **à caractériser l'impact de la densité de plantation et des conditions pédoclimatiques sur la physiologie des peupliers et des saules dédiés à la production de biomasse,**

(ii) **à évaluer la variabilité génotypique de caractères liés à la productivité, l'efficience d'utilisation de l'eau (WUE) et l'efficience d'utilisation de l'azote (NUE) dans une perspective appliquée de sélection variétale, et**

(iii) **à juger des relations entre ces caractères.**

Afin d'apporter des éléments de réponse à ces objectifs, quatre dispositifs expérimentaux ont été installés : un en région Pays-de-la-Loire [Guémené-Penfao, Loire-Atlantique (44)], deux en région Centre [Brinon-sur-Sauldre, Cher (18) ; Saint-Cyr-en-Val, Loiret (45)] et un en région Bourgogne [Échigey, Côte-d'Or (21)]. Sur les quatre dispositifs, six génotypes de saule non apparentés ont été plantés en TTCR uniquement. Sur les dispositifs de Saint-Cyr-en-Val et d'Échigey, 56 génotypes issus du croisement *P. deltoides* × *P. nigra* contrastés pour leurs potentiels de croissance ont été installés à deux densités de plantation correspondant au TCR et au TTCR (Figure 6). Le fonctionnement hydrique, carboné et azoté de l'arbre a été abordé *(i)* à l'échelle de la feuille à l'aide de caractères morphologiques et

		Guémené-Penfao	Brinon-sur-Sauldre	Saint-Cyr-en-Val	Échigey
Tests sylvicoles					
Peuplier	TCR *vs*. TTCR	1 génotype		1 génotype	1 génotype
Saule	TTCR	6 génotypes	6 génotypes	6 génotypes	6 génotypes
Robinier	TCR *vs*. TTCR	2 provenances			
Tests génotypiques					
Peuplier	TCR *vs*. TTCR			56 génotypes	56 génotypes
Saule	TTCR			20 génotypes	
Robinier	TCR	15 génotypes			

Figure 6. Dispositifs installés dans le cadre du projet ANR SYLVABIOM. Les dispositifs encadrés ont été utilisés pour répondre aux objectifs de ces travaux de thèse (rouge : chapitre 2 ; vert : chapitre 3 ; bleu : perspective).

structuraux (*e.g*. surface massique foliaire) ou fonctionnels (*e.g*. échanges de gaz, discrimination isotopique vis-à-vis du carbone 13) et *(ii)* à l'échelle de la plante entière *via* l'estimation des performances de croissance (*e.g*. biomasse aérienne, phénologie du bourgeon, quantité d'azote présent dans l'arbre).

Ce manuscrit est composé de trois chapitres. Le premier chapitre consiste en un état des connaissances sur WUE, NUE et leurs relations avec la productivité chez le peuplier et le saule. Le deuxième chapitre correspond à une étude de la variabilité génétique et de la plasticité de la productivité et de l'efficience d'utilisation des ressources (eau et azote) chez 56 hybrides de peuplier (*P. ×euramericana*) et est divisé en deux sous parties ; la première sous partie est axée sur l'effet du contexte pédoclimatique et de la densité de plantation (TCR *vs*. TTCR) sur l'efficience d'utilisation de l'eau et est présentée sous la forme d'un article publié dans la revue *Forest Ecology and Management* (Toillon *et al*., 2013a) ; et la seconde sous partie est centrée sur l'effet du contexte pédoclimatique sur l'efficience d'utilisation de l'azote et le taux d'exportation d'azote de la plantation. Le troisième chapitre est axé sur la variabilité génotypique pour la productivité, WUE et le taux d'exportation d'azote chez six génotypes de saule cultivés en TTCR sous trois contextes pédoclimatiques et est présenté sous la forme d'un article publié dans la revue *Biomass & Bioenergy* (Toillon *et al*., 2013b).

Enfin, à l'issu de ces trois chapitres, les principales conclusions et la contribution de la thèse à l'avancée des connaissances sont restituées au regard des objectifs initiaux. Les limites directement liées au travail de thèse sont également évoquées ainsi que certaines perspectives permettant d'y remédier. Au terme de cette partie, une étude exploratoire réalisée sur une troisième espèce adaptée à la production de biomasse sous climat tempéré, le robinier, est présentée. Cette étude vise dans un premier temps à comparer deux provenances de robinier cultivées en TCR et en TTCR pour leurs niveaux de productivité et ses déterminants, leurs efficiences d'utilisation de l'eau et leurs taux d'exportation d'azote de la plantation, et dans un second temps à comparer cette espèce aux saules cultivés dans les mêmes conditions pédoclimatiques (Guémené-Penfao) et pour le même système de culture (TTCR) (Figure 6).

CHAPITRE 1

ETAT DES CONNAISSANCES SUR L'EFFICIENCE D'UTILISATION DES RESSOURCES (EAU ET AZOTE) CHEZ *POPULUS* ET *SALIX*

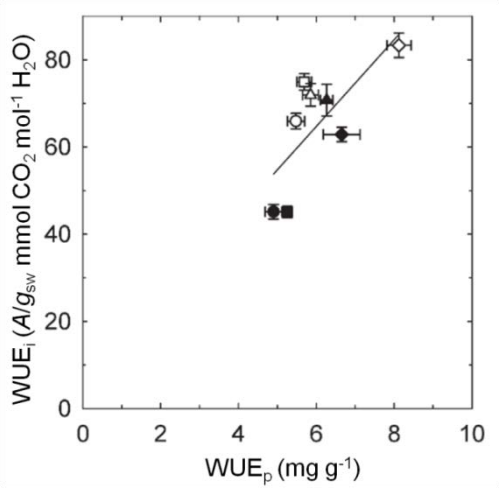


Figure 7. Relation entre efficience intrinsèque d'utilisation de l'eau (WUE_i) et efficience d'utilisation de l'eau à l'échelle des parties aériennes de la plante (WUE_p)[1]. Cette relation a été observée pour quatre génotypes de saules cultivés en condition hydrique non limitante (symboles noirs) et en condition de sécheresse modérée (symboles blancs). Moyennes ± Erreur Standard (ES) ; les valeurs sont présentées pour 8 à 13 répétitions par génotype. La droite correspond à la régression linéaire réalisée à partir des valeurs moyennes ($r_p = 0,73$)[2] Wikberg & Ögren, 2007

[1] Calculée comme étant le rapport entre la quantité de matière sèche aérienne produite et la quantité d'eau utilisée dans le
[2] Coefficient de corrélation de Pearson calculé à partir des valeurs présentées dans l'article.

1. L'efficience d'utilisation de l'eau

1.1. Définitions

L'efficience d'utilisation de l'eau (WUE) peut être définie à plusieurs échelles d'intégration. À l'échelle de la plante entière, WUE est définie directement comme le rapport entre la biomasse produite par la plante et la quantité d'eau utilisée pour produire cette biomasse dans le même laps de temps (WUE_p). À l'échelle de la feuille, elle est définie directement et de façon instantanée comme le rapport entre l'assimilation nette de CO_2 (A, μmol CO_2 m^{-2} s^{-1}) et la transpiration (E, mmol H_2O m^{-2} s^{-1}) (WUE_{inst}, A/E). Sachant que E est le produit de la conductance stomatique à la vapeur d'eau (g_{sw}, mmol H_2O m^{-2} s^{-1}) et du déficit de pression de vapeur d'eau entre l'air et les chambres sous-stomatiques de la feuille (VPD, kPa), on définit l'efficience intrinsèque d'utilisation de l'eau (WUE_i, mmol CO_2 mol^{-1} H_2O) comme le rapport entre A et g_{sw}. Une étude réalisée sur quatre clones de saules a permis de mettre en évidence une relation linéaire et positive entre WUE_p et WUE_i montrant que WUE_i était un bon estimateur de WUE_p (Figure 7 ; Wikberg & Ögren, 2007).

À l'échelle de la feuille, l'efficience d'utilisation de l'eau peut également être définie indirectement par l'intermédiaire de la discrimination isotopique vis-à-vis du carbone 13 de la matière organique ($\Delta^{13}C$). À l'état naturel, le carbone existe sous la forme de deux isotopes stables : le ^{12}C, un isotope léger et abondant dans le CO_2 atmosphérique (98,9%) et le ^{13}C, un isotope lourd et rare dans le CO_2 atmosphérique (1,1%) (Nier, 1950). Ces deux isotopes se différencient par leur encombrement stérique, entrainant d'une part, des différences de diffusion depuis l'atmosphère jusqu'aux chambres sous-stomatiques et d'autre part, une utilisation préférentielle du $^{12}CO_2$ par la Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase Oxygénase (RuBisCO) lors de l'étape de carboxylation (Farquhar *et al*., 1989). La conséquence directe est un appauvrissement de la matière organique des feuilles en ^{13}C par rapport à la composition isotopique de l'air. Il devient alors possible de calculer la composition isotopique en ^{13}C ($\delta^{13}C$) d'un échantillon exprimée en pour mille (‰) par rapport à un standard. Le standard international pour le carbone est un fossile calcaire, un rostre de Bélemnite issu de la formation rocheuse de Pee Dee en Caroline du sud (USA), nommé Pee Dee Belemnite (PDB). Ce fossile est riche en ^{13}C et son rapport isotopique, $^{13}C/^{12}C$, est de 0,0112372 (Craig, 1957). La composition isotopique d'un échantillon peut alors être calculée selon l'équation suivante :

$$\boldsymbol{\delta_{échantillon}}\ (‰) = [(\mathbf{R_{échantillon}} - \mathbf{R_{standard}})/\mathbf{R_{standard}}] \times \mathbf{1000} \qquad (1)$$

où $\mathbf{R_{échantillon}}$ et $\mathbf{R_{standard}}$ représentent respectivement le rapport $^{13}C/^{12}C$ de l'échantillon et du standard. Les valeurs de $\boldsymbol{\delta_{échantillon}}$ sont négatives puisque la matière organique est appauvrie en ^{13}C par rapport au standard. La discrimination isotopique vis-à-vis du carbone 13 de la matière organique foliaire ($\Delta^{13}C$) est ensuite définie de la façon suivante (Farquhar & Richards, 1984) :

$$\boldsymbol{\Delta^{13}C}\ (‰) = (\boldsymbol{\delta_{air}} - \boldsymbol{\delta_{échantillon}})/[\mathbf{1} + (\boldsymbol{\delta_{échantillon}}/\mathbf{1000})] \qquad (2)$$

où $\boldsymbol{\delta_{air}}$ représente la composition isotopique en ^{13}C de l'air (environ égale à -8‰) et $\boldsymbol{\delta_{échantillon}}$ représente la composition isotopique en ^{13}C de la matière organique foliaire.

Le modèle de photosynthèse proposé par Farquhar et collaborateurs pour les plantes ayant un métabolisme photosynthétique de type C_3 comporte cinq termes décrivant les processus influant sur $\Delta^{13}C$ de la matière organique foliaire : *(i)* la diffusion à travers la couche limite, *(ii)* la diffusion au travers des stomates, *(iii)* la diffusion depuis les chambres sous-stomatiques jusqu'aux sites enzymatiques de la RuBisCO, *(iv)* la carboxylation par la RuBisCO et *(v)* la photorespiration et la respiration liée au Cycle de Krebs (Farquhar & Richards, 1984; Farquhar *et al.*, 1980, 1982, 1989). Un modèle simplifié est généralement utilisé pour estimer $\Delta^{13}C$ en négligeant les processus de fractionnement liés aux points *(i)*, *(iii)* et *(v)*. Ainsi, en connaissant les fractions molaires du CO_2 atmosphérique (c_a) et au niveau des sites évaporant intercellulaires (c_i), $\Delta^{13}C$ peut-être décrit en fonction du rapport c_i/c_a de la façon suivante :

$$\boldsymbol{\Delta^{13}C}\ (‰) = \boldsymbol{a} + (\boldsymbol{b} - \boldsymbol{a}) \times (\mathbf{c_i}/\mathbf{c_a}) \qquad (3)$$

où $\boldsymbol{a}$ représente le coefficient de fractionnement isotopique lors de la diffusion du CO_2 au travers des stomates [~4,4‰ (O'Leary, 1981)], et $\boldsymbol{b}$ représente le coefficient de fractionnement isotopique lors du processus de carboxylation par la RuBisCO [~27‰ (Farquhar & Richards, 1984)].

Par ailleurs, sachant que l'assimilation nette de CO_2 (A) est fonction de la conductance stomatique au CO_2 (g_{CO_2}) et de la différence de concentration en CO_2 entre l'atmosphère et les chambres sous-stomatiques tel que :

$$\boldsymbol{A = g_{CO_2} \times (c_a - c_i)} \qquad (4)$$

Or, sachant que la conductance stomatique à la vapeur d'eau (g_{sw}) est 1,6 fois plus importante que celle de g_{CO_2} et en réarrangeant les équations *(3)* et *(4)*, WUE_i et $\Delta^{13}C$ sont théoriquement reliées négativement et linéairement (Farquhar *et al.*, 1982) :

$$\mathbf{WUE_i} = \frac{\boldsymbol{A}}{\boldsymbol{g_{sw}}} = (\boldsymbol{c_a}/\mathbf{1,6}) \times ((\boldsymbol{b} - \boldsymbol{\Delta^{13}C})/(\boldsymbol{b} - \boldsymbol{a})) \qquad (5)$$

La relation entre WUE_i et $\Delta^{13}C$ a été confirmée expérimentalement chez de nombreuses espèces herbacées telles que le blé (*Triticum* sp. ; Farquhar & Richards, 1984), la fétuque (*Festuca* sp. ; Devitt *et al.*, 1997) ou encore le riz (*Oryza* sp. ; Impa *et al.*, 2005) mais également chez des espèces ligneuses telles que le caféier (*Coffea* sp. ; Meinzer *et al.*, 1990), le chêne (*Quercus* sp. ; Devitt *et al.*, 1997; Roussel *et al.*, 2009), le châtaigner (Lauteri *et al.*, 1997), le pin (*Pinus* sp. ; McDowell *et al.*, 2003), le peuplier (Cao *et al.*, 2012; DesRochers *et al.*, 2006; Fichot *et al.*, 2011; Monclus *et al.*, 2006; Ripullone *et al.*, 2004; Soolanayakanahally *et al.*, 2009; Yin *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2004) ou encore le saule (Sullivan & Welker, 2007). Toutefois, certaines études n'ont pas pu mettre en évidence la relation entre $\Delta^{13}C$ et WUE_i (Froux *et al.*, 2002; Picon *et al.*, 1996; Sun *et al.*, 1996). Cette absence de lien peut souvent être expliquée par une différence d'échelle d'intégration entre les mesures instantanées d'échange de gaz et la mesure intégrée sur le pas de temps de développement de la feuille de $\Delta^{13}C$. Des études ont rapporté des variations de WUE_i au cours de la journée (Dickmann *et al.*, 1992; Pathre *et al.*, 1998) ainsi qu'au cours de la saison de végétation et ceci en fonction des conditions environnementales [température, différence de pression de vapeur entre la feuille et l'atmosphère, irradiance, ouverture stomatique (Cao *et al.*, 2011; Dawson *et al.*, 2002; Lindroth & Cienciala, 1996; Roupsard, 1997; Roussel *et al.*, 2009)]. Ces variations journalières et saisonnières démontrent l'importance de répéter les mesures d'échange de gaz au cours de la journée et/ou de l'année. De nombreux auteurs ont également rapporté que des variations de conductance mésophyllienne au CO_2 (considérée comme infinie dans le modèle de Farquhar) et des étapes de discrimination post-photosynthétique pouvaient également contribuer au bruit de fond parfois observé dans la relation $\Delta^{13}C$-WUE_i (Douthe *et al.*, 2011; Farquhar & Cernusak, 2012; Keitel *et al.*, 2003; Warren & Adams, 2006). Toutefois, compte-tenu de la relation linéaire et négative entre

WUE_i et $\Delta^{13}C$, $\Delta^{13}C$ est généralement considérée comme un estimateur fiable et rétrospectif de WUE_i, reflétant directement le niveau de compromis réalisé entre la maximisation des gains associés à l'assimilation nette de CO_2 et la minimisation des pertes associées à la transpiration (Ehleringer, 1993). Une récente étude réalisée chez des hybrides de peupliers a mis en évidence une relation linéaire et négative entre WUE_p et $\Delta^{13}C$, démontrant que $\Delta^{13}C$ n'était pas qu'un estimateur de WUE_i (à l'échelle foliaire) mais qu'il était également un bon estimateur de l'efficience d'utilisation de l'eau à l'échelle de la plante entière (Rasheed *et al.*, 2013). La discrimination isotopique peut donc être utilisée soit comme un indicateur des processus physiologiques et des conditions environnementales prévalant lors de l'assimilation du CO_2 (Ehleringer, 1988, 1993), soit comme un outil de comparaison de WUE_i entre espèces, génotypes ou populations sous des conditions environnementales similaires (Bonal *et al.*, 2000; Brendel *et al.*, 2002; Chamaillard *et al.*, 2011; DeLucia & Schlesinger, 1991; Körner *et al.*, 1991; Marron *et al.*, 2005; Ponton *et al.*, 2002; Zheng & Shangguan, 2007a). La discrimination isotopique vis-à-vis du carbone 13 présente une grande variabilité interspécifique et est de ce fait souvent utilisée comme marqueur de différenciation d'espèces du même genre (Bonal *et al.*, 2000; Guehl *et al.*, 1998; Ponton *et al.*, 2001). De larges différences de $\Delta^{13}C$ ont également été observées entre différentes provenances d'une même espèce (Brendel *et al.*, 2002; Guehl *et al.*, 1995; Lauteri *et al.*, 1997; Roupsard *et al.*, 1998; Zhang *et al.*, 1993).

1.2. Variabilité génétique

De nombreux travaux ont été réalisés sur la variabilité de $\Delta^{13}C$ à la fois chez des individus issus de populations naturelles et chez des hybrides de peupliers, de saules et de robiniers. La plupart de ces travaux utilisaient $\Delta^{13}C$ comme indicateur de WUE. Dans le cadre de cette thèse, une revue de la littérature (1997-2013) traitant de la variabilité de $\Delta^{13}C$ au sein des genres *Populus* et *Salix* a été effectuée (Tableau 2). Cette revue regroupe 38 articles, 34 traitent de la variabilité au sein du genre *Populus*, trois au sein du genre *Salix* et un des deux genres. Les études ne rapportant des données de $\Delta^{13}C$ que sous forme graphique ont également été inscrites dans le tableau. Chez le peuplier, une importante gamme de variation pour $\Delta^{13}C$ a été observée en fonction du fond génétique ; les valeurs de $\Delta^{13}C$ variaient au minimum de 0,3‰ pour une espèce pure (*P. euphratica,* Wang *et al.*, 1997) à plus de 10‰ dans une descendance F_2 de formule hybride *P. trichocarpa* × *P. deltoides* (Rae *et al.*, 2004). Chez les hybrides euraméricains (*P. deltoides* × *P. nigra*), la gamme de variation de $\Delta^{13}C$

semblait dépendante des conditions de cultures ; ainsi, une gamme de variation maximale de 6,2‰ a été observée pour des jeunes arbres cultivés en serre (Marron *et al.*, 2005) alors qu'elle n'excédait pas 2,7‰ en plantation (Monclus *et al.*, 2006). Au sein du genre *Salix*, une gamme de variation minimale de 1,7‰ a été observée pour *S. arctica* (Sullivan & Welker, 2007) et une gamme de variation maximale de 3,26‰ a été mise en évidence pour des hybrides interspécifiques de *Salix* sp. (Weih *et al.*, 2006).

De nombreux facteurs environnementaux susceptibles d'influencer A et/ou g_s sont susceptibles d'influencer WUE_i et $\Delta^{13}C$, tels que l'irradiance (Farquhar *et al.*, 1989; Israeli *et al.*, 1996; Zimmerman & Ehleringer, 1990), la teneur en azote du sol (Ripullone *et al.*, 2004), la disponibilité en eau du sol (Bonhomme *et al.*, 2008; Farquhar & Richards, 1984; Monclus *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2004), l'humidité relative (Madhavan *et al.*, 1991), la concentration en CO_2 de l'air (Guehl *et al.*, 1994; Picon *et al.*, 1996), l'émission d'isoprène (Guidolotti *et al.*, 2011), ou encore la température (Craufurd *et al.*, 1999).

Tableau 2. Revue de la littérature (1997-2012) des études présentant des valeurs de discrimination isotopique vis-à-vis du carbone 13 ($\Delta^{13}C$, ‰; Min et Max ; gamme de variation) de la matière organique foliaire (feuille) et ligneuse (bois) ainsi que des sucres solubles foliaires (ss) chez le peuplier et le saule.

Genre	Espèce	Tissu	Milieu de croissance	Facteur étudié	Nombre de génotypes / populations	Moyenne ± ES (‰)	Min (‰)	-	Max (‰)	Gamme de variation pour $\Delta^{13}C$ (‰)	Référence
Populus											
	P. angustifolia	feuille	forêt	altitude	30 individus		19,2	-	23,2	4	Sparks & Ehleringer, 1997
	P. balsamifera	feuille	serre	climat, génotype	21 provenances		22,7	-	23,7	1	Soolanayakanahally *et al.*, 2009
		Bois	serre	climat, génotype	21 provenances			-		1,1	Soolanayakanahally *et al.*, 2009
	P. cathayana	feuille	serre	alimentation hydrique optimale	15 populations		21,6	-	22,3	0,7	Xu *et al.*, 2008
		feuille	serre	déficit hydrique	15 populations		17,7	-	20,3	0,6	Xu *et al.*, 2008
		feuille	pots, extérieur	contrôle	1 population	21,4 ± 0,1		-			Yin *et al.*, 2009
		feuille	pots, extérieur	fertilisation	1 population	20,7 ± 0,1		-			Yin *et al.*, 2009
		feuille	pots, extérieur	déficit hydrique	1 population	20,8 ± 0,1		-			Yin *et al.*, 2009
		feuille	pots, extérieur	déficit hydrique & fertilisation	1 population	18,5 ± 0,6		-			Yin *et al.*, 2009
	P. davidiana	feuille	serre	alimentation hydrique optimale	2 populations		22,4	-	22,9	0,3	Li *et al.*, 2004
		feuille	serre	alimentation hydrique optimale + ABA	2 populations		19,4	-	21,4	2,0	Li *et al.*, 2004
		feuille	serre	déficit hydrique	2 populations		20,0	-	22,3	2,3	Li *et al.*, 2004
		feuille	serre	déficit hydrique + ABA	2 populations		16,6	-	20,8	4,2	Li *et al.*, 2004
		feuille	serre	alimentation hydrique optimale	3 populations	22,4 ± 0,4		-			Zhang *et al.*, 2004
		feuille	serre	déficit hydrique	3 populations	19,4 ± 0,4		-			Zhang *et al.*, 2004
		feuille	serre	alimentation hydrique optimale	3 écotypes		22,8	-	23,3	0,5	Zhang *et al.*, 2005
		feuille	serre	déficit hydrique 80%	3 écotypes		21,7	-	23,0	2,3	Zhang *et al.*, 2005
		feuille	serre	déficit hydrique 60%	3 écotypes		20,6	-	22,6	2,0	Zhang *et al.*, 2005
		feuille	serre	déficit hydrique 40%	3 écotypes		19,6	-	22,4	2,8	Zhang *et al.*, 2005
		feuille	serre	déficit hydrique 20%	3 écotypes		18,4	-	21,9	3,5	Zhang *et al.*, 2005
	P. euphratica	feuille	désert	variation saisonnière de $\delta^{13}C$	1 population	20,2 ± 0,1	19,3	-	20,7	1,4	Cao *et al.*, 2011

Tableau 2. suite

Genre	Espèce	Tissu	Milieu de croissance	Facteur étudié	Nombre de génotypes / populations	Moyenne ± ES	Min - Max	Gamme de variation pour $\Delta^{13}C$ (‰)	Référence
Populus									
	P. fremontii	bois	forêt	climat	52 individus	18,5	17,1 - 19,2	2,1	Leffler & Evans, 1999
		feuille	forêt	site	65 individus		20,5 - 23,8	3,3	Leffler & Evans, 2001
		bois	forêt	site	60 individus		17,1 - 20,9	3,8	Leffler & Evans, 2001
		feuille	forêt	altitude	30 individus		19,5 - 22,9	3,4	Sparks & Ehleringer, 1997
	P. nigra	feuille	pépinière	site et déficit hydrique	3 populations		-	2,3	Chamaillard *et al.*, 2011
		feuille	pépinière	site	134 génotypes		19,5 - 23,1	3,6	Ding *et al.*, 2006
		bois	pépinière	ozone, 2001, 2002	27 individus		19,6 - 21,4	1,8	Novak *et al.*, 2007
	P. przewalskii	feuille	pots, extérieur	contrôle	1 population	21,2 ± 0,3	-		Yin *et al.*, 2009
		feuille	pots, extérieur	fertilisation	1 population	20,1 ± 0,5	-		Yin *et al.*, 2009
		feuille	pots, extérieur	déficit hydrique	1 population	20,7 ± 0,2	-		Yin *et al.*, 2009
		feuille	pots, extérieur	déficit hydrique, fertilisation	1 population	19,4 ± 0,5	-		Yin *et al.*, 2009
	P. simonii	feuille	forêt	site	5 individus		16,3 - 21,3	5	Zheng & Shangguan, 2007b
	P. tremuloides	feuille	forêt	site	60 individus		19,2 - 21,3	2,1	Brooks *et al.*, 1997
		feuille	forêt	irradiance	8 individus		17,0 - 19,4	2,7	Buchmann *et al.*, 1997
		feuille	pépinière	origine génétique	1 population	19,9 ± 0,1	-		Kanaga *et al.*, 2008
	P. trichocarpa	feuille	pépinière	origine génétique	5 provenances		18,7 - 23,4	4,7	Gornall & Guy, 2007
	P. deltoides × *P. nigra*	feuille	peupleraie	site	10 génotypes	21,3 ± 0,3	20,1 - 22,3	2,2	Bonhomme *et al.*, 2008
		feuille	peupleraie	site	10 génotypes	22,2 ± 0,3	21,3 - 23,6	2,3	Bonhomme *et al.*, 2008
		feuille	pépinière	site	50 génotypes F_1	20,8 ± 0,0	19,9 - 21,6	1,7	Dillen *et al.*, 2008
		feuille	pépinière	déficit hydrique	8 génotypes		19,8 - 21,3	1,5	Fichot *et al.*, 2010, 2011
		feuille	serre	origine génétique	31 génotypes	21,8 ± 0,1	21,7 - 27,9	6,2	Marron *et al.*, 2005
		feuille	pépinière		29 génotypes	20,0 ± 0,1	18,7 - 21,5	2,8	Monclus *et al.*, 2005
		feuille	pépinière	alimentation hydrique optimale	29 génotypes	21,6 ± 0,2	20,5 - 23,2	2,7	Monclus *et al.*, 2006

Tableau 2. suite

Genre	Espèce	Tissu	Milieu de croissance	Facteur étudié	Nombre de génotypes / populations	Moyenne ± ES	Min - Max	Gamme de variation pour $\Delta^{13}C$ (‰)	Référence
Populus									
	P. deltoides × *P. nigra*	feuille	pépinière	déficit hydrique	29 génotypes	21,3 ± 0,2	19,8 - 22,3	2,5	Monclus *et al.*, 2006
		bois	plantation	âge	9 génotypes		18,4 - 21,2	2,8	Rasheed *et al.*, 2011
		feuille	serre	variabilité génotypique	6 génotypes		21,4 - 22,5	1,1	Rasheed *et al.*, 2013
		ss	serre	variabilité génotypique	6 génotypes		22,2 - 24,3	2,1	Rasheed *et al.*, 2013
		feuille	plantation	site, alimentation hydrique	4 génotypes	20,8	20,4 - 21,2	0,8	Voltas *et al.*, 2006
		feuille	plantation		4 génotypes	21,1	20,3 - 21,6	1,3	Voltas *et al.*, 2006
	P. deltoides × *P. trichocarpa*	feuille	pépinière		50 génotypes F_1	20,5 ± 0,0	19,8 - 21,7	1,9	Dillen *et al.*, 2008
		feuille	pépinière		31 génotypes F_1	20,8 ± 0,0	-		Dillen *et al.*, 2011b
		feuille	pépinière	alimentation hydrique optimale	33 génotypes	21,6 ± 0,1	20,7 - 22,5	1,8	Monclus *et al.*, 2009
		feuille	pépinière	déficit hydrique	33 génotypes	22,0 ± 0,1	21 - 23,1	2,1	Monclus *et al.*, 2009
		feuille	pépinière		336 génotypes F_1	21,6 ± 0,0	20,2 - 22,9	2,7	Monclus *et al.*, 2012
		feuille	pépinière		Descendance F_2		12,2 - 22,7	10,5	Rae *et al.*, 2004
		feuille	peupleraie	site	4 génotypes		-	2,2	Bonhomme *et al.*, 2008
	P. deltoides × *P. petrowskyana*	feuille	plantation		2 génotypes	20,4 ± 0,0	-		DesRochers *et al.*, 2006
		feuille	serre	pH du sol, source azotée, déficit hydrique	2 génotypes		21,5 - 23,5	2,0	DesRochers *et al.*, 2007
	P. tremula × *P. alba*	feuille	plantation	transgène gibbérelline	10 constructions		16,7 - 18,6	1,9	Elias *et al.*, 2012
Salix									
	S. arctica	feuille	calotte glacière	site	2 génotypes		20,0 - 21,7	1,7	Sullivan & Welker, 2007
		bois	calotte glacière	site	2 génotypes		17,0 - 18,6	1,6	Sullivan & Welker, 2007
	S. exigua	feuille	forêt	site	30 individus		19,1 - 21,1	2,0	Sparks & Ehleringer, 1997
	Salix sp.	bois	plantation	site, année	4 génotypes		18,1 - 21,3	3,2	Schifman *et al.*, 2012
		feuille	pots, extérieur	irrigation, fertilisation	14 génotypes		18,5 - 21,3	1,8	Weih & Nordh, 2002

1.3. Plasticité phénotypique

La plasticité phénotypique correspond à la capacité d'un génotype à exprimer différents phénotypes en fonction de son environnement de croissance. La plasticité phénotypique de $\Delta^{13}C$ en réponse aux facteurs environnementaux a été largement étudiée (alimentation hydrique, fertilisation, climat). Dans le cadre de cette thèse, une revue de la littérature (1997-2012) traitant de la plasticité phénotypique de $\Delta^{13}C$ a été effectuée (Table 3). Cette revue regroupe 40 articles traitant de la plasticité de $\Delta^{13}C$ sur différents fonds génétiques de peuplier et de saule. Parmi ces 40 articles, 21 articles traitaient de la plasticité de $\Delta^{13}C$ en réponse à un déficit hydrique et/ou à une fertilisation azotée au sein des genres *Populus* et *Salix*. Quel que soit le fond génétique, de nombreuses études rapportent des diminutions des valeurs de $\Delta^{13}C$ en réponse à un déficit hydrique (Zhang *et al*., 2004 ; Monclus *et al.*, 2006 ; DesRochers *et al.*, 2007 ; Bonhomme *et al.*, 2008 ; Fichot *et al.*, 2010 ; Chamaillard *et al.*, 2011 ; Larchevêque *et al.*, 2011b) à l'exception d'une étude sur des hybrides de *P. deltoides* × *P. trichocarpa* (Monclus *et al*., 2009). En revanche, les modifications des valeurs de $\Delta^{13}C$ en réponse à des différences de fertilisation azotée dépendaient du fond génétique et des conditions hydriques. Par exemple, des études ont montré que les valeurs de $\Delta^{13}C$ étaient négativement liées aux quantités d'azote apportées pour différentes formules hybrides de peupliers (*P. balsamifera* × *P. simonii*, *P. deltoides* × *P.* ×*petrowskyana*, *P. balsamifera* × *P. maximowiczii* et *P. deltoides* × *P. balsamifera*) (DesRochers *et al.*, 2006 ; Larchevêque *et al.*, 2011a) alors qu'elles étaient positivement liées aux quantités d'azote apportées chez *P. cathayana, P. przewalskii* et *P. deltoides* × *P. nigra* (Siegwolf *et al.*, 2001; Yin *et al.*, 2009).

À notre connaissance, seules deux études ont traité de la plasticité phénotypique de WUE_i (A et g_{sw}) en réponse à une variation de la densité de plantation au sein du genre *Populus* (Benomar *et al.*, 2011; Proe *et al.*, 2002). Aucune variation de conductance stomatique en réponse à une augmentation de la densité de plantation n'a été mise en évidence dans ces deux études alors qu'une diminution de A_{max} était observée dans l'étude de Benomar *et al.* (2011) en réponse à une augmentation de la densité de plantation. À ce jour, aucun travail ne s'est intéressé à la plasticité de $\Delta^{13}C$ en réponse à une modification de la densité de plantation initiale chez des hybrides de *P. deltoides* × *P. nigra*.

Tableau 3. Revue de la littérature (1997-2012) des études traitant de la plasticité phénotypique de la discrimination isotopique vis-à-vis du carbone 13 de la matière organique foliaire ($\Delta^{13}C$, ‰) pour *Populus* sp. et *Salix* sp.

Facteur étudié	Tissu	Effet sur $\Delta^{13}C$	Principale source de variation de $\Delta^{13}C$	Espèce	Référence
Âge	Feuille	↘		*P. fremontii*	Leffler & Evans, 2001
	Bois	⇔		*P. fremontii*	Leffler & Evans, 2001
	Feuille	⇔ (entre jours 72 et 93 de l'expérience)	g_{sw}	*P. deltoides* × *P. nigra*	Marron *et al.*, 2005
	Feuille	↗ entre 2005 et 2006 (site non alluvial)	g_{sw}	*P. deltoides* × *P. nigra*	Bonhomme *et al.*, 2008
	Feuille		g_{sw}	*P. deltoides* × *P. trichocarpa*	Bonhomme *et al.*, 2008
	Feuille	↗ sur 1 saison de végétation	g_{sw}	*P. euphratica*	Cao *et al.*, 2011
	Bois	⇔ (pas de tendance)	g_{sw}	*P. deltoides* × *P. nigra*	Rasheed *et al.*, 2011
	Bois	↘ sur 3 ans	g_{sw} et cavitation xylemienne	4 hybrides de saules	Schifman *et al.*, 2012
Altitude	Feuille	↘	*A*	*P. angustifolia*	Sparks & Ehleringer, 1997
	Feuille	↘	*A*	*P. fremontii*	Sparks & Ehleringer, 1997
	Feuille	↘	*A*	*S. exigua*	Sparks & Ehleringer, 1997
	Feuille	↘		*P. fremontii*	Leffler & Evans, 2001
	Bois	↘		*P. fremontii*	Leffler & Evans, 2001
	Feuille		conductance interne au mésophylle	*P. balsamifera*	Soolanayakanahally *et al.*, 2009
Anatomie foliaire	Feuille	↗ chez les feuilles lancéolées *vs*. feuilles cordiformes	g_{sw}	*P. euphratica*	Wang *et al.*, 1997
Année	Bois	↘ ou ↗ ou ⇔	précipitations, température et débit d'eau de la rivière	*P. fremontii*	Leffler & Evans, 1999
	Bois	↘	g_{sw}	*P. nigra*	Novak *et al.*, 2007
	Feuille	↗ (France entre 2004 et 2006)	g_{sw}	*P. deltoides* × *P. nigra*	Dillen *et al.*, 2011b
	Feuille	⇔ (France entre 2005 et 2006)		*P. deltoides* × *P. trichocarpa*	Dillen *et al.*, 2011b
Application d'ABA	Feuille	↘	g_{sw}	*P. davidiana*	Li *et al.*, 2004
Déficit hydrique	Feuille	↘	g_{sw}	*P. davidiana*	Zhang *et al.*, 2004
	Feuille	↘	g_{sw}	*P. davidiana*	Li *et al.*, 2004
	Feuille	↘	g_{sw}	*P. deltoides* × *P. nigra*	Monclus *et al.*, 2006
	Feuille	↘ (1999 et 2000)	*A* et g_{sw}	*P. deltoides* × *P. nigra*	Voltas *et al.*, 2006
	Feuille	↘	g_{sw}	*P. balsamifera*	DesRochers *et al.*, 2007
	Feuille	↘	g_{sw}	*P. deltoides* × *P.* ×*petrowskyana*	DesRochers *et al.*, 2007

***Tableau 3*. suite**

Facteur étudié	Tissu	Effet sur $\Delta^{13}C$	Principale source de variation de $\Delta^{13}C$	Espèce	Référence
Déficit hydrique	Feuille	↘	g_{sw}	*P. cathayana*	Ren *et al.*, 2007
	Feuille	↘	g_{sw}	*P. kangdingensis*	Ren *et al.*, 2007
	Feuille	↘	g_{sw}	*P. cathayana*	Xu *et al.*, 2008
	Feuille	↘	g_{sw}	*P. deltoides* × *P. nigra*	Bonhomme *et al.*, 2008
	Feuille	↘	g_{sw}	*P. deltoides* × *P. nigra*	Fichot *et al.*, 2009
	Feuille	↗	*A*	*P. deltoides* × *P. trichocarpa*	Monclus *et al.*, 2009
	Feuille	↘		*P. cathayana*	Yin *et al.*, 2009
	Feuille	↘		*P. przewalskii*	Yin *et al.*, 2009
	Feuille		g_{sw}	*P. deltoides* × *P. nigra*	Fichot *et al.*, 2010
	Feuille	↘		*P. nigra*	Chamaillard *et al.*, 2011
	Feuille	↘	g_{sw}	*P. deltoides* × *P. nigra*	Cocozza *et al.*, 2011
	Feuille	↘	g_{sw}	*P. deltoides*	Cocozza *et al.*, 2011
	Feuille	↘	g_{sw}	*P. balsamifera*	Larchevêque *et al.*, 2011b
	Feuille	↘	g_{sw}	*P. balsamifera* × *P. trichocarpa*	Larchevêque *et al.*, 2011b
	Feuille	↘	g_{sw}	*P. balsamifera* × *P. maximiwizcii*	Larchevêque *et al.*, 2011b
	Feuille	↘	g_{sw}	*P. deltoides* × *P. nigra*	Siegwolf *et al.*, 2001
	Feuille	↗	g_{sw}	*P. deltoides* × *P. nigra*	Siegwolf *et al.*, 2001
	Feuille	↘	*A*	*S. viminalis*	Weih, 2001
	Feuille	↘	g_{sw}	14 hybrides de saules	Weih & Nordh, 2002
	Feuille	↘	*A*	*S. viminalis*	Weih *et al.*, 2006
	Feuille	↘	*A*	*S. dasyclados*	Weih *et al.*, 2006
Fertilisation	Feuille	↗		*P. deltoides* × *P. nigra*	Siegwolf *et al.*, 2001
	Feuille	↘ (1ère saison de végétation)	g_{sw}	*P. balsamifera* × *P. simonii*	DesRochers *et al.*, 2006
	Feuille	⇔ (2ème saison de végétation)		*P. balsamifera* × *P. simonii*	DesRochers *et al.*, 2006
	Feuille	↘ (1ère saison de végétation)	g_{sw}	*P. deltoides* × *P.* ×*petrowskyana*	DesRochers *et al.*, 2006
	Feuille	⇔ (2ème saison de végétation)	*A*	*P. deltoides* × *P.* ×*petrowskyana*	DesRochers *et al.*, 2006
	Feuille	↗	↗ *A* et ↘ g_{sw}	*P. cathayana*	Yin *et al.*, 2009
	Feuille	↗	↗ *A* et ↘ g_{sw}	*P. przewalskii*	Yin *et al.*, 2009
	Feuille	↘ (Compost)		*P. balsamifera* × *P. maximowiczii*	Larchevêque *et al.*, 2011a
	Feuille	↘ (fertilisation minérale)		*P. balsamifera* × *P. maximowiczii*	Larchevêque *et al.*, 2011a
	Feuille	↘ (Compost)		*P. maximowiczii* × *P. balsamifera*	Larchevêque *et al.*, 2011a
	Feuille	↘ (fertilisation minérale)		*P. maximowiczii* × *P. balsamifera*	Larchevêque *et al.*, 2011a

***Tableau 3*. suite**

Facteur étudié	Tissu	Effet sur $\Delta^{13}C$	Principale source de variation de $\Delta^{13}C$	Espèce	Référence
Fertilisation	Feuille	↘ (Compost)		*P. deltoides* × *P. balsamifera*	Larchevêque *et al.*, 2011a
	Feuille	↘ (fertilisation minérale)		*P. deltoides* × *P. balsamifera*	Larchevêque *et al.*, 2011a
Latitude	Feuille	↘	g_{sw}	*P. davidiana*	Zheng & Shangguan, 2007ab
	Feuille	⇔	g_{sw}	*P. simonii*	Zheng & Shangguan, 2007ab
Ozone	Bois	⇔	g_{sw}	*P. nigra*	Novak *et al.*, 2007
pH du sol	Feuille	↘		*P. balsamifera*	DesRochers *et al.*, 2007
	Feuille	⇔ ou ↘		*P. deltoides* × *P.* ×*petrowskyana*	DesRochers *et al.*, 2007
Précipitations	Bois	↘	g_{sw} et cavitation xylemienne	4 hybrides de saules	Schifman *et al.*, 2012
Sexe	Feuille	$\Delta^{13}C$ mâle > $\Delta^{13}C$ femelles (WW)	*A*	*Salix* sp.	Weih *et al*., 2006
	Feuille	$\Delta^{13}C$ mâle = $\Delta^{13}C$ femelles (WD)	*A*	*Salix* sp.	Weih *et al.*, 2006
	Feuille	$\Delta^{13}C$ mâle < $\Delta^{13}C$ femelles (WW)	g_{sw}	*P. cathayana*	Xu *et al.*, 2008
	Feuille	$\Delta^{13}C$ mâle = $\Delta^{13}C$ femelles (WD)		*P. cathayana*	Xu *et al.*, 2008
Site	Feuille	↘ avec éloignement de la côte	g_{sw}	*P. trichocarpa*	Gornall & Guy, 2007
	Feuille	$\Delta^{13}C$ France > $\Delta^{13}C$ Italie	*A*	*P. deltoides* × *P. nigra*	Dillen *et al*., 2011b
	Feuille	$\Delta^{13}C$ France > $\Delta^{13}C$ Italie	g_{sw}	*P. deltoides* × *P. trichocarpa*	Dillen *et al.*, 2011b
Site alluvial *vs*. site non alluvial	Feuille	⇔	*A* (site non alluvial)	*P. deltoides* × *P. nigra*	Bonhomme *et al.*, 2008
	Feuille	⇔	*A* (site non alluvial)	*P. deltoides* × *P. trichocarpa*	Bonhomme *et al.*, 2008
Site sec *vs*. site humide	Feuille	$\Delta^{13}C$ site sec < $\Delta^{13}C$ site humide	g_{sw}	*P. tremuloides*	Kanaga *et al.*, 2008
Taille de l'arbre (1m *vs*. 10m)	Feuille	$\Delta^{13}C$ arbre 1m < $\Delta^{13}C$ arbre 10m	*A*	*P. hopeinsis*	Tanaka-Oda *et al.*, 2010
Température	Feuille	↗	*A*	*S. viminalis*	Weih, 2001
	Feuille	↘		*S. arctica* femelle	Welker *et al.*, 2004
	Feuille	↘		*S. arctica* mâle	Welker *et al.*, 2004
	Feuille	⇔		*S. arctica*	Hudson *et al.,* 2011
Type de bois	Bois	$\Delta^{13}C$ bois initial > $\Delta^{13}C$ bois final	*A* et g_{sw}	*P. deltoides* × *P. nigra*	Rasheed *et al.*, 2011
Type de matériel planté	Feuille	plançon raciné = plançon < bouture = bouture raciné	g_{sw}	4 hybrides de peupliers	DesRochers & Tremblay, 2009
UV-B	Feuille	↘	g_{sw}	*P. kangdingensis*	Ren *et al.*, 2007
	Feuille	↘	g_{sw}	*P. cathayana*	Ren *et al.*, 2007

Note : A : Assimilation nette de CO_2 ; ABA: acide absiscique ; g_{sw} : conductance stomatique à la vapeur d'eau ; UV-B : Ultra-Violet de type B ; ↘ : diminution des valeurs de $\Delta^{13}C$; ↗ : augmentation des valeurs de $\Delta^{13}C$; ⇔ : aucun effet sur les valeurs de $\Delta^{13}C$ en réponse à une augmentation du facteur étudié.

1.4. Relations entre $\Delta^{13}C$ et productivité

Afin de limiter les coûts financiers et environnementaux et compte-tenu des modifications climatiques actuelles (IPCC, 2007), il est important de sélectionner des génotypes capables de produire d'importantes quantités de biomasse à moindre coût en eau, c'est-à-dire sélectionner des génotypes à la fois productif et efficient vis-à-vis de l'utilisation de l'eau (*cf*. Introduction générale). De ce fait, de nombreux travaux étudiant $\Delta^{13}C$ se sont également intéressés à la productivité (ou ses déterminants) et à la relation entre ces caractères (Rae *et al.*, 2004; Marron *et al.*, 2005; Monclus *et al.*, 2005, 2006; Voltas *et al.*, 2006; Bonhomme *et al.*, 2008; Dillen *et al.*, 2008, 2011b; Fichot *et al.*, 2009).

Différents types de relations entre la productivité et $\Delta^{13}C$ ont été observés dans la littérature au sein des genres *Populus* et *Salix* :

(i) aucun lien entre productivité et $\Delta^{13}C$ n'a pu être observé pour des espèces pures, *P. fremontii* (Leffler & Evans, 1999) et *P. nigra* (Chamaillard *et al*., 2011), pour des hybrides issus de croisement *P. deltoides* × *P. nigra* (Bonhomme *et al.*, 2008; Dillen *et al.*, 2008, 2011b; Fichot *et al.*, 2009; Marron *et al.*, 2005; Monclus *et al.*, 2005, 2006; Voltas *et al.*, 2006) et *P. trichocarpa* × *P. deltoides* (Bonhomme *et al.*, 2008; Rae *et al.*, 2004) et au sein du genre *Salix* (Aasamaa *et al.*, 2010; Weih & Nordh, 2002; Weih *et al.*, 2006) suggérant que les deux caractères pouvaient être sélectionnés de façon indépendante afin d'obtenir des génotypes à la fois productifs et efficients vis-à-vis de l'utilisation de l'eau ;

(ii) un lien négatif entre productivité et $\Delta^{13}C$ a été observé au sein de descendances F_1 de *P. deltoides* × *P. trichocarpa* en conditions hydriques non limitantes (Monclus *et al.*, 2009) et au sein du genre *Salix* (Schifman *et al.*, 2012; Weih & Nordh, 2002, 2005) suggérant que les deux caractères pouvaient être co-sélectionnés de façon bénéfique, autrement dit que les génotypes les plus productifs seraient également les plus efficients vis-à-vis de l'utilisation de l'eau ; et

(iii) un lien positif entre productivité et $\Delta^{13}C$ a été observé chez le saule en conditions hydrique limitante (Weih & Nordh, 2002 ; Weih *et al.*, 2006) suggérant que les génotypes les plus productifs seraient les moins efficients pour utiliser l'eau.

2. L'efficience d'utilisation de l'azote

2.1. Définitions

L'azote prélevé par les plantes est en majorité investi dans la machinerie photosynthétique (Stocking & Ongun, 1962; Evans, 1983) qui elle-même permet la fixation du carbone. Ce carbone fixé permet quant à lui la croissance et donc l'accumulation de la biomasse. En raison de leur importance dans l'explication de la distribution des espèces végétales à travers des gradients environnementaux, l'étude des relations entre économie de carbone et d'azote pour les espèces végétales est devenue l'un des sujets majeurs en écologie végétale.

Le concept d'efficience d'utilisation de l'azote (NUE) a été défini différemment selon les disciplines et le contexte des études. Selon les auteurs, NUE comporte deux composantes : la première correspond à l'efficience d'absorption de l'azote (NUpE pour N Uptake Efficiency) qui représente la quantité d'azote absorbée par la plante par rapport à la quantité totale d'azote disponible dans le sol et la seconde correspond à l'efficience avec laquelle l'azote est utilisé pour élaborer le rendement (NUtE pour N Utilization Efficiency).

Selon Vitousek (1982), NUE est définie comme la quantité de biomasse produite par une plante par unité d'azote soit prélevée, soit perdue au cours d'une année dans le sens où il considère que la quantité d'azote prélevée est égale à celle perdue dans la litière. Cependant, une majorité de l'azote foliaire est remobilisée vers la tige avant la chute des feuilles. Ainsi, la remobilisation de l'azote contenu dans les feuilles associée au processus de sénescence réduit la quantité d'azote perdue dans la litière chaque année et par conséquent celle à prélever dans le sol. Ceci devrait donc avoir pour conséquence une augmentation de NUE en fonction de l'âge des individus. L'azote résorbé des feuilles va être stocké dans les parties pérennes de la plante ou utilisé pour produire de nouveaux tissus. Ce processus de résorption permet l'augmentation du temps de résidence de l'azote dans la plante (MRT, Mean Residence Time). Berendse & Aerts (1987) ont proposé une définition de NUE en associant deux concepts qui étaient le temps de résidence moyen de l'azote dans l'arbre et le celui de productivité azotée (A_{NP}), défini comme la quantité de biomasse produite par unité d'azote présente dans la plante (g MS g^{-1} N $jour^{-1}$). Ce dernier a été rapporté par Ingestad (1979) et a été basé sur l'observation d'une relation linéaire et positive entre taux de croissance relatif (relative growth rate, RGR) et la quantité d'azote présente dans la plante.

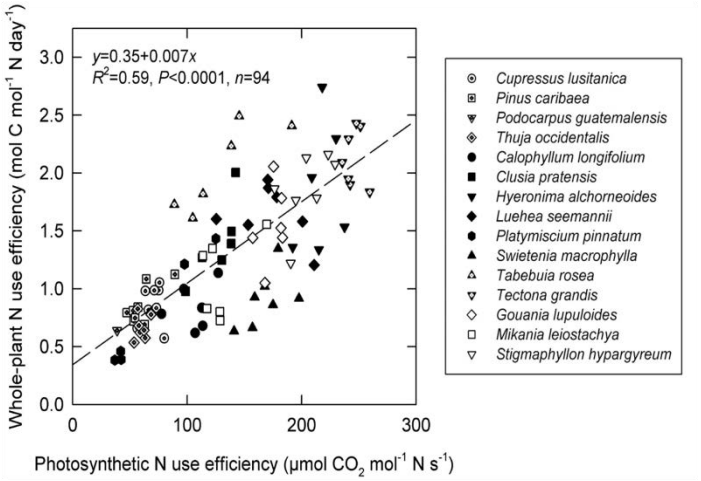


***Figure 8*.** Relation entre NUE à l'échelle de l'individu et PNUE chez 15 espèces de conifères. NUE à l'échelle de l'individu a été calculée à partir du taux de croissance relatif moyen, mesuré sur plusieurs mois alors que PNUE a été calculée à partir de mesures instantanées de la photosynthèse réalisées sur plusieurs minutes (Cernusak *et al.* 2008)**.**

Berendse & Aerts (1987) proposent donc de redéfinir l'efficience d'utilisation de l'azote comme étant le rapport entre la productivité azotée (A_{NP}) et le temps de résidence moyen de l'azote dans la plante (MRT).

Au niveau des parties aériennes, NUE a été définie plus simplement comme le rapport entre la productivité aérienne et la quantité d'azote prélevée dans le même laps de temps (Gray, 1983 ; Aerts, 1990 ; Lodhiyal *et al*., 1995a ; Adler *et al*., 2008 ; Weih *et al*., 2011a). Sachant que l'azote contenu dans les tissus des végétaux représente approximativement la quantité d'azote prélevée par la plante dans le milieu, deux indices sont couramment utilisés pour les espèces agronomiques et forestières (Laclau *et al.*, 2000; Safou-Matondo *et al.*, 2005) y compris pour le peuplier (Li *et al.*, 2012) et le saule (Adegbidi *et al.*, 2001; Tharakan *et al.*, 2005). Ces deux indices sont la « N Efficiency Ratio » (NER) et l'efficience d'utilisation de l'azote au niveau de la tige (Stem N Use Efficiency, SNUE). Ils correspondent respectivement au rapport entre la production de biomasse totale (aérienne et racinaire) et la quantité d'azote présente dans les tissus de la plante entière pour NER et au rapport entre la production de biomasse aérienne et la quantité d'azote présente dans les tiges pour SNUE. Pour des raisons méthodologiques, la SNUE a été retenu dans la suite du manuscrit.

À l'échelle foliaire, l'efficience photosynthétique de l'utilisation de l'azote (PNUE) correspond au rapport entre le taux d'assimilation nette de CO_2 (A, mmol CO_2 m^{-2} s^{-1}) et la concentration en N foliaire (mmol N m^{-2}). Il a été montré que PNUE est un bon estimateur de NUE pour 15 espèces de conifères (Figure 8 ; Cernusak *et al.*, 2008). L'efficience photosynthétique de l'utilisation de l'azote, c'est-à-dire la capacité photosynthétique par unité d'azote foliaire (μmol CO_2 s^{-1} g N^{-1}), est très variable entre espèces. Ces différences de PNUE sont généralement attribuées à des différences de distribution de l'azote au sein de la feuille (parois cellulaires, mitochondries, métabolisme cytosolique, appareil photosynthétique, etc.) et de la machinerie photosynthétique (protéines des thylakoïdes et du stroma), et de propriétés mécaniques comme la conductance mésophyllienne qui varie en fonction des propriétés structurales des feuilles (Hikosaka, 2004).

Les espèces à faible PNUE présentent généralement une faible conductance mésophyllienne, une faible proportion d'azote foliaire allouée à la machinerie photosynthétique (Warren & Adams, 2004) contribuant ainsi à de faibles taux de fixation du carbone et donc à de faibles productivités. Les espèces à forte PNUE présentent quant à elles d'importantes quantités d'azote foliaire allouées aux processus de photosynthèse, entrainant des taux élevés de fixation du carbone se traduisant par un fort potentiel de croissance (Hikosaka, 2004).

2.2. Variabilité génétique

L'efficience d'utilisation de l'azote varie entre genres, espèces, hybrides interspécifiques et entre génotypes d'une même espèce. Des valeurs de NUE variant de 130 à 450 g de matière sèche par g d'azote prélevé ont été observées pour le peuplier (Heilman & Stettler, 1986 ; Lodhyial *et al*., 1995a ; Berthelot *et al*., 2000 ; Jorgensen & Schelde, 2001 ; Calfapietra *et al*., 2007 ; Li *et al*., 2012) et une variation de 104 à 180 g de matière sèche par g d'azote prélevé a été montrée pour le saule (Jug *et al*. 1999a ; Adegbidi *et al*., 2001 ; Jorgensen & Schelde, 2001 ; Tharakan *et al*., 2005). Les valeurs de NUE rapportées dans la littérature pour des espèces pures de peupliers comme *P. alba* : 150 kg MS kg^{-1} N (Calfapietra *et al*., 2007) ; *P. nigra* : 150 kg MS kg^{-1} N (Calfapietra *et al*., 2007) ; *P. popularis* : 190 kg MS kg^{-1} N (Li *et al*., 2012) étaient moins élevées que celles observées pour des formules hybrides intra-spécifiques telle que *P. deltoides* : 159 kg MS kg^{-1} N à 175 kg MS kg^{-1} N (Lodhyial *et al*., 1995a) et interspécifiques telles que *P. trichocarpa* × *P. deltoides* : 420 kg MS kg^{-1} N à 450 kg MS kg^{-1} N (Berthelot *et al*., 2000) ; *P.* ×*euramericana* : 160 kg MS kg^{-1} N (Calfapietra *et al*., 2007) ; *P. alba* × *P. gladulosa* : 210 kg MS kg^{-1} N (Li *et al*., 2012). Pour plus de 200 génotypes de saules, une variation de NUE entre sexes a été observée (Weih *et al*., 2011b). Les individus femelles montraient des valeurs de NUE plus faibles que les individus mâles quelle que soit la condition de culture (état hydrique) suggérant que NUE était dépendante du sexe et du fond génétique (Weih *et al*., 2011b). En plus de varier entre espèces et entre génotypes, l'efficience d'utilisation de l'azote d'un génotype donné est modulée par les conditions environnementales dans lesquelles il est cultivé.

2.3. Plasticité phénotypique

Il a été mis en évidence que le contenu en azote présent dans les différents compartiments des arbres évoluait en fonction de la période de l'année mais également du tissu et de l'âge de l'arbre. Baker & Blackmon (1977) ont observé dans une plantation de *P. deltoides* que l'azote foliaire remobilisé au moment de la sénescence était alloué différemment entre les branches, les tiges et les racines avec plus de la moitié de l'azote total présent dans les arbres stocké dans le compartiment racinaire (estimé à 20 kg N ha^{-1}). Le taux d'exportation d'azote de la plantation calculé au moment de la récolte diminue avec l'âge des arbres. En effet, plus un arbre vieilli, moins la proportion d'écorce par rapport au bois est élevée. Le fait qu'une part importante de l'azote des tiges soit contenue dans l'écorce explique en partie cette diminution

de la quantité d'azote exportée. Ainsi, avec une augmentation de l'âge, une plus grande quantité de biomasse par unité d'azote prélevée est produite (Nilsson & Ericsson, 1986). Une autre conséquence de la diminution de la concentration en azote de la tige avec l'âge est la réduction des pertes (quantité d'azote exportée) par tonne de biomasse récoltée. Pour des arbres âgés de quatre ans, une gamme de variation pour le taux d'exportation d'azote allant de 7,7 à 22 kg ha^{-1} an^{-1} a été montrée (Bungart & Hüttl, 2001). Dans une autre étude, plus la plantation était âgée, plus les prélèvements d'azote dans le milieu étaient importants (Lodhiyal *et al*., 1995b ; Lodhiyal & Lodhiyal, 1997). Pour deux génotypes de *P. trichocarpa* × *P. deltoides* âgés de huit ans, le taux d'exportation d'azote variait de 22 à 25,8 kg N ha^{-1} an^{-1} (Berthelot *et al*., 2000). Dans des plantations de saule, la quantité d'azote exportée par ha évoluait en fonction du type d'azote apporté : une plus faible quantité d'azote était exportée par ha dans une plantation non fertilisée (105 kg N ha^{-1}), trois fois plus en cas de fertilisation minérale et plus de cinq fois plus en cas d'apport de lisier (Adegbidi *et al*., 2001 ; Cavanagh *et al*., 2011 ; Marmiroli *et al*., 2012). Une récente étude a montré que l'exportation d'azote dans un TTCR de *Robinia pseudoacacia* produisant 6 T MS ha^{-1} an^{-1} est de l'ordre de 50 kg ha^{-1} an^{-1} (Böhm *et al*., 2011b).

Il a été observé que NUE et PNUE étaient modulées par le niveau de fertilisation azotée, la concentration en CO_2 de l'air, l'âge du matériel végétal, mais également la densité de plantation. Ainsi, une augmentation de l'apport d'azote entrainait une diminution de NUE suggérant que la fertilisation azotée de plantations de *P. popularis* et *P. alba* × *P. glandulosa* devait être gérée de façon raisonnée (Li *et al*., 2012). Il a été rapporté pour *P. nigra* que moins les quantités d'azote disponibles dans le milieu étaient importantes, plus PNUE était élevée (Pons & Westbeek, 2004).

Dans une synthèse réalisée sur quatre expériences d'enrichissement de l'air en CO_2 (Free Air CO_2 Enrichment, FACE), Finzi *et al.* (2007) ont posé comme postulat qu'une augmentation de la productivité des forêts en conditions de CO_2 atmosphérique élevé ne pouvait être soutenue que si *(i)* plus d'azote était prélevé dans le sol ou *(ii)* l'azote présent dans la végétation était utilisé plus efficacement, c'est-à-dire via une augmentation de NUE. Une augmentation de NUE semblait être liée à une diminution de concentration en azote dans les tissus (A_{NP}) pour des peupliers cultivés sous des concentrations en CO_2 atmosphérique élevées (Calfapietra *et al*., 2007 ; Lagomarsino *et al*., 2008). En effet, une augmentation de la concentration intracellulaire en CO_2 (c_i) associée à une diminution de d'assimilation maximale de CO_2 (A_{max}) contribuait à une augmentation de PNUE en réponse à de faibles

niveaux d'azote disponibles pour la croissance des arbres (Makino *et al*., 1988 ; Evans *et al*., 1989 ; Fredeen *et al*., 1991 ; Pons & Westbeek, 2004).

Il a également été observé que NUE augmentait avec l'âge du matériel végétal (166 g MS g^{-1} N à 5 ans et 175 g MS g^{-1} N à 8 ans (Lodhiyal *et al*., 1995b). Benomar *et al*. (2011) ont pu mettre en évidence que PNUE variait en fonction de la densité de plantation, PNUE était plus élevée pour les arbres cultivés à forte densité (10 000 arbres ha^{-1}). Cette augmentation de PNUE était liée à une augmentation de la surface massique foliaire (Specific leaf area, SLA). En effet, une augmentation du SLA est associée à une diminution des coûts de construction foliaires (Feng *et al*., 2008). Elle diminue également la fraction d'azote foliaire allouée aux parois cellulaires, laissant plus d'azote disponible pour la machinerie photosynthétique (Onoda *et al*., 2004). Ainsi, l'augmentation du SLA semble être très importante pour la maximisation des valeurs de PNUE et des gains de carbone à l'intérieur de canopées soumises à de fortes compétitions (Schieving & Poorter, 1999 ; Benomar *et al*., 2011).

2.4. Relation entre NUE et productivité

À notre connaissance, peu d'études se sont intéressées à la relation entre NUE et la productivité. Toutefois, des relations variées ont été mises en évidence en fonction de l'espèce. Tharakan *et al*. (2005) ont pu mettre en évidence une corrélation positive entre la production de biomasse et NUE dans une étude réalisée avec 30 génotypes de saule. Ces résultats suggèrent que parmi les 30 génotypes de saule étudiés dans cet article, il serait possible de sélectionner des génotypes à la fois productifs et économes en termes d'utilisation de l'azote. Cependant, d'autres types de relations ont été observés entre NUE et les déterminants de la productivité. Ainsi, Gornall & Guy (2007) ont observé une corrélation négative entre NUE et la hauteur de l'arbre pour *P. trichocarpa*.

Ces résultats suggèrent un compromis entre NUE et la productivité puisque les arbres les plus hauts, donc les plus productifs, sont ceux qui utilisent le moins efficacement l'azote. Une corrélation positive entre SLA et PNUE a été mise en évidence par Poorter & Evans (1998). Une amélioration du partitionnement de l'azote entre les feuilles et au sein de le feuille au travers de la modulation du SLA peut entrainer une augmentation des valeurs de PNUE (Benomar *et al*., 2011). Ces résultats suggèrent qu'en cas de compétition intense, les individus les plus productifs seraient également ceux qui utiliseraient le plus efficacement l'azote au niveau foliaire rendant ainsi possible une sélection conjointe de ces deux caractères.

CHAPITRE 2

VARIABILITE GENETIQUE ET PLASTICITE DE LA PRODUCTIVITE ET DE L'EFFICIENCE D'UTILISATION DES RESSOURCES (EAU ET AZOTE) DE 56 *POPULUS DELTOIDES* × *POPULUS NIGRA*

CHAPITRE 2.1

EFFET DE LA DENSITE DE PLANTATION (TCR *VS.* TTCR) SUR L'EFFICIENCE D'UTILISATION DE L'EAU DE 56 *POPULUS DELTOIDES* × *POPULUS NIGRA*



Effet de la densité de plantation (TCR *vs*. TTCR) sur l'efficience d'utilisation de l'eau de 56 hybrides de *Populus deltoides* × *Populus nigra*

Julien Toillon, Régis Fichot, Erwin Dallé, Alain Berthelot, Franck Brignolas & Nicolas Marron

Accepté pour publication par la revue Forest Ecology and Management le 06 mai 2013

Résumé de l'article

Dans cette étude, il a été évalué comment l'effet de la densité de plantation (TCR *vs*. TTCR) sur l'efficience d'utilisation de l'eau (WUE) et les caractères liés à la croissance pouvait être modulé par les caractéristiques pécoclimatiques pour des hybrides de peuplier (*Populus deltoides* × *Populus nigra*) cultivés à des fins de production de biomasse. Dans ce but, 56 génotypes ont été plantés à deux densités de plantation répliquées à deux sites qui se différenciaient par leurs niveaux de disponibilité en eau et en azote. Les valeurs d'héritabilité les plus élevées ont été observées pour la date de débourrement ; les valeurs d'héritabilité observées pour les autres caractères étaient largement modulées par la densité de plantation et le site. Les arbres cultivés à forte densité (TTCR) avaient une croissance secondaire plus faible, des valeurs de SLA plus fortes ainsi que des plus fortes teneurs massiques en azote folaires. La densité de plantation affectait également la croissance primaire et les valeurs de $\Delta^{13}C$ bien que les effets observés étaient dépendant du site considéré. Sous des conditions de croissance optimales, une augmentation de la densité de plantation exacerbait la compétition pour la lumière se traduisant par une plus forte croissance primaire et des valeurs de $\Delta^{13}C$ plus élevées. Sous des conditions de croissances sub-optimales, une augmentation de la densité de plantation se traduisait par une compétition pour l'eau entrainant des plus faibles valeurs de $\Delta^{13}C$. Quel que soit le système de culture et le site, aucun antagonisme entre WUE et la croissance n'a été observé, confirmant ainsi un potentiel pour la sélection de génotypes ayant à la fois une forte efficience d'utilisation de l'eau avec une croissance satisfaisante pour des hybrides de *P. deltoides* × *P. nigra*. Le classement des génotypes était dans l'ensemble conservé entre densités de plantation au sein de chaque site laissant l'espoir d'identifier du matériel végétal au comportement similaire quel que soit le système de culture. Toutefois, l'importance des interactions Génotype × Site mises en évidence dans cette étude laissent suggérer que la sélection des génotypes devra être réalisée en fonction des conditions pédoclimatiques dans lesquelles le génotype sera cultivé.

Forest Ecology and Management 304 (2013) 345–354

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Forest Ecology and Management

journal homepage: www.elsevier.com/locate/foreco

Full length article

Planting density affects growth and water-use efficiency depending on site in *Populus deltoides* × *P. nigra*

Julien Toillon [a,b,c,d], Régis Fichot [c,d], Erwin Dallé [a,b], Alain Berthelot [e], Franck Brignolas [c,d,*], Nicolas Marron [a,b]

[a] INRA, UMR 1137 'Ecologie et Ecophysiologie Forestières' (EEF), route d'Amance, F-54280 Champenoux, France
[b] Université de Lorraine, UMR 1137 'Ecologie et Ecophysiologie Forestières' (EEF), F-54500 Vandœuvre-lès-Nancy, France
[c] Université d'Orléans, UFR-Faculté des Sciences, UPRES EA 1207 'Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures' (LBLGC), rue de Chartres, BP 6759, F-45067 Orléans, France
[d] INRA, USC 1328 'Arbres et Réponses aux Contraintes Hydriques et Environnementales' (ARCHE), rue de Chartres, BP 6759, F-45067 Orléans, France
[e] Institut Technologique FCBA, 60 route de Bonnencontre, F-21170 Charrey-sur-Saône, France

ARTICLE INFO

Article history:
Received 23 January 2013
Received in revised form 3 May 2013
Accepted 4 May 2013

Keywords:
Biomass production
Bulk leaf carbon isotope discrimination ($\Delta^{13}C$)
Genotype × Environment interactions
Phenotypic plasticity
Poplar
Short-rotation coppice

ABSTRACT

Poplar coppice plantations for biomass production can be conducted under either short rotation coppice (SRC) or short rotation forestry (SRF) systems, depending on planting density and rotation length. It is likely that differences in planting density affect tree physiology through competition for resource acquisition, including light, water and nutrients. In this paper, we hypothesized that the effects of planting density on growth and water-use efficiency (assessed through bulk leaf carbon isotope discrimination, $\Delta^{13}C$) in poplar depend on site characteristics in terms of soil fertility and water availability. To test this hypothesis, 56 *Populus deltoides* × *P. nigra* genotypes were planted under both SRC and SRF and replicated at two sites differing for pedoclimatic conditions. At the most favorable site for growth, trees grown at the higher density (SRC) displayed higher stem height, lower stem circumference, higher specific leaf area, higher mass-based leaf nitrogen contents and higher $\Delta^{13}C$, indicating that increased tree density mainly accentuated competition for light. Under less favorable conditions, trees grown under SRC still displayed lower stem circumference, higher specific leaf area and higher mass-based leaf nitrogen contents. However, stem height remained unaffected by increasing planting density while $\Delta^{13}C$ was lower, likely because of increased competition for water availability. Genotypic rankings across planting densities were overall conserved while they were significantly modified across sites, suggesting that rankings for genotypic performances were much less affected by planting density than by site. Realized growth measured after 2 years (height and circumference) was weakly correlated with $\Delta^{13}C$, but a negative relationship between $\Delta^{13}C$ and growing season leaf increment rate was observed in most cases. The absence of trade-off between growth and water-use efficiency combined with the large genotypic variations observed for these traits confirms the potential for selecting genotypes with high water-use efficiency without counter-selecting on biomass production in *P. deltoides* × *P. nigra*.

© 2013 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Renewable resources such as woody biomass have received renewed interest with regards to the increasing world energetic demand (Karp and Shield, 2008). Poplars (*Populus* spp.) are part of the species recommended for bioenergy plantations under temperate climate (Karp and Shield, 2008) mainly because of their high productivity and their good coppicing ability (Dillen et al., 2011a). However, although poplars are known to consume a large amount of water and to be very sensitive to water deficit (Liang et al., 2006), irrigation of large scale plantations is not conceivable. Optimizing the carbon/water trade-off is thus important for such plantations (King et al., 2013), and the identification of plant material combining satisfactory growth with higher water-use efficiency (WUE) may be one step to achieve this goal.

Water-use efficiency describes the rate of CO_2 uptake or plant dry matter production for a given rate of plant water loss; therefore, WUE can be defined at different biological and time scales. Whole-plant WUE (transpiration efficiency), *i.e.* the ratio of total biomass produced to total water used during the same period,

* Corresponding author. Address: Université d'Orléans, UFR-Faculté des Sciences, UPRES EA 1207 'Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures' (LBLGC), BP 6759, F-45067 Orléans, France. Tel.: +33 (0)2 38 49 48 02; fax: +33 (0)2 38 49 49 11.
E-mail addresses: julien.toillon@nancy.inra.fr (J. Toillon), regis.fichot@univ-orleans.fr (R. Fichot), erwin.dalle@nancy.inra.fr (E. Dallé), alain.berthelot@fcba.fr (A. Berthelot), franck.brignolas@univ-orleans.fr (F. Brignolas), nicolas.marron@nancy.inra.fr (Nicolas Marron).

0378-1127/$ - see front matter © 2013 Elsevier B.V. All rights reserved.
http://dx.doi.org/10.1016/j.foreco.2013.05.017

has been shown to vary among species and genotypes (Cernusak et al., 2011; Clifton-Brown and Lewandowski, 2000; Linderson et al., 2007; Raper et al., 1992). Water-use efficiency can also be assessed instantaneously through leaf gas exchange as the ratio between net CO_2 assimilation rate (A) and stomatal conductance to water vapor (g_s) (WUE_i, intrinsic water-use efficiency). In poplar, bulk leaf carbon isotope discrimination ($\Delta^{13}C$) has been shown to scale negatively with WUE_i at leaf level (Fichot et al., 2011; Monclus et al., 2006; Ripullone et al., 2004) and more recently with transpiration efficiency at the whole-plant level (Rasheed et al., 2013). Significant genetic variations in $\Delta^{13}C$ have been reported in poplar, both under controlled and field conditions (Bonhomme et al., 2008; Dillen et al., 2011b; Gornall and Guy, 2007; Marron et al., 2005; Monclus et al., 2009, 2012; Soolanayakanahally et al., 2009). In addition, WUE assessed through $\Delta^{13}C$ has been shown to be modulated by water availability (DesRochers et al., 2007; Larchevêque et al., 2011; Monclus et al., 2006; Xu et al., 2008), nutrient availability (DesRochers et al., 2006, 2007; Siegwolf et al., 2001), age and developmental stage (Leffler and Evans, 2001; Marron et al., 2005; Rasheed et al., 2011), or site (Bonhomme et al., 2008; Chamaillard et al., 2011; Dillen et al., 2011b).

Plantations for woody biomass production can be adapted depending on planting density and rotation length. Two coppice systems can be typically used for poplars (Eppler and Petersen, 2007): short-rotation forestry (SRF) which is based on planting densities ranging from 1000 to 2000 trees per hectare (ha) and rotation lengths varying between 6 and 8 years, and short-rotation coppice (SRC) which is based on denser planting densities (6000–15000 trees per ha) but shorter rotation lengths (typically between 2 and 4 years). To our knowledge, the effect of planting density on WUE remains so far undocumented in poplar. Only few studies have investigated how $\Delta^{13}C$ responds to planting density in other woody species, leading to conflicting results: no differences in $\Delta^{13}C$ values were evidenced between low and high planting densities in *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) (Woodruff et al., 2002), higher planting densities have been shown to be associated with lower $\Delta^{13}C$ in *Pinus halepensis* (Mill.) (Querejeta et al., 2008), and *Pinus ponderosa* (Lawson) (McDowell et al., 2003), but the opposite trend has also been observed in *Pinus radiata* (Don) and *Pinus nigra* (Arnold) trees (Martin-Benito et al., 2010; Walcroft et al., 1996; Warren et al., 2001). Comparatively, the effects of planting density on growth have already been documented. A decrease in stem circumference is a commonly observed response to increasing planting density in poplar (Benomar et al., 2012; DeBell et al., 1996). However, in fast growing hardwoods, tree height has been shown to increase, decrease, or remain unchanged with increasing planting density (Alcorn et al., 2007; Benomar et al., 2012; DeBell et al., 1996; Fang et al., 1999; Kerr, 2003; Pinkard and Neilsen, 2003).

The effect of planting density on tree physiology is fundamentally mediated by competition for resource acquisition, including light, water and nutrients (Benomar et al., 2012; Bullard et al., 2002a, 2002b; DeBell et al., 1996; Green et al., 2001). In this paper, we hypothesize that the effects of planting density on growth and WUE in poplar depend on site characteristics in terms of soil fertility and water availability. Specifically, we hypothesize that when soil conditions are favorable in terms of water and nutrients, increasing planting density would primarily accentuate plant competition for light; expected results on plant physiology would be on one hand, an increase of the ratio between shoot primary and secondary growth and on the other hand, a decrease in WUE as a consequence of a decrease in net assimilation rate due to light limitation (increase in $\Delta^{13}C$; Buchmann et al., 1997). Favorable environmental conditions are known to maximize the expression of genetic variations for growth (Monclus et al., 2006, 2009; Chamaillard et al., 2011); in these conditions, genotypes displaying maximum biomass production, increased canopy size, and consequently higher water demand may also exhibit better stomatal regulation in order to limit water losses, resulting into a higher intrinsic WUE and therefore a positive relationship between growth and WUE. In contrast, when soil conditions are limited for water and nutrients, we hypothesize that growth would be reduced and increasing planting density would primarily accentuate plant competition for soil resources. Expected result on plant physiology would be a more moderate increase in the ratio between shoot primary and secondary growth and an increase in WUE as a consequence of water limitation (decrease in $\Delta^{13}C$; Chamaillard et al., 2011; Fichot et al., 2010; Larchevêque et al., 2011; Monclus et al., 2006). Less favorable environmental conditions may limit the expression of genetic variations for growth (Monclus et al., 2006, 2009), and may therefore hamper the detection of a relationship between growth and WUE. In order to test these hypotheses, 56 *P. deltoides* × *P. nigra* genotypes were planted under SRF and SRC systems and replicated at two sites contrasted for soil fertility and soil water availability. Given that most of the studied genotypes were new and still under test, a corollary to this study was to characterize the extent of genotypic variations for the traits of interest.

2. Materials and methods

2.1. Site characterization and management

The two sites were located in northern France at Échigey (ECH, Côte d'Or, 47°10′N 5°11′E, 197 m above sea level) and at Saint-Cyr-en-Val (SCV, Loiret, 49°81′N 1°98′E, 100 m above sea level). Field tests were established in spring 2009 at ECH and 2010 at SCV using 25-cm-long woody-stem cuttings of 56 unrelated *Populus deltoides* × *P. nigra* genotypes: 39 were under test by the French 'Groupement d'Intérêt Scientifique peuplier (GIS peuplier)', nine were under test by the Italian 'Alasia Franco Vivai' company, and eight were available on the market. At each site, two tests were set up corresponding to two planting densities: a short-rotation forestry (SRF) system with single rows of 2 m between trees and 3.5 m between rows (*ca.* 1400 trees ha^{-1}), and a short-rotation coppice system (SRC) using a double-row planting scheme with alternating distances of 0.75 m and 2 m between the rows and 1 m between trees within the rows (*ca.* 7200 trees ha^{-1}). Each test consisted in 10 complete randomized blocks and each block was composed of one tree per genotype (56 trees per block × 10 blocks × 2 planting densities × 2 sites). Neither fertilization nor irrigation was applied. Only herbicide was used right after planting in order to control weed vegetation (3.5 L ha^{-1} GARDENET Paysage, Dow AgroScience SAS, Mougin, France). Trees were not cut down after the first year of growth. Meteorological data at each site were obtained from the closest meteorological station (Météo France). During the second year of growth (*i.e.* the year of measurements), the mean summer temperature (May–August) was the same at both sites (17.4 °C) while summer precipitation was 382 mm at ECH and only 189 mm at SCV.

Prior to planting, soil composition of the upper layers was analyzed at each site and for each planting density by collecting five samples at 0–20 and five samples at 20–40 cm depths using core sampling over the entire field test area (5 samples × 2 depths × 2 planting densities × 2 sites). Soil analyses were performed by the service unit 10 Soil Analysis Laboratory of Arras (US 10, LAS Arras, INRA Lille, France). For each sample, soil texture (% Sand/% Silt/% Clay), composition [organic matter content (OM, g kg^{-1}), total carbon content (C, g kg^{-1}), and nitrogen content (N, g kg^{-1})], and pH were determined. Results indicated that the soil at ECH was a silty-clay type (5.8% Sand/42.5% Silt/51.7% Clay) and the soil at

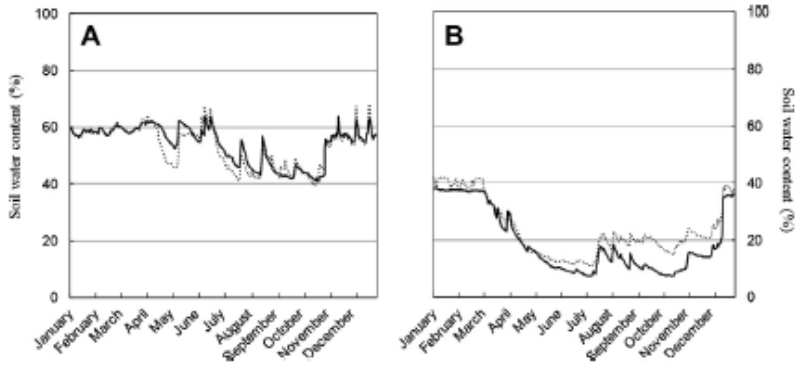


Fig. 1. Annual time course of soil water content (%) for the short-rotation forestry (dashed line) and the short-rotation coppice (closed line) systems at Échigey (A) in 2010 and at Saint-Cyr-en-Val (B) in 2011.

SCV was a sandy-loam type (65.2% Sand/25.3% Silt/9.5% Clay). The soil of ECH had higher amounts of OM than SCV (62.1 *vs.* 15 g kg^{-1}), C (35.9 *vs.* 8.6 g kg^{-1}), N (3.2 *vs.* 0.7 g kg^{-1}), and higher pH (7.5 *vs.* 5.5).

Soil volumetric water content (%) at 20 cm was measured continuously at each site and for each planting density using time domain reflectometers (model CS616, TDR TYPE, Campbell Scientific, Logan, UT, USA). Data were collected automatically every 15 min, stored on a data-logger (model CR1000, Campbell Scientific, Logan, UT, USA) and averaged over 24 h. Overall, soil water content during the year of measurement was always higher at ECH than at SCV (Fig. 1).

2.2. Measurements

At each site and for each planting density, measurements were realized during the second growing season of the first rotation (2010 at ECH and 2011 at SCV) on five randomly selected trees per genotype. Most trees were single stem; in the case where more than one stem had developed from the cutting after planting, measurements were limited to the dominant axis.

2.2.1. Phenology

Phenology was characterized for each genotype by the dates of bud burst and bud set. From early March onward, the top of the stem was monitored weekly and the date of bud burst was recorded when the apical bud was completely opened with leaves still clustered together (Bud burst, Day of Year – DOY) (Castellani et al., 1967). At the end of the growing season, the date of bud set was recorded when the apical bud was closed and red–brown (Bud set, DOY) (Rohde et al., 2010). Growing season length (GSL, days) was then calculated as the difference between the dates (DOY) of bud set and bud burst.

2.2.2. Leaf traits

At the end of July, the first fully illuminated leaf with the maximal leaf area (foliar rank 15–19 from the first top leaf exceeding 20 mm in length) was collected on each tree (Monclus et al., 2005); leaves were approximately 1.5 and 2 month-old at Échigey and Saint-Cyr-en-Val, respectively. Individual leaf area (LA, cm^2) was immediately determined using a leaf area meter (Li-Cor, Li-3000A, Lincoln, Nebraska, USA). The leaves were then oven-dried at 60 °C for at least 48 h, weighed, and specific leaf area (SLA, $cm^2\ g^{-1}$) was calculated as the ratio between LA and the leaf dry mass. Total carbon and nitrogen contents (C_M and N_M, mg g^{-1}) and carbon isotopic composition ($\delta^{13}C$, ‰) were assessed from 1 mg of homogeneous leaf dry powder using an elemental analyzer (NCS2500, EA/NA 1110, CE instrument Thermo Quest, Italy) coupled with an isotope ratio mass spectrometer (Delta S, Finnigan MAT, Bremen, Germany). Carbon isotopic composition ($\delta^{13}C$) was calculated relative to the Vienna Pee Dee Belemnite standard as:

$$\delta^{13}C = ((R_{sample} - R_{standard})/R_{standard}) \times 1000 \ (‰)$$

where R_{sample} and $R_{standard}$ are the $^{13}CO_2/^{12}CO_2$ ratios of the sample and the standard, respectively (Farquhar et al., 1989). The accuracy of $\delta^{13}C$ measurements during the time samples were passed on the IRMS was ±0.14‰ (standard error, SE). Carbon isotope discrimination ($\Delta^{13}C$) between source air and bulk leaf organic material was then calculated according to Farquhar and Richards (1984), as:

$$\Delta^{13}C = (\delta_{air} - \delta_{plant})/(1 + (\delta_{plant}/1000)) \ (‰)$$

where δ_{air} is the isotopic composition of the air (assumed to equal –8‰) and δ_{plant} is here the isotopic composition of leaf organic matter. An increase of $\Delta^{13}C$ values is associated with a decrease of intrinsic water-use efficiency as evidenced by Farquhar and Richards (1984). The relationship has been observed for many plants species, including poplar (Fichot et al., 2011; Monclus et al., 2006; Ripullone et al., 2004).

2.2.3. Tree architecture, growth dynamic and biomass calculations

Before bud burst, the number of sylleptic branches was counted and expressed per unit stem height (Syl, m^{-1}). Stem height (Height, cm) and number of leaves were measured every 2 weeks during the growing season in order to calculate a leaf increment rate (dnl/dt, number of leaves per day). Stem circumference at 20 cm aboveground (Circ, mm) was measured at the beginning and at the end of the growing season.

All trees cultivated under the SRC system were cut back at 5 cm for biomass quantification at the end of the growing season (January 2011 at ECH, January 2012 at SCV); because of longer rotation lengths, tree biomass was not estimated under the SRF system. For the SRC system, stem fresh mass was measured separately from the branches and from the rest of the shoot. Stem samples of 20-cm-long were collected on each tree at 1 m aboveground. All samples were then weighted before and after being oven-dried at 55 °C during 2 weeks for the determination of the dry/fresh mass ratios. This ratio was then used to compute individual tree aboveground dry biomass (TDB, g) as:

TDB = dry/fresh mass ratio × total individual fresh mass

2.3. Statistical analyses

Statistical analyses were performed with the R software (R Development Core Team, 2010). Data were found to meet the

assumptions of homoscedasticity and the normality distribution of residuals. All statistical tests were considered significant at $P \leqslant 0.05$. Means are expressed with their standard error. For each density at each site, the following ANOVA model was adjusted to individual data:

$$Y_{ij} = \mu + B_i + G_j + \varepsilon_{ij}$$

where Y_{ij} refers to the tested variables, μ refers to the grand mean of the tested variables, the effect of the block i (B_i) was considered as fixed, the effect of the genotype j (G_j) as random, and 'ε_{ij}' refers to the residual value of the model. For each trait, genetic and residual variance components (σ^2_G and σ^2_ε, respectively) were calculated by equating observed mean squares to expected mean squares and solving the resulting equations according to the Henderson III procedure (Henderson, 1953). The coefficient of genetic variation (CV_G) was calculated as $CV_G = (\sigma_G \times 100)/\mu$. Broad-sense heritability (H^2) was computed on an individual basis as $H^2 = \sigma^2_G/(\sigma^2_G + \sigma^2_\varepsilon)$ and standard errors associated with values of H^2 were calculated as described by Singh et al. (1993).

The following three-way ANOVA model was then used in order to analyze the influence of genotype, planting density, site/year, and their interactions on the production and water-use characteristics described above:

$$Y_{jkl} = \mu + G_j + D_k + SY_l + G_j \times D_k + G_j \times SY_l + D_k \times SY_l + G_j \times D_k \times SY_l + \varepsilon_{jkl}$$

where Y'_{jkl} refers to the tested variables adjusted to block effects ($Y' = Y - B_i$), D_k refers to the effect of the factor 'planting density', SY_l refers to the effect of the factor 'site/year' (including the pedoclimatic and year effects) considered as fixed, and 'ε_{jkl}' refers to the model residual. Relationships among traits were explored using linear correlations (Pearson's correlation coefficient, r_p) on genotypic means. The stability of genotypic ranking between sites or between planting densities was assessed by computing Spearman's rank correlation coefficient (r_s) on genotypic means.

3. Results

Most traits were significantly influenced by planting density (Tables 1 and 2). Trees grown under SRF had greater circumference and lower SLA than trees grown under SRC (Tables 1 and 2). However, the effect of planting density was modulated by site in most cases (Table 1). For instance, values of $\Delta^{13}C$ and Height were lower under SRF than SRC at Échigey (the wetter site) while the opposite trend was observed at Saint-Cyr-en-Val (the drier site) (Table 2, Fig. 1). At Échigey, height growth differences between SRC and SRF were progressively amplified along the growing season, trees growing taller in the SRC (Fig. 2). In contrast, growth differences between SRC and SRF were remarkably buffered at Saint-Cyr-en-Val for the period from early June to the end of July (Fig. 2), which corresponded to a period with very low water availability (Fig. 1). Overall, the range of genotypic variation for growth-related traits was larger at Échigey than Saint-Cyr-en-Val, while the opposite pattern was observed for $\Delta^{13}C$ (Table 2). Genotype × Site/Year interactions were significant for all traits (Table 1). Genotype × Density interactions were significant for all traits except for C_M (Table 1). Genotype rankings between SRF and SRC were overall conserved at each site (Table 1), while genotype rankings between sites were mainly conserved for phenology- and architecture-related traits only (Table 1). Density × Site/Year interactions were significant for all traits, except for N_M, while Genotype × Density × Site/Year interactions were also significant in most cases, except for Height, dnl/dt, and C_M (Table 1).

Irrespective of planting density and site, significant variation among genotypes was observed for all traits (Tables 1 and 2). The range of variation for $\Delta^{13}C$ was always larger than 3‰ (Table 2). The highest CV_G values were recorded for Syl (42.5–115.8%) (Table 3). Highly variable values of heritability (H^2) were

Table 1
Results of the three-way ANOVA and Spearman's rank coefficients (r_s) based on 56 genotypic means and calculated across planting densities at both sites (SRF *vs*. SRC), and across sites for each planting density (ECH *vs*. SCV). G = effect of Genotype; D = effect of planting Density, SY = effect of Site and Year; and their interactions (G × D, G × SY, D × SY, and G × D × SY).

	ANOVA							Spearman's rank coefficients			
	G	D	SY	G × D	G × SY	D × SY	G × D × SY	SRF *vs*. SRC		ECH *vs*. SCV	
								ECH	SCV	SRF	SRC
Growth											
TDB (g)	–***	na	–***	na	–***	na	na	na	na	na	0.22ns
Height (cm)	–***	–***	–***	–***	–***	–***	ns	0.07ns	0.57***	−0.04ns	0.19ns
Circ (mm)	–***	–***	–***	–***	–***	–***	–***	0.38**	0.52***	0.40**	0.26ns
dnl/dt (day^{-1})	–***	ns	–***	–***	–***	–***	ns	0.42**	0.21ns	0.34*	0.20ns
Architecture											
Syl (m^{-1})	–***	ns	–***	–***	–***	–***	–***	0.71***	0.86***	0.69***	0.73***
Phenology											
Bud burst (DOY)	–***	–***	–***	–***	–***	–***	–***	0.91***	0.91***	0.84***	0.82***
Bud set (DOY)	–***	ns	–*	–***	–***	–*	–***	0.62***	0.63***	0.47***	0.43***
GSL (days)	–***	–***	–***	–***	–***	–***	–***	0.57***	0.68***	0.49***	0.54***
Leaf											
LA (cm^2)	–***	–***	–***	–***	–***	–***	–***	0.62***	0.55***	0.27*	0.30*
SLA (cm^2 g^{-1})	–***	–***	–***	–*	–***	–***	–***	0.68***	0.70***	0.37**	0.14ns
N_M (mg g^{-1})	–***	–***	–***	–***	–***	ns	–***	0.60***	0.19ns	0.03ns	0.00ns
C_M (mg g^{-1})	–***	ns	–***	ns	–***	–***	ns	0.63***	0.22ns	0.24ns	0.08ns
$\Delta^{13}C$ (‰)	–***	–***	–***	–***	–***	–***	–***	0.53***	0.58***	0.42**	0.11ns

Abbreviations: SRF, short-rotation forestry; SRC, short-rotation coppice; ECH, Échigey; SCV, Saint-Cyr-en-Val; TDB, tree aboveground dry biomass; Circ, circumference; dnl/dt, leaf increment rate; Syl, number of sylleptic branches per unit of stem height; DOY, day of year; GSL, growing season length; LA, leaf area; SLA, specific leaf area; N_M, mass based leaf nitrogen content; C_M, mass based leaf carbon content; $\Delta^{13}C$, bulk leaf carbon isotope discrimination; na, not applicable.

* $P \leqslant 0.05$.
** $P \leqslant 0.01$.
*** $P \leqslant 0.001$.
ns Non-significant.

Table 2
General mean ± standard error (SE) and genotypic range of variation calculated for all traits at each planting density (SRC vs. SRF) and at each site (ECH vs. SCV).

	Site	Planting density	Mean ± SE	Range of variation
Growth				
TDB (g)	ECH	SRF	na	na
		SRC	1623.6 ± 107.6	458.4–3953.6
	SCV	SRF	na	na
		SRC	470.6 ± 19.6	154.5–921.8
Height (cm)	ECH	SRF	427.4 ± 3.3	381.5–478.5
		SRC	490.3 ± 5.8	362.5–581.5
	SCV	SRF	298.0 ± 3.4	239.6–354.2
		SRC	279.4 ± 6.6	165.2–371.0
Circ (mm)	ECH	SRF	158.5 ± 3.5	93.4–215.2
		SRC	146.2 ± 3.3	78.3–202.7
	SCV	SRF	107.7 ± 2.9	62.5–151.9
		SRC	82.0 ± 2.3	44.6–126.9
dnl/dt (day^{-1})	ECH	SRF	0.35 ± 0.01	0.25–0.50
		SRC	0.38 ± 0.01	0.26–0.52
	SCV	SRF	0.29 ± 0.01	0.18–0.40
		SRC	0.26 ± 0.01	0.14–0.37
Architecture				
Syl (m^{-1})	ECH	SRF	6.9 ± 0.4	1.0–15.1
		SRC	6.2 ± 0.4	1.5–13.6
	SCV	SRF	5.2 ± 0.8	0.0–29.8
		SRC	6.1 ± 0.9	0.0–45.2
Phenology				
Bud burst (DOY)	ECH	SRF	100.0 ± 0.8	88.8–109.9
		SRC	100.1 ± 0.8	88.8–110.2
	SCV	SRF	82.8 ± 1.3	65.8–106.8
		SRC	89.5 ± 0.9	75.0–100.4
Bud set (DOY)	ECH	SRF	267.6 ± 0.9	247.8–282.8
		SRC	266.9 ± 0.7	253.4–282.8
	SCV	SRF	266.0 ± 0.6	254.2–282.2
		SRC	266.9 ± 1.1	248.2–291.8
GSL (days)	ECH	SRF	167.7 ± 1.2	145.4–182.6
		SRC	166.9 ± 0.9	154.0–182.7
	SCV	SRF	183.6 ± 0.7	166.6–198.2
		SRC	176.8 ± 1.8	102.2–203.9
Leaf				
LA (cm^2)	ECH	SRF	136.7 ± 5.1	73.4–224.9
		SRC	159.6 ± 5.1	80.8–318.0
	SCV	SRF	50.6 ± 3.5	14.0–115.5
		SRC	38.5 ± 2.7	7.6–101.9
SLA ($cm^2\ g^{-1}$)	ECH	SRF	102.0 ± 0.8	88.0–114.4
		SRC	109.3 ± 0.9	88.3–123.0
	SCV	SRF	81.4 ± 1.5	56.0–107.3
		SRC	92.7 ± 1.2	78.8–122.4
N_M ($mg\ g^{-1}$)	ECH	SRF	23.5 ± 0.5	16.2–31.0
		SRC	25.3 ± 0.5	17.8–32.1
	SCV	SRF	22.1 ± 0.6	14.1–36.0
		SRC	23.5 ± 0.8	10.8–38.1
C_M ($mg\ g^{-1}$)	ECH	SRF	466.5 ± 1.2	444.5–484.1
		SRC	459.9 ± 1.0	440.9–477.7
	SCV	SRF	451.6 ± 0.9	435.8–465.0
		SRC	458.5 ± 1.0	437.4–473.9
$\Delta^{13}C$ (‰)	ECH	SRF	19.8 ± 0.1	18.3–21.7
		SRC	20.2 ± 0.1	18.9–21.9
	SCV	SRF	17.5 ± 0.1	15.7–19.1
		SRC	16.6 ± 0.2	13.3–21.0

Abbreviations: SRF, short-rotation forestry; SRC, short-rotation coppice; ECH, Échigey; SCV, Saint-Cyr-en-Val; TDB, tree aboveground dry biomass; Circ, circumference; dnl/dt, leaf increment rate; Syl, number of sylleptic branches per unit of stem height; DOY, day of year; GSL, growing season length; LA, leaf area; SLA, specific leaf area; N_M, mass based leaf nitrogen content; C_M, mass based leaf carbon content; $\Delta^{13}C$, bulk leaf carbon isotope discrimination; na, not applicable.

found among traits; the highest one was observed for bud burst (0.94 for the SRF of Saint-Cyr-en-Val), and the lowest one for C_M (0.06 for the SRF of SCV) (Table 3). Values of H^2 for $\Delta^{13}C$ lied between 0.20 and 0.71 (Table 3). Irrespective of environmental conditions, $\Delta^{13}C$ did mostly not correlate significantly with tree

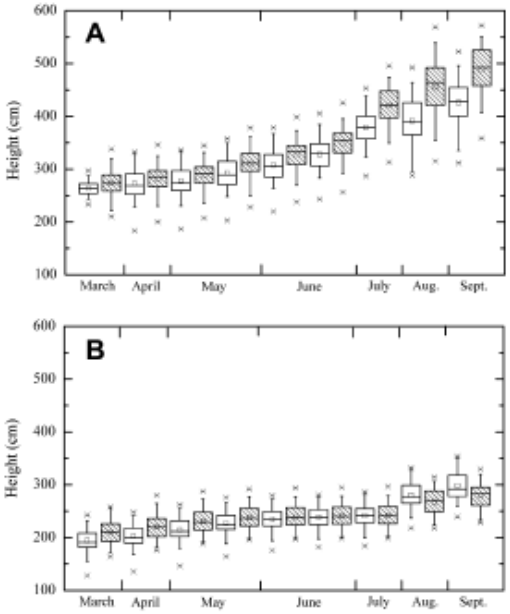


Fig. 2. Box plots of time course for stem height at Échigey (A) and Saint-Cyr-en-Val (B) recorded for 56 genotypes grown under short-rotation forestry (open box) or short-rotation coppice (dashed box). Each box represents the quartile below (Q1) and above (Q3) the median value. Squares in the box represent the mean of all genotypes. Vertical bars represent minimum and maximum values except for genotypes away from 1.5 times from the top of the interquartile range (Q3–Q1) represented by a cross.

dimensions (Table 4, Fig. 3), except with Circ at Échigey under SRF ($r_p = -0.36^{**}$); however, dnl/dt scaled negatively with $\Delta^{13}C$ in all cases except under SRC at Saint-Cyr-en-Val (Table 4). Under SRC, where tree biomass data were available, TDB was positively and significantly correlated with Height ($r_p = 0.43^{***}$ and 0.33^{*} at Échigey and Saint-Cyr-en-Val, respectively) and Circ ($r_p = 0.83^{***}$ and 0.81^{***} at Échigey and Saint-Cyr-en-Val, respectively). $\Delta^{13}C$ did not correlate significantly with TDB. Irrespective of site and density, Circ was positively correlated with LA ($r_p = 0.29^{*}$ and 0.42^{***} under SRC and $r_p = 0.34^{**}$ and 0.38^{**} under SRF at Échigey and Saint-Cyr-en-Val, respectively). Under SRC at Saint-Cyr-en-Val only, LA was positively correlated with $\Delta^{13}C$ ($r_p = 0.30^{*}$). Values of $\Delta^{13}C$ were consistently and negatively related to N_M values under both SRF ($r_p = -0.42^{***}$ at Échigey and -0.36^{**} at Saint-Cyr-en-Val) and SRC ($r_p = -0.46^{**}$ at Échigey and -0.43^{***} at Saint-Cyr-en-Val). Height was positively correlated with Bud set at Échigey under SRC ($r_p = 0.43^{***}$) and at Saint-Cyr-en-Val under SRF and SRC ($r_p = 0.30^{*}$ and 0.38^{**}, respectively).

4. Discussion

Based on the conflicting trends observed in the literature, we hypothesized in this paper that the effects of planting density on tree growth and WUE may be modulated by site characteristics. This hypothesis was tested in 56 *Populus deltoides* × *P. nigra* genotypes grown under SRF and SRC systems and replicated at two sites differing primarily in soil fertility and water availability.

Planting density was found to affect growth-related traits. The effect of planting density on tree physiology is fundamentally mediated by competition for resource acquisition, including light, water and nutrients (Benomar et al., 2012; Bullard et al., 2002a, 2002b; DeBell et al., 1996; Green et al., 2001). Generally, primary growth is promoted at the expense of secondary growth at higher

Table 3
Broad-sense heritability ± standard error (H^2 ± SE) and coefficient of genetic variation (CV_G, %) calculated for all traits at each planting density (SRF *vs*. SRC) and at each site (ECH *vs*. SCV).

Traits	H^2 ± SE				CV_G (%)			
	ECH		SCV		ECH		SCV	
	SRF	SRC	SRF	SRC	SRF	SRC	SRF	SRC
Growth								
TDB (g)	na	0.52 ± 0.05	na	0.24 ± 0.05	na	46.1	na	24.5
Height (cm)	ns	0.13 ± 0.05	0.11 ± 0.05	0.63 ± 0.05	ns	5.9	5.3	16.8
Circ (mm)	0.40 ± 0.05	0.25 ± 0.05	0.44 ± 0.05	0.52 ± 0.05	14.5	13.3	18.2	19.6
dnl/dt (day^{-1})	0.40 ± 0.05	0.40 ± 0.05	0.16 ± 0.05	ns	12.7	12.5	11.4	ns
Architecture								
Syl (m^{-1})	0.58 ± 0.05	0.56 ± 0.05	0.84 ± 0.05	0.87 ± 0.03	42.5	43.3	108.9	115.8
Phenology								
Bud burst (DOY)	0.84 ± 0.04	0.83 ± 0.04	0.94 ± 0.02	0.91 ± 0.03	5.9	5.7	12.1	7.7
Bud set (DOY)	0.53 ± 0.05	0.43 ± 0.04	0.33 ± 0.05	0.72 ± 0.04	2.5	1.9	1.3	3.0
GSL (days)	0.60 ± 0.05	0.48 ± 0.05	0.45 ± 0.05	0.36 ± 0.06	5.0	3.7	2.7	6.7
Leaf								
LA (cm^2)	0.46 ± 0.05	0.31 ± 0.05	0.79 ± 0.04	0.52 ± 0.05	24.9	19.9	51.0	49.5
SLA ($cm^2\ g^{-1}$)	0.42 ± 0.05	0.18 ± 0.05	0.70 ± 0.05	0.22 ± 0.06	5.5	4.5	13.5	6.8
N_M ($mg\ g^{-1}$)	0.46 ± 0.05	0.29 ± 0.05	0.44 ± 0.05	0.50 ± 0.06	13.5	11.2	17.6	22.1
C_M ($mg\ g^{-1}$)	0.28 ± 0.05	0.33 ± 0.05	ns	ns	1.5	1.4	ns	ns
$\Delta^{13}C$ (‰)	0.50 ± 0.05	0.35 ± 0.05	0.20 ± 0.05	0.71 ± 0.05	3.5	3.1	3.0	10.8

Abbreviations: SRF, short-rotation forestry; SRC, short-rotation coppice; ECH, Échigey; SCV, Saint-Cyr-en-Val; TDB, tree aboveground dry biomass; Circ, circumference; dnl/dt, leaf increment rate; Syl, number of sylleptic branches per unit of stem height; DOY, day of year; GSL, growing season length; LA, leaf area; SLA, specific leaf area; N_M, mass based leaf nitrogen content; C_M, mass based leaf carbon content; $\Delta^{13}C$, bulk leaf carbon isotope discrimination; na, not applicable; ns, non-significant.

Table 4
Pearson's correlation coefficients among traits under SRF and SRC at ECH (italic) and SCV (bold) calculated from genotypic means (n = 56).

		Échigey											
		TDB	Height	Circ	dnl/dt	Syl	Bud burst	Bud set	GSL	LA	SLA	C_M	N_M	$\Delta^{13}C$
Saint-Cyr-en-Val														
TDB	SRC		*0.43***	*0.83***									*0.28**	
Height	SRF	**na**								*0.26**				
	SRC	**0.33***		*0.59****	*0.42****			*0.43****		*0.27**				
Circ	SRF	**na**	**0.50****		*0.46****			*0.34***	*0.43****	*0.34***			*0.46****	*−0.36***
	SRC	**0.81****	**0.58****		*0.31**					*0.29**			*0.29**	
dnl/dt	SRF	**na**				*0.39***					*0.27**		*0.63****	*−0.43****
	SRC					*0.39***							*0.53****	*−0.45****
Syl	SRF	**na**	**−0.32***		**0.48****			*0.29**	*0.27**					
	SRC	**0.27***						*0.31**	*0.41***		*0.26**	*0.32**	*0.41****	
Bud burst	SRF	**na**							*−0.44***				*−0.27**	
	SRC		**0.35****		**0.42****				*−0.56****				*−0.30**	
Bud set	SRF	**na**	**0.30***				**0.27***		*0.72****					
	SRC		**0.38****						*0.61****					
GSL	SRF	**na**					**−0.70****	**0.50****					*0.27**	
	SRC				**−0.28***		**−0.51****	**0.44****						
LA	SRF	**na**	**0.41****	**0.38****										
	SRC	**0.35****		**0.42****	**−0.36****									
SLA	SRF	**na**		**−0.28***				**−0.28***					*0.33**	
	SRC											*0.26**		
C_M	SRF	**na**												
	SRC				**0.27***									
N_M	SRF	**na**												*−0.42****
	SRC										**0.35****			*−0.46****
$\Delta^{13}C$	SRF	**na**			**−0.30***							**−0.29***	**−0.36****	
	SRC									**0.30***			*−0.43****	

Abbreviations: SRF, short-rotation forestry; SRC, short-rotation coppice; ECH, Échigey; SCV, Saint-Cyr-en-Val; TDB, tree aboveground dry biomass; Circ, circumference; dnl/dt, leaf increment rate; Syl, number of sylleptic branches per unit of stem height; DOY, day of year; GSL, growing season length; LA, leaf area; SLA, specific leaf area; N_M, mass based leaf nitrogen content; C_M, mass based leaf carbon content; $\Delta^{13}C$, bulk leaf carbon isotope discrimination; na, not applicable.
* $P \leq 0.05$.
** $P \leq 0.01$.
*** $P \leq 0.001$.

planting densities as a result of increased competition for light (Benomar et al., 2012; Brodie and DeBell, 2004). Our results demonstrate however that this general pattern can be modulated depending on site characteristics. Indeed, secondary growth was reduced under SRC irrespective of sites/years, while primary growth was promoted under SRC at the most favorable site only (Échigey). This suggests that primary and secondary growth can be in fact partially uncoupled when water availability is limiting. This makes sense especially for poplar considering that secondary growth is impacted before primary growth under soil water deficit

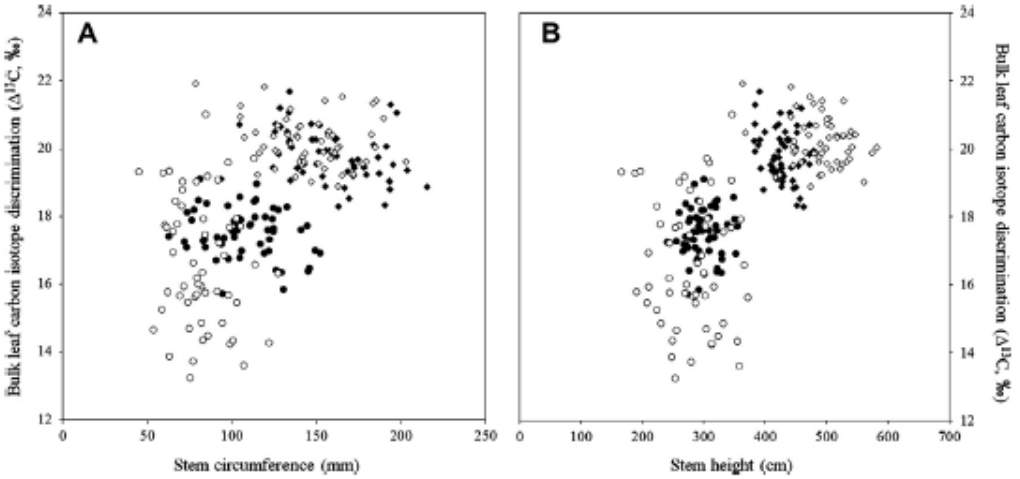


Fig. 3. Relationships between bulk leaf carbon isotope discrimination and stem circumference (A) or stem height (B), under short-rotation forestry (closed symbols) and short-rotation coppice (opened symbols) systems at Échigey (diamonds) and at Saint-Cyr-en-Val (circles). Dots represent means of all replicates ($n = 5$) of individual genotypes. See Table 4 for Pearson's correlation coefficients among traits.

(Bogeat-Triboulot et al., 2007). The effect of planting density on branchiness was also site/year-dependent. Under SRC, sylleptic density was reduced at the most favorable site (Échigey) probably as a result of faster canopy closure and stronger competition for light. The opposite trend was observed under less favorable environmental conditions. Finally, increasing planting density resulted in higher SLA and higher N_M irrespective of sites/years. Higher SLA values at higher densities have also been reported and are generally attributed to irradiance-induced acclimation (Benomar et al., 2011; Larocque, 1999). Actually, plastic changes in SLA in response to various environmental conditions are well known and play a key role in shaping plant performance through the optimization of light interception, carbon and nitrogen investment per unit leaf area and photosynthetic capacity (Niinemets and Sack, 2006; Poorter, 1999).

Values of $\Delta^{13}C$ also differed significantly between SRC and SRF, suggesting that tree WUE can be significantly influenced by planting density in bioenergy-devoted systems. To our knowledge, the effect of planting density on WUE has not been directly addressed in poplar so far. However, Benomar et al. (2011) already found for two poplar genotypes that light-saturated photosynthesis rates of trees grown at the closest spacing (10,000 trees per ha) were lower than those of trees grown at larger spacing (400–1100 trees per ha), while no significant effect was observed for stomatal conductance suggesting that intrinsic water-use efficiency was actually lower at higher planting density. Data on other species remain limited and variable considering the large differences that can be found in tree age, planting densities, system designs, and the way WUE is assessed. For instance, a study on *Eucalyptus grandis* revealed that 1.5 year-old trees planted at a density of 2150 ha^{-1} exhibited higher transpiration efficiency than those planted at 304 or 82 ha^{-1} (Eastham et al., 1990). Higher WUE estimates associated with higher tree density have been similarly reported for 1 year-old seedlings of *Betula albosinensis* (Zhang et al., 2008), 5 year-old trees of *Pinus halepensis* (Querejeta et al., 2008), and 250 year-old trees of *Pinus ponderosa* (McDowell et al., 2003). Opposite trends have however been reported for 6 year-old trees of *Pinus radiata* (Walcroft et al., 1996), 1–4 year-old trees of *Pinus pinaster* (Warren et al., 2001), and 31 year-old *Pinus nigra* trees (Martin-Benito et al., 2010). Interestingly, the direction of $\Delta^{13}C$ variations in response to planting density observed in our study were opposite for the two sites/years, suggesting that the effect of planting density on WUE can be environment-dependent. We acknowledge that site and year effects are confounded in this study as the experiments at each site were conducted on two different years (2010 and 2011); however, measurements were performed on trees of the same age (2 years of growth), and site effects therefore integrate primarily pedoclimatic differences. One possible explanation for the pattern observed for $\Delta^{13}C$ may lie in the marked differences in water availability between the two sites. Because of the high drought sensitivity of poplar stomata, decreased water availability generally leads to decreased $\Delta^{13}C$ (Chamaillard et al., 2011; Monclus et al., 2006, 2009). Considering the month preceding leaf sampling for $\Delta^{13}C$ (July), soil water content did not drop lower than 40% at Échigey, while it fluctuated around 10% at Saint-Cyr-en-Val, which is in accordance with the lower $\Delta^{13}C$ values observed at Saint-Cyr-en-Val. Noteworthy, during this period, soil water content was slightly different between SRC and SRF systems; however, while soil water content was higher under SRC than SRF at Échigey, the opposite trend was observed at Saint-Cyr-en-Val, which is also in line with the within-site $\Delta^{13}C$ variations observed. Therefore, at the most productive site (Échigey), a higher planting density may have resulted in a faster canopy closure thereby reducing direct soil evaporation and possibly explaining the slightly higher soil water content. In contrast, at the site where soil water availability was limiting (Saint-Cyr-en-Val), a higher planting density may have exacerbated competition and promoted faster water depletion.

Previous findings on *P. deltoides* × *P. nigra* hybrids using a different set of genotypes have shown that WUE and growth are to a large extent physiologically uncoupled, regardless of environmental conditions and plantation management (Bonhomme et al., 2008; Fichot et al., 2010; Monclus et al., 2005, 2006; Voltas et al., 2006). In this study, $\Delta^{13}C$ was also found to be weakly correlated with growth determinants, as the only significant link observed was under SRF at the most favorable site (Échigey) with stem circumference. However, the lack of relationship between $\Delta^{13}C$ and growth should be interpreted carefully and not necessarily taken as an evidence for the absence of any ecophysiological relationship between the two traits; as estimated, growth and $\Delta^{13}C$ integrate different time scales (2 years for growth and several weeks for $\Delta^{13}C$) and therefore are potentially exposed to dissimilar variation. Interestingly, leaf number increment rate, which reflects primary growth during the linear phase of the growing season, was found

to be negatively correlated in all cases except under SRC at Saint-Cyr-en-Val (the most stringent condition for growth). One possible explanation for the negative relationship between $\Delta^{13}C$ and growth may lie in the fact that increased growth is related to increased canopy size and may therefore be associated with higher water demand; in this case, a better stomatal regulation may be required in order to control water losses, resulting into a higher intrinsic WUE and a positive relationship between WUE and growth. Of course, such a relationship might be detected only when pedoclimatic conditions permit the expression of significant differences between genotypes for growth. In addition, the negative relationships observed between (i) $\Delta^{13}C$ and growth and (ii) $\Delta^{13}C$ and N_M suggests that variations in photosynthetic capacities may play a role in driving variations in both growth and WUE (Monclus et al., 2006, 2009).

The assessment of Genotype × Environment interactions is of particular importance in commercialized species such as poplars where selected cultivars are devoted to plantation. A profound change in genotype ranking for physiological performance between two environments may indeed reduce the relevance of large-scale genotype deployment. In this study, significant Genotype × Site/Year (G × SY) interactions were apparent for most traits studied at the two planting densities. This, combined with the fact that Spearman's rank coefficients between genotypic means were overall rather low and sometimes not significant (except for phenology and branchiness), suggests that genotypes differed in phenotypic plasticity such that genotype ranking could be significantly modified for growth performance and WUE. Significant G × SY interactions for growth-related traits have already been widely reported in poplar including *P. deltoides* × *P. nigra*, but without necessarily resulting in important changes in genotype rankings (Chamaillard et al., 2011; Dillen et al., 2007; Marron et al., 2006, 2007, 2010). Data on the site-specific expression of WUE-related traits are more limited and contrasted. In a comparison of 31 *P. deltoides* × *P. nigra* and 31 *P. deltoides* × *P. trichocarpa* genotypes across France and Italy, Dillen et al. (2011b) reported strong variations for $\Delta^{13}C$ genotype ranking between sites. In contrast, results obtained on 90 *P. nigra* genotypes from three natural populations indicated that ranking for $\Delta^{13}C$ was overall well conserved across sites (Chamaillard et al., 2011). As suggested by Dillen et al. (2011b), such contrasting results may be explained by differences in (i) plant material, genetic background and relationships between genotypes (relatedness), (ii) the number of genotypes considered, and (iii) the nature of environmental variables driving site differences.

As the same 56 genotypes were planted at two planting densities, Genotype × Density (G × D) interactions could also be assessed. To our knowledge, our study is the first to deal with this aspect using a large set of genotypes. G × D interactions were significant in fewer cases than G × SY interactions. Most importantly, Spearman's ranks were overall positive, relatively high and significant in most cases, indicating that rankings for genotypic performances were much less affected by planting density than by site. This finding is of particular interest since identifying plant material which behaves equally well under different modes of culture may facilitate genotype choice and deployment.

Given that 48 out of the 56 studied genotypes were new and still under test, a corollary to this study was to characterize the extent of genotypic variations for the traits of interest. Substantial genetic variations were observed for biomass production, $\Delta^{13}C$ and related traits. Values of individual tree biomass under SRC after 2 years of growth were in the range of those previously reported for *P. deltoides* × *P. nigra* hybrids (Bergante et al., 2010; Dillen et al., 2007; Laureysens et al., 2003). Bud phenology was also highly variable among genotypes, with both bud burst and bud set periods covering almost 45 days; such variations have already been reported (Cooke and Weih, 2005; Howe et al., 2000; Marron et al., 2010). Bud burst and bud set bound the growing season length and have been shown to be under strong genetic control in *P. deltoides* × *P. nigra* and more generally in poplar (Marron et al., 2006, 2010; Rohde et al., 2010). The high broad-sense heritability values observed in our study across sites and planting densities confirm this pattern, especially for bud burst. Interestingly, genotypes exhibiting early bud burst were not necessarily those exhibiting early bud set, therefore resulting in large variations in the growing season length. In addition, genotypes exhibiting a longer growing season were not necessarily the most productive. The genotypic range for $\Delta^{13}C$ was consistently great across sites and planting densities (always greater than 3‰), suggesting great variations for WUE among the tested material. A range of 7.7‰ (13.3–21.0‰) was even observed under SRC at Saint-Cyr-en-Val, which is considerably higher than others previously reported in *P. deltoides* × *P. nigra* grown in a glasshouse (Marron et al., 2005), in common gardens (Fichot et al., 2011; Monclus et al., 2005), or in older plantations (20.1–23.6‰, Bonhomme et al., 2008), as well as for a F_1 full-sib family (19.9–21.6‰, Dillen et al., 2008).

5. Conclusions and potential applications

This study demonstrated that the effects of planting density on growth and WUE in poplar depend on site characteristics in terms of soil fertility and water availability. When soil conditions are favorable, increasing planting density primarily accentuates plant competition for light resulting in trees displaying higher stem height, lower stem circumference and lower WUE. When soil water availability becomes limiting, increasing planting density accentuates plant competition for water acquisition, resulting in trees displaying limited stem height and higher WUE. Although positive when significant, the strength of the relationship between growth potential and WUE was highly variable depending on cultural systems, sites but also the growth determinants considered. This highlights the inherent difficulties to conclude about the relationship between growth potential and WUE, which can be related to either (i) reduced expression of genetic variations under less favorable pedoclimatic conditions, (ii) possible differences in the time-scale of integration for the traits analyzed, (iii) or simply the fundamental absence of physiological link between the two traits in some cases. However, the lack of trade-off between growth and WUE combined with the large genotypic variations observed for these traits confirms the potential for selecting genotypes with high water-use efficiency without counter-selecting on biomass production in *P. deltoides* × *P. nigra*.

Acknowledgements

The authors thank the *'GIS Peuplier'* and the Alasia Franco vivai nursery which have provided poplar genotypes not yet commercialized for these experiments. The authors also thank Guillaume Bodineau and Jean Gauvin from the experimental unit 'Genetic and Forest Biomass of INRA Orleans' (GBFOr unit, Orléans, France) who have managed the plantations and done part of the annual measurements of growth. The authors would particularly thank Dramane Konate, Viviane Sogni Tchichelle, Laureline BesDeBerc, Julie Delevaux (INRA Nancy), and Isabelle Le Jan (University of Orleans) for their implications in growth and biomass measurements at Échigey and at Saint-Cyr-en-Val. Isotopic and elemental analyses were performed by the technical platform of functional ecology (OC 081) at INRA Nancy of the Forest Ecology and Ecophysiology unit. The authors would also like to thank Christian Hossann for his implication in leaf analyses. This work is part of the PhD work of J.T. J.T was supported by a PhD grant from the Bioenergy section

of the French National Research Agency (ANR) project SYLVABIOM (ANR-08-BIOE-006). This study was carried out with financial support from the ANR project SYLVABIOM.

References

Alcorn, P., Pyttel, P., Bauhus, J., Smith, R.G.B., Thomas, D., James, R., Nicotra, A., 2007. Effects of initial planting density on branch development in 4-year-old plantation grown *Eucalyptus pilularis* and *Eucalyptus cloeziana* trees. Forest Ecol. Manage. 252, 41–51.

Benomar, L., DesRochers, A., Larocque, G., 2011. Changes in specific leaf area and photosynthetic nitrogen-use efficiency associated with physiological acclimation of two hybrid poplar clones to intraclonal competition. Can. J. Forest Res. 41, 1465–1476.

Benomar, L., DesRochers, A., Larocque, G., 2012. The effects of spacing on growth, morphology and biomass production and allocation in two hybrid poplar clones growing in the boreal region of Canada. Trees – Struct. Funct. 26, 939–949.

Bergante, S., Facciotto, G., Minotta, G., 2010. Identification of the main site factors and management intensity affecting the establishment of Short-Rotation-Coppices (SRC) in Northern Italy through stepwise regression analysis. Centr. Eur. J. Biol. 5, 522–530.

Bogeat-Triboulot, M.B., Brosché, M., Renaut, J., Jouve, L., Le Thiec, D., Fayyaz, P., Vinocur, B., Witters, E., Laukens, K., Teichmann, T., Altman, A., Hausman, J.F., Polle, A., Kangasjärvi, J., Dreyer, E., 2007. Gradual soil water depletion results in reversible changes of gene expression, protein profiles, ecophysiology, and growth performance in *Populus euphratica*, a poplar growing in arid regions. Plant Physiol. 143, 876–892.

Bonhomme, L., Barbaroux, C., Monclus, R., Morabito, D., Berthelot, A., Villar, M., Dreyer, E., Brignolas, F., 2008. Genetic variation in productivity, leaf traits and carbon isotope discrimination in hybrid poplars cultivated on contrasting sites. Ann. Forest Sci. 65, 503.

Brodie, L.C., DeBell, D.S., 2004. Evaluation of field performance of poplar clones using selected competition indices. New Forests 27, 201–214.

Buchmann, N., Kao, W.-Y., Ehleringer, J., 1997. Influence of stand structure on carbon-13 of vegetation, soils, and canopy air within deciduous and evergreen forests in Utah, United States. Oecologia 110, 109–119.

Bullard, M.J., Mustill, S.J., Carver, P., Nixon, P.M.I., 2002a. Yield improvements through modification of planting density and harvest frequency in short rotation coppice *Salix* spp. – 2. Resource capture and used in two morphologically diverse varieties. Biomass Bioenerg. 22, 27–39.

Bullard, M.J., Mustill, S.J., McMillan, S.D., Nixon, P.M.I., Carver, P., Britt, C.P., 2002b. Yield improvements through modification of planting density and harvest frequency in short rotation coppice *Salix* spp. – 1. Yield response in two morphologically diverse varieties. Biomass Bioenerg. 22, 15–25.

Castellani, E., Frecœro, V., Lapietra, G., 1967. Proposta Di Una Scala Di Differenziazione Delle Gemme Fogliari Del Pioppo Utile Per Gli Interventi Antiparas Sitari. Giorn. Bot. Ital. 101, 355–360.

Cernusak, L.A., Hutley, L.B., Beringer, J., Holtum, J.A.M., Turner, B.L., 2011. Photosynthetic physiology of eucalypts along a sub-continental rainfall gradient in northern Australia. Agric. Forest Meteorol. 151, 1462–1470.

Chamaillard, S., Fichot, R., Vincent-Barbaroux, C., Bastien, C., Depierreux, C., Dreyer, E., Villar, M., Brignolas, F., 2011. Variations in bulk leaf carbon isotope discrimination, growth and related leaf traits among three *Populus nigra* L. populations. Tree Physiol. 31, 1076–1087.

Clifton-Brown, J.C., Lewandowski, I., 2000. Water use efficiency and biomass partitioning of three different *Miscanthus* genotypes with limited and unlimited water supply. Ann. Bot. 86, 191–200.

Cooke, J.E.K., Weih, M., 2005. Nitrogen storage and seasonal nitrogen cycling in *Populus*: bridging molecular physiology and ecophysiology. New Phytol. 167, 19–30.

DeBell, D.S., Clendenen, G.W., Harrington, C.A., Zasada, J.C., 1996. Tree growth and stand development in short-rotation *Populus* plantings: 7-year results for two clones at three spacings. Biomass Bioenerg. 11, 253–269.

DesRochers, A., van den Driessche, R., Thomas, B.R., 2007. The interaction between nitrogen source, soil pH, and drought in the growth and physiology of three poplar clones. Can. J. Bot. 85, 1046–1057.

DesRochers, A., Van den Driessche, R., Thomas, B.R., 2006. NPK fertilization at planting of three hybrid poplar clones in the boreal region of Alberta. Forest Ecol. Manage. 232, 216–225.

Dillen, S.Y., Kasmioui, O.E., Marron, N., Calfapietra, C., Ceulemans, R., 2011a. Poplars. In: Energy Crops, SRC Energy and Environment Series. Nigel G Halford and Angela Karp, pp. 275–300.

Dillen, S.Y., Marron, N., Bastien, C., Ricciotti, L., Salani, F., Sabatti, M., Pinel, M.P.C., Rae, A.M., Taylor, G., Ceulemans, R., 2007. Effects of environment and progeny on biomass estimations of five hybrid poplar families grown at three contrasting sites across Europe. Forest Ecol. Manage. 252, 12–23.

Dillen, S.Y., Marron, N., Koch, B., Ceulemans, R., 2008. Genetic variation of stomatal traits and carbon isotope discrimination in two hybrid poplar families (*Populus deltoides* "S9-2" × *P. nigra* "Ghoy" and *P. deltoides* "S9-2" × *P. trichocarpa* "V24"). Ann. Bot. 102, 399–407.

Dillen, S.Y., Monclus, R., Barbaroux, C., Bastien, C., Ceulemans, R., Dreyer, E., Villar, M., Brignolas, F., Marron, N., 2011b. Is the ranking of poplar genotypes for leaf carbon isotope discrimination stable across sites and years in two different full-sib families? Ann. Forest Sci. 68, 1265–1275.

Eastham, J., Rose, C.W., Charles-Edwards, D.A., Cameron, D.M., Rance, S.J., 1990. Planting density effects on water use efficiency of trees and pasture in an agroforestry experiment. New Zeal. J. Forest Sci. 20, 39–53.

Eppler, U., Petersen, J.-E., 2007. Short Rotation Forestry, Short Rotation Coppice and Energy Grasses in the European Union: Agro-environmental Aspects, Present use and Perspectives. in: EEA Specific Contract No. 2 3604/B2006/EEA.52793 – Deliverable Task 2b: Background Report on Current SRF/SRC Cropping Patterns in, Europe. pp. 41.

Fang, S., Xu, X., Lu, S., Tang, L., 1999. Growth dynamics and biomass production in short-rotation poplar plantations: 6-year results for three clones at four spacings. Biomass Bioenerg. 17, 95–108.

Farquhar, G.D., Ehleringer, J.R., Hubick, K.T., 1989. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 40, 503–537.

Farquhar, G.D., Richards, R.A., 1984. Isotopic composition of plant carbon correlates with water-use efficiency of wheat genotypes. Aust. J. Plant Physiol. 11, 539–552.

Fichot, R., Barigah, T.S., Chamaillard, S., Le Thiec, D., Laurans, F., Cochard, H., Brignolas, F., 2010. Common trade-offs between xylem resistance to cavitation and other physiological traits do not hold among unrelated *Populus deltoides* × *Populus nigra* hybrids. Plant Cell Environ. 33, 1553–1568.

Fichot, R., Chamaillard, S., Depardieu, C., Le Thiec, D., Cochard, H., Barigah, T.S., Brignolas, F., 2011. Hydraulic efficiency and coordination with xylem resistance to cavitation, leaf function, and growth performance among eight unrelated *Populus deltoides* × *Populus nigra* hybrids. J. Exp. Bot. 62, 2093–2106.

Gornall, J.L., Guy, R.D., 2007. Geographic variation in ecophysiological traits of black cottonwood (*Populus trichocarpa*). Can. J. Bot. 85, 1202–1213.

Green, D.S., Kruger, E.L., Stanosz, G.R., Isebrands, J.G., 2001. Light-use efficiency of native and hybrid poplar genotypes at high levels of intracanopy competition. Can. J. Forest Res. 31, 1030–1037.

Henderson, C.R., 1953. Estimation of variance and covariance components. Biometrics 9, 226–252.

Howe, G.T., Saruul, P., Davis, J., Chen, T.H.H., 2000. Quantitative genetics of bud phenology, frost damage, and winter survival in an F-2 family of hybrid poplars. Theor. Appl. Genet. 101, 632–642.

Karp, A., Shield, I., 2008. Bioenergy from plants and the sustainable yield challenge. New Phytol. 179, 15–32.

Kerr, G., 2003. Effects of spacing on the early growth of planted *Fraxinus excelsior*. Can. J. Forest Res. 33, 1196–1207.

King, J.S., Ceulemans, R., Albaugh, Janine M., Dillen, Sophie Y., Domec, Jean-Christophe, Fichot, Regis, Fischer, Milan, Leggett, Zakiya, Sucre, Eric, Tmka, Mirek, Zenone, Terenzio, 2013. The challenge of lignocellulosic bioenergy in a water-limited world. BioScience 63, 102–117.

Larchevêque, M., Maurel, M., Desrochers, A., Larocque, G.R., 2011. How does drought tolerance compare between two improved hybrids of balsam poplar and an unimproved native species? Tree Physiol. 31, 240–249.

Larocque, G.R., 1999. Performance and morphological response of the hybrid poplar DN-74 (Populus deltoides nigra) under different spacings on a 4-year rotation. Ann. Forest Sci. 56, 275–287.

Laureysens, I., Deraedt, W., Indeherberge, T., Ceulemans, R., 2003. Population dynamics in a 6-year old coppice culture of poplar. I. Clonal differences in stool mortality, shoot dynamics and shoot diameter distribution in relation to biomass production. Biomass Bioenerg. 24, 81–95.

Leffler, A.J., Evans, A.S., 2001. Physiological variation among *Populus fremontii* populations: short- and long-term relationships between delta C-13 and water availability. Tree Physiol. 21, 1149–1155.

Liang, Z.S., Yang, H.W., Shao, H.B., Han, R.L., 2006. Investigation on water consumption characteristics and water use efficiency of poplar under soil water deficits on the Loess Plateau. Colloid Surf. B 53, 23–28.

Linderson, M.L., Iritz, Z., Lindroth, A., 2007. The effect of water availability on stand-level productivity, transpiration, water use efficiency and radiation use efficiency of field-grown willow clones. Biomass Bioenerg. 31, 460–468.

Marron, N., Bastien, C., Sabatti, M., Taylor, G., Ceulemans, R., 2006. Plasticity of growth and sylleptic branchiness in two poplar families grown at three sites across Europe. Tree Physiol. 26, 935–946.

Marron, N., Dillen, S.Y., Ceulemans, R., 2007. Evaluation of leaf traits for indirect selection of high yielding poplar hybrids. Environ. Exp. Bot. 61, 103–116.

Marron, N., Storme, V., Dillen, S.Y., Bastien, C., Ricciotti, L., Salani, F., Sabatti, M., Rae, A.M., Ceulemans, R., Boerjan, W., 2010. Genomic regions involved in productivity of two interspecific poplar families in Europe. 2. Biomass production and its relationships with tree architecture and phenology. Tree Genet. Genom. 6, 533–554.

Marron, N., Villar, M., Dreyer, E., Delay, D., Boudouresque, E., Petit, J.M., Delmotte, F.M., Guehl, J.M., Brignolas, F., 2005. Diversity of leaf traits related to productivity in 31 *Populus deltoides Populus nigra* clones. Tree Physiol. 25, 425–435.

Martin-Benito, D., Del Rio, M., Heinrich, I., Helle, G., Canellas, I., 2010. Response of climate-growth relationships and water use efficiency to thinning in a *Pinus nigra* afforestation. Forest Ecol. Manage. 259, 967–975.

McDowell, N., Brooks, J.R., Fitzgerald, S.A., Bond, B.J., 2003. Carbon isotope discrimination and growth response of old *Pinus ponderosa* trees to stand density reductions. Plant Cell Environ. 26, 631–644.

Monclus, R., Dreyer, E., Delmotte, F.M., Villar, M., Delay, D., Boudouresque, E., Petit, J.M., Marron, N., Brechet, C., Brignolas, F., 2005. Productivity, leaf traits and carbon isotope discrimination in 29 *Populus deltoides* × *P. nigra* clones. New Phytol. 167, 53–62.

Monclus, R., Dreyer, E., Villar, M., Delmotte, F.M., Delay, D., Petit, J.M., Barbaroux, C., Le Thiec, D., Brechet, C., Brignolas, F., 2006. Impact of drought on productivity

and water use efficiency in 29 genotypes of *Populus deltoides* × *Populus nigra*. New Phytol. 169, 765–777.
Monclus, R., Leplé, J.-C., Bastien, C., Bert, P.-F., Villar, M., Marron, N., Brignolas, F., Jorge, V., 2012. Integrating genome annotation and QTL position to identify candidate genes for productivity, architecture and water-use efficiency in *Populus* spp. BMC Plant Biol. 12, 173.
Monclus, R., Villar, M., Barbaroux, C., Bastien, C., Fichot, R., Delmotte, F.M., Delay, D., Petit, J.M., Brechet, C., Dreyer, E., Brignolas, F., 2009. Productivity, water-use efficiency and tolerance to moderate water deficit correlate in 33 poplar genotypes from a *Populus deltoides* × *Populus trichocarpa* F-1 progeny. Tree Physiol. 29, 1329–1339.
Niinemets, Ü., Sack, L., 2006. Structural determinants of leaf light-harvesting capacity and photosynthetic potentials. In: Esser, K., Lüttge, U.E., Beyschlag, W., Murata, J., Progress in Botany, pp. 385–419.
Pinkard, E., Neilsen, W., 2003. Crown and stand characteristics of *Eucalyptus nitens* in response to initial spacing: implications for thinning. Forest Ecol. Manage. 172, 215–227.
Poorter, L., 1999. Growth responses of 15 rain-forest tree species to a light gradient: the relative importance of morphological and physiological traits. Funct. Ecol. 13, 396–410.
Querejeta, J.I., Barbera, G.G., Granados, A., Castillo, V.M., 2008. Afforestation method affects the isotopic composition of planted *Pinus halepensis* in a semiarid region of Spain. Forest Ecol. Manage. 254, 56–64.
R Development Core Team, 2010. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Austria, Vienna.
Raper, S.M., Steinbeck, K., Moss, I.S., Whitehead, D., 1992. Water-use efficiency and transpiration of *Robinia*, *Liquidambar*, and *Platanus* sprouts in the Southeastern USA. Forest Ecol. Manage. 51, 259–268.
Rasheed, F., Dreyer, E., Richard, B., Brignolas, F., Montpied, P., Le Thiec, D., 2013. Genotype differences in ^{13}C discrimination between atmosphere and leaf matter match differences in transpiration efficiency at leaf and whole-plant levels in hybrid *Populus deltoides* × *nigra*. Plant Cell Environ. 36, 87–102.
Rasheed, F., Richard, B., Le Thiec, D., Montpied, P., Paillassa, E., Brignolas, F., Dreyer, E., 2011. Time course of $\delta^{13}C$ in poplar wood: genotype ranking remains stable over the life cycle in plantations despite some differences between cellulose and bulk wood. Tree Physiol. 31, 1183–1193.
Ripullone, F., Lauteri, M., Grassi, G., Amato, M., Borghetti, M., 2004. Variation in nitrogen supply changes water-use efficiency of *Pseudotsuga menziesii* and *Populus* × *euroamericana*; a comparison of three approaches to determine water-use efficiency. Tree Physiol. 24, 671–679.
Rohde, A., Storme, V., Jorge, V., Gaudet, M., Vitacolonna, N., Fabbrini, F., Ruttink, T., Zaina, G., Marron, N., Dillen, S., Steenackers, M., Sabatti, M., Morgante, M., Boerjan, W., Bastien, C., 2010. Bud set in poplar – genetic dissection of a complex trait in natural and hybrid populations. New Phytol. 189, 106–121.
Siegwolf, R.T.W., Matyssek, R., Saurer, M., Maurer, S., Gunthardt-Goerg, M.S., Schmutz, P., Bucher, J.B., 2001. Stable isotope analysis reveals differential effects of soil nitrogen and nitrogen dioxide on the water use efficiency in hybrid poplar leaves. New Phytol. 149, 233–246.
Singh, M., Ceccarelli, S., Hamblin, J., 1993. Estimation of heritability from varietal trials data. Theor. Appl. Genet. 86, 437–441.
Soolanayakanahally, R.Y., Guy, R.D., Silim, S.N., Drewes, E.C., Schroeder, W.R., 2009. Enhanced assimilation rate and water use efficiency with latitude through increased photosynthetic capacity and internal conductance in balsam poplar (*Populus balsamifera* L.). Plant Cell Environ. 32, 1821–1832.
Voltas, J., Serrano, L., Hernández, M., Pemán, J., 2006. Carbon Isotope discrimination, gas exchange and stem growth of four Euramerican hybrid poplars under different watering regimes. New Forests 31, 435–451.
Walcroft, A.S., Silvester, W.B., Grace, J.C., Carson, S.D., Waring, R.H., 1996. Effects of branch length on carbon isotope discrimination in *Pinus radiata*. Tree Physiol. 16, 281–286.
Warren, C., McGrath, J., Adams, M., 2001. Water availability and carbon isotope discrimination in conifers. Oecologia 127, 476–486.
Woodruff, D.R., Bond, B.J., Ritchie, G.A., Scott, W., 2002. Effects of stand density on the growth of young Douglas-fir trees. Can. J. Forest Res. 32, 420–427.
Xu, X., Peng, G., Wu, C., Korpelainen, H., Li, C., 2008. Drought inhibits photosynthetic capacity more in females than in males of *Populus cathayana*. Tree Physiol. 28, 1751–1759.
Zhang, Y.B., Duan, B.L., Qiao, Y.Z., Wang, K.Y., Korpelainen, H., Li, C.Y., 2008. Leaf photosynthesis of *Betula albosinensis* seedlings as affected by elevated CO_2 and planting density. Forest Ecol. Manage. 255, 1937–1944.

CHAPITRE 2.2

EFFET DU CONTEXTE PEDOCLIMATIQUE SUR L'EFFICIENCE D'UTILISATION DE L'AZOTE CHEZ 56 *POPULUS DELTOIDES* × *POPULUS NIGRA*

1. Introduction

Les plantations d'arbres à croissance rapide de type TTCR entrainent une exportation importante d'azote lors de coupes (Ericsson *et al*., 1992 ; Berthelot *et al*., 2000 ; Bungart & Huttl, 2001 ; Rytter, 2002 ; Swamy *et al*., 2006). Les niveaux d'exportation d'azote en TTCR sont plus élevés que pour les plantations à rotation plus longues (TCR ou futaie) car le rapport écorce/bois est plus important pour du bois très jeune et une grande partie de l'azote présent dans la biomasse ligneuse se situe dans l'écorce (Heilman & Norby, 1998 ; Jug *et al*., 1999a ; Adegbidi *et al*., 2001 ; Klasnja *et al*., 2002). L'utilisation en plantations à rotations très courtes de génotypes utilisant efficacement l'azote (c'est-à-dire produisant plus de biomasse pour une quantité donnée d'azote) pourrait être un moyen de limiter le risque d'exportation massive d'azote hors des plantations lors des récoltes.

À l'échelle de la plante entière, l'efficience d'utilisation de l'azote (nitrogen-use efficiency, NUE) est définie directement par le rapport entre la production de biomasse et la quantité d'azote prélevée par la plante dans le même laps de temps (Vitousek, 1982). Cependant, plusieurs travaux ont considéré que la quantité d'azote présente dans les parties ligneuses était approximativement équivalente à la quantité d'azote prélevée dans le sol pour de nombreuses espèces ligneuses (Laclau *et al*., 2000 ; Adegbidi *et al*., 2001 ; Safou-Matondo *et al*., 2005 ; Tharakan *et al*., 2005 ; Finzi *et al*., 2007), y compris pour le peuplier (Gelhaye *et al*., 1997 ; Berthelot *et al*., 2000 ; Finzi *et al*., 2007 ; Li *et al*., 2012). La variabilité génétique et la plasticité phénotypique de NUE pour des hybrides de *Populus deltoides* × *Populus nigra* (*P.* ×*euramericana*) cultivés en TTCR dans des contextes pédoclimatiques variés restent peu évaluées.

Dans ce contexte, cette étude avait pour but d'évaluer *(i)* la variabilité génétique de l'efficience d'utilisation de l'azote et du taux d'exportation d'azote parmi les hybrides de *P.* ×*euramericana* cultivés en TTCR, *(ii)* la plasticité phénotypique de ces deux caractères en réponse à deux contextes pédoclimatiques et *(iii)* les relations entre la production de biomasse, NUE et le taux d'exportation d'azote. Afin d'apporter des éléments de réponse à ces objectifs, deux plantations de TTCR ont été installées dans le Nord de la France avec 56 génotypes de peuplier hybrides de type euraméricains, près de Dijon à Échigey (région Bourgogne) et près d'Orléans à Saint-Cyr-en-Val (région Centre).

2. Matériel et Méthodes

2.1. Sites d'étude

Les plans d'expérience utilisés dans cette partie ont été présentés dans la partie 1 du chapitre II. Brièvement, le site d'Échigey (ECH) présentait des teneurs en azote et en matière organique du sol significativement plus élevées qu'à Saint-Cyr-en-Val (SCV). Lors de la seconde saison de végétation (durant laquelle les mesures ont été effectuées), les précipitations étaient deux fois plus élevées à ECH qu'à SCV, entraînant d'importantes différences entre les deux sites en termes de teneurs en eau du sol (*cf*. Chapitre II, partie 1.2).

2.2. Variables mesurées et calculées

2.2.1. Production de biomasse

La première rotation a consisté en deux années de croissance, 2009-2010 à ECH et 2010-2011 à SCV. À la fin de la seconde saison de végétation, la hauteur de la tige dominante des arbres (Ht, cm) a été mesurée à l'aide d'une perche de mesure et sa circonférence (Circ., mm) à 20 cm au dessus du sol à l'aide d'un mètre ruban. Les arbres ont ensuite été coupés à 5 cm au dessus du sol. Pour chaque individu et à chaque site, la biomasse totale de la cépée ($Biom_F$, g) a été séparée en trois compartiments : la tige dominante ($Tige_{domF}$, g), les branches présentes sur la tige dominante ($Branches_{domF}$, g) et les tiges composant le reste de la cépée ($Tige_{cepéeF}$, g). Sur chaque tige dominante, un échantillon de 20 cm de long a été prélevé à 1 m de hauteur à partir de la base de la tige. Chaque échantillon a été pesé frais, séché dans une étuve à 55°C pendant 15 jours, puis pesé sec. Le rapport entre masse sèche et masse fraîche de l'échantillon a ensuite été calculé et appliqué à chaque compartiment ($Tige_{domS}$, g ; $Branches_{domS}$, g ; et $Tige_{cepéeS}$, g) ainsi qu'à la masse fraîche totale de la cépée afin d'obtenir la biomasse sèche de la cépée ($Biom_S$, g). Le rendement (en tonnes de matière sèche par hectare et par an, t ha^{-1} an^{-1}) a été calculé pour chaque génotype de la façon suivante :

$$\mathrm{Rdt} = \left(\frac{Biom_S \times Densité\ de\ plantation\ \times Taux\ de\ survie}{Nombre\ d'années\ de\ croissance}\right)$$

où '$Biom_S$' représente la biomasse sèche totale de la cépée, '*Densité de plantation*' correspond à 7272 arbres par ha, '*Taux de survie*' correspond à 0,97 et 0,99 pour ECH et SCV respectivement et '*Nombre d'années de croissance*' correspond à deux ans.

2.2.2. Minéralomasse, efficience d'utilisation de l'azote et taux d'exportation d'azote

Les échantillons de tige collectés ont été broyés en poudre fine à l'aide d'un broyeur à bille (SODEMI; CEP Industries department, Cergy-Pontoise, France), puis 2 mg de cette poudre ont été analysés à l'aide d'un analyseur élémentaire (NCS2500, EA/NA 1110, CE instrument Thermo Quest, Italie) pour leur composition en azote et en carbone (respectivement N_{tige} et C_{tige}). Les résultats sont exprimés par unité de masse sèche (mg g^{-1}).

L'efficience d'utilisation de l'azote (gramme de masse sèche par gramme d'azote, g MS g^{-1} N) a été définie selon Vitousek (1982) et Finzi *et al*. (2007) comme :

$$NUE = \frac{Biom_S\ (g)}{Teneuren\ azote\ (g)}$$

où '$Biom_S$' correspond à la biomasse sèche totale de la cépée exprimée en grammes (g) et '*Teneur en azote*' correspond à la quantité d'azote présente dans les tissus ligneux exprimée en grammes (g). L'efficience d'utilisation de l'azote des arbres a donc été calculée sur la base de la masse sèche des tiges (bois et écorce) formées pendant la durée de l'expérience (deux ans) et de la quantité d'azote totale présente dans les tiges (Marschner, 1995 ; Berthelot *et al*., 2000 ; Tharakan *et al*., 2005 ; Li *et al*., 2012).

Le taux d'exportation d'azote de la plantation exprimé en kg d'azote exporté par hectare et par an (kg N ha^{-1} an^{-1}) a quant à lui été calculé de la façon suivante (Ericsson, 1994 ; Berthelot *et al*., 2000 ; Adegbidi *et al*., 2001 ; Adler *et al*., 2005) :

$$N_{export} = \frac{\left(((N_{tige}\ \times Biom_S) \times Densite\ de\ plantation)\ \times\ Taux\ de\ survie\right)}{Nombre\ d'années\ de\ croissance}$$

où '*Densité de plantation*' correspond à 7272 arbres par ha, '*Taux de survie*' correspond à 0,97 et 0,99 pour ECH et SCV respectivement et '*Nombre d'années de croissance*' correspond à deux ans.

Tableau 4. Moyenne générale (± ES), gamme de variation génotypique, niveau de significativité des effets génotype (G), site (S) et de l'interaction génotype × site (G × S) et importance relative des effets génotype (σ^2_G), site (σ^2_S), de l'interaction génotype × site ($\sigma^2_{G\times S}$) et résiduelle (σ^2_ε) dans la variation phénotypique (σ^2_P) calculées pour chaque caractère à chaque site (Échigey : ECH ; Saint-Cyr-en-Val : SCV).

				ANOVA			Composantes de la variance (%)			
Caractère	Site	Moyenne ± ES	Gamme de variation	G	S	G × S	σ^2_G/σ^2_P	σ^2_S/σ^2_P	$\sigma^2_{G\times S}/\sigma^2_P$	σ^2_S/σ^2_P
Productivité										
$Biom_S$ (g)	ECH	1623.6 ± 107.6	458.4 - 3953.6	***	***	**	2,6	53,9	22,6	20,9
	SCV	470.6 ± 19.6	154.5 - 921.8	***						
Rdt (t ha^{-1} an^{-1})	ECH	12,17 ± 0,81	3,44 - 29,65	***	***	**	1,0	64,2	17,6	17,2
	SCV	1,69 ± 0,07	0,56 – 3,31	*						
$Tige_{domS}$ (g)	ECH	1142,6 ± 37,5	384,0 - 1989,4	**	***	*	1,5	63,2	3,8	31,5
	SCV	301,4 ± 8,4	172,0 - 483,4	ns						
$Branches_{domS}$ (g)	ECH	306,0 ± 14,0	71,1 - 752,3	***	***	***	3,5	43,7	11,2	41,6
	SCV	92,8 ± 3,6	37,4 - 200,1	***						
Ht (cm)	ECH	490,3 ± 5,8	362,5 - 581,5	**	***	***	2,0	82,0	2,6	13,3
	SCV	279,4 ± 6,6	165,2 - 371,0	***						
Circ. (mm)	ECH	146,2 ± 3,3	78,3 - 202,7	***	***	***	3,6	67,1	6,5	22,8
	SCV	82,0 ± 2,3	44,6 - 126,9	***						
Minéralomasse										
N_{tige} (mg g^{-1})	ECH	4,7 ± 0,1	3,0 - 7,4	***	***	***	21,8	24,6	13,3	40,3
	SCV	5,8 ± 0,1	4,0 - 8,7	***						
C_{tige} (mg g^{-1})	ECH	456,0 ± 0,6	446,6 - 464,2	***	**	*	6,3	3,1	7,1	83,5
	SCV	454,0 ± 0,5	445,1 - 462,3	ns						
Utilisation de l'azote										
N_{export} (kg N ha^{-1} an^{-1})	ECH	26,3 ± 1,9	7,9 - 62,6	***	***	***	5,9	41,5	20,8	31,7
	SCV	9,8 ± 0,5	3,5 - 23,3	***						
NUE (kg MS kg^{-1}N)	ECH	228,1 ± 7,4	137,6 - 368,0	***	***	***	14,6	26,9	25,3	33,2
	SCV	181,8 ± 3,5	118,3 - 259,1	***						

Niveaux de significativité : ns, non significatif ; $P \leq 0,05$, * ; $P \leq 0,01$, ** ; $P \leq 0,001$, ***. La signification des abréviations est présentée dans la partie Matériel et Méthodes.

2.3. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R (R Development Core Team, 2010). Les moyennes sont présentées avec leur erreur standard (ES) et tous les tests statistiques ont été considérés significatifs à $P \leq 0{,}05$. Pour chaque variable, l'ajustement des données individuelles à une distribution gaussienne a été testé à l'aide du test de Shapiro-Wilk.

Une analyse de variance à un facteur (ANOVA 1F) a été réalisée indépendamment pour chaque site :

$$Y_{ij} = \mu + B_i + G_j + \varepsilon_{ij}$$

où Y_{ij} correspond à la variable testée, μ correspond à la moyenne de la variable testée, B_i correspond à l'effet du bloc i (considéré comme fixe), G_j correspond à l'effet du génotype j (considéré comme aléatoire), et ε_{ij} correspond à la valeur résiduelles du modèle.

Une analyse de variance à deux facteurs (ANOVA 2F) afin de tester les effets du génotype, du site et de leur interaction :

$$Y'_{jk} = \mu + G_j + S_k + G_j \times S_k + \varepsilon_{jk}$$

où Y'_{jk} correspond à la variable testée ajustée aux effets bloc ($Y'=Y-B_i$), S_k correspond à l'effet du site (fixe), et $G_j \times S_k$ correspond à l'interaction entre l'effet du génotype et l'effet du site (aléatoire). Afin de quantifier l'importance relative de chaque effet, les composantes de la variance σ^2_G, σ^2_S, $\sigma^2_{G\times S}$ et σ^2_ε ont été estimées par la méthode de restriction du maximum de vraisemblance (Restricted Maximum Likelihood method, REML).

Indépendamment pour chaque site, les relations entre variables ont été analysées par des régressions linéaires [coefficient de corrélation de Pearson (r_p)] sur les moyennes génotypiques. Les classements génotypiques entre sites ont été analysés par des régressions linéaires [coefficient de corrélation de Spearman (r_s)] sur les moyennes génotypiques.

Tableau 5. Corrélations de rang de Spearman entre Échigey et Saint-Cyr-en-Val pour chaque caractère étudié (A) et matrice des corrélations linéaires de Pearson (B) entre caractères à Échigey (partie supérieure, Italique) et à Saint-Cyr-en-Val (partie inférieure, gras). Les corrélations de rang de Spearman et de Pearson ont été réalisées avec les moyennes génotypiques (n = 56). La signification des abréviations est présentée dans la partie Matériel et Méthodes.

A	$Tige_{domS}$	$Branches_{domS}$	$Biom_S$	Ht	Circ.	N_{tige}	C_{tige}	NUE	N_{export}
ECH *vs*. SCV	0,35**	$0,25^{ns}$	$0,22^{ns}$	$0,19^{ns}$	$0,26^{ns}$	0,42**	$0,16^{ns}$	0,43**	0,42**

B	$Tige_{domS}$	$Branches_{domS}$	$Biom_S$	Ht	Circ.	N_{tige}	C_{tige}	NUE	N_{export}
$Tige_{domS}$		*0,69****	*0,79****	*0,49****	*0,67****				*0,64****
$Branches_{domS}$	**0,63****		*0,82****		*0,64****				*0,73****
$Biom_S$	**0,51****	**0,68****		*0,43****	*0,83****				*0,88****
Ht	**0,56****		**0,33***		*0,59****	*-0,47****		*0,40***	*0,28**
Circ.	**0,63****	**0,54****	**0,81****	**0,58****					*0,76****
N_{tige}				**-0,54****				*-0,97****	
C_{tige}						**-0,49****			
NUE				**0,50****		**-0,97****	**0,47****		*-0,34**
N_{export}	**0,38****	**0,59****	**0,90****		**0,68****	**0,41****	**-0,28***	**-0,42****	

Niveaux de significativité : ns, non significatif ; $P \leq 0,05$, * ; $P \leq 0,01$, ** ; $P \leq 0,001$, ***.

2. Résultats

Tous les caractères étudiés étaient différents entre génotypes (G) à l'exception de C_{tige} à SCV (Tableau 4). Cet effet était dépendant du site (interaction génotype × site (G × S) significative) pour tous les caractères étudiés (Tableau 4). Quel que soit le caractère considéré, la variabilité phénotypique observée était principalement liée à la composante environnementale (Site) à l'exception de N_{tige}, C_{tige} et NUE (Tableau 4).

Malgré leur significativité pour $Tige_{domS}$ (r_s = 0,35, P ≤ 0,01), NUE (r_s = 0,43, $P \leq 0,01$), N_{tige} (r_s = 0,42, $P \leq 0,01$) et N_{export} (r_s = 0,42, $P \leq 0,01$), les coefficients de rang de Spearman étaient modérés à faibles, indiquant des modifications dans le classement des génotypes entre sites pour tous les caractères (Tableau 5A).

Tous les caractères étudiés étaient différents entre sites (S) (Figure 9, Tableau 4). Les valeurs les plus élevées de $Biom_S$, C_{tige}, NUE et N_{export} ont été obtenues à ECH alors que les valeurs de N_{tige} étaient plus élevées à SCV (Tableau 4). À ECH comme à SCV, les caractères liés à la productivité étaient corrélés positivement entre eux (Tableau 5B). L'efficience d'utilisation de l'azote (NUE) était corrélée positivement avec Ht (r_p = 0,40** à ECH et r_p = 0,50*** à SCV) et négativement avec N_{tige} aux deux sites (r_p = -0,97*** à ECH et r_p = -0,97*** à SCV). Enfin, N_{export} était corrélé à tous les autres caractères aux deux sites à l'exception de N_{tige} et C_{tige} à ECH et de Ht à SCV.

3. Discussion

Le site d'Échigey se distinguait du site de Saint-Cyr-en-Val par des valeurs significativement plus élevées de biomasse de cépée (respectivement 1623,6 g vs. 470,6 g), de rendement (respectivement 12,2 t ha^{-1} an^{-1} *vs*. 1,7 t ha^{-1} an^{-1}), de NUE (respectivement 228,1 kg MS kg^{-1} N *vs*. 181,8 kg MS kg^{-1} N) et de taux d'exportation d'azote (respectivement 26,3 kg N ha^{-1} an^{-1} *vs*. 9,8 kg N ha^{-1} an^{-1}) et des valeurs moins élevées de teneur en azote de la tige (respectivement 4,7 mg g^{-1} *vs*. 5,8 mg g^{-1}). De façon globale, les valeurs de biomasse, rendement, NUE et Nexport étaient plutôt faibles en comparaison de celles rapportées dans la littérature sur peuplier. En effet, en conditions non limitantes en eau et en nutriments, des rendements de 14 t ha^{-1} an^{-1} à 35 t ha^{-1} an^{-1} ont été observés pour *P. trichocarpa* × *P. deltoides* (Heilman & Fu-Guang, 1993; Scarascia-Mugnozza *et al*., 1997; Liberloo *et al*., 2006) et *P. maximowiczii* × *P. nigra* (Labrecque & Teodorescu, 2005).

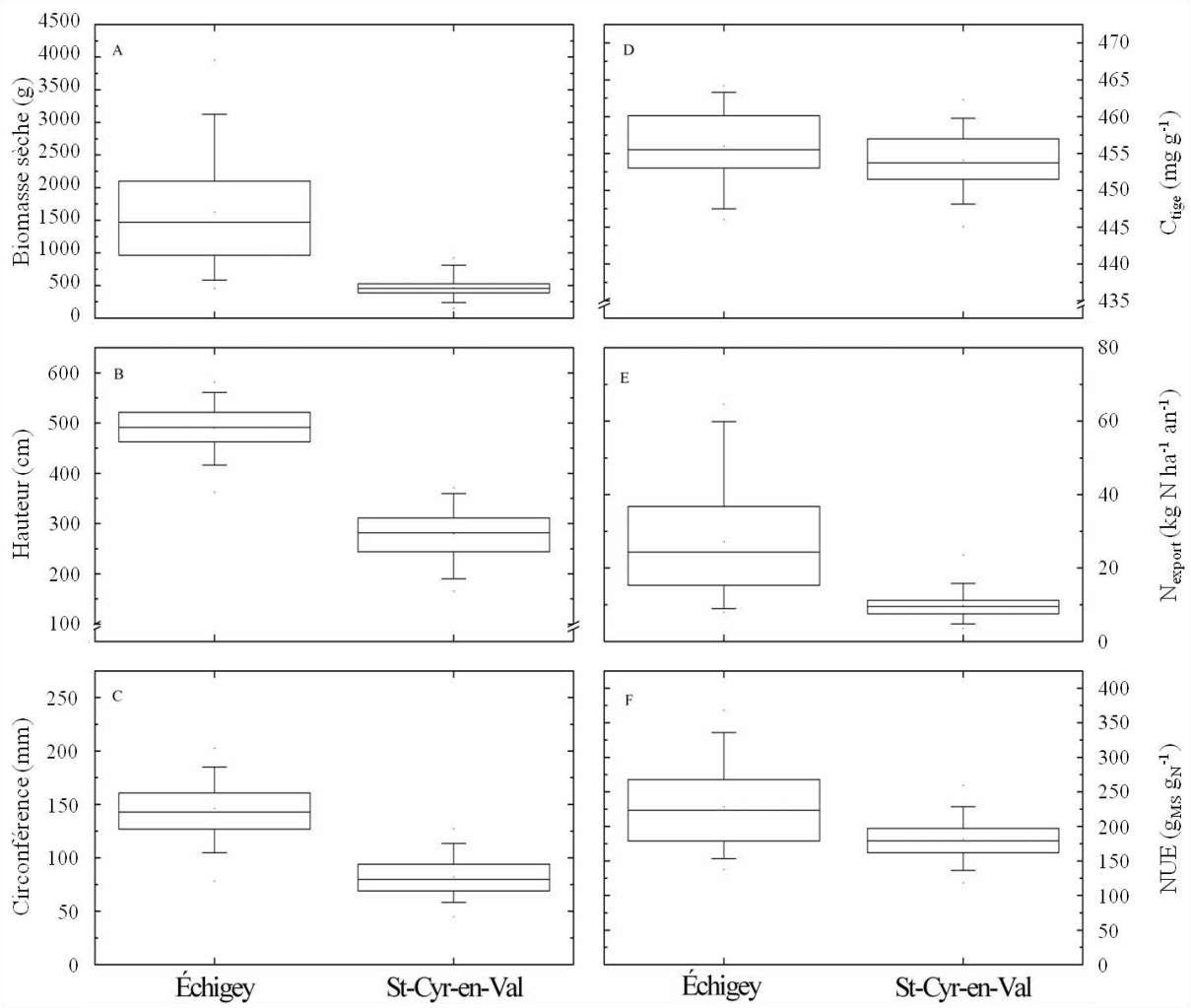


Figure 9. Boîtes à moustaches de la biomasse sèche aérienne (A), la hauteur (B), la circonférence (C), la teneur en carbone de la tige (C_{tige}) (D), le taux d'exportation d'azote (N_{export}) (E) et NUE (F) à Échigey et à Saint-Cyr-en-Val. Chaque boîte représente le quartile situé au dessous (Q1) et au dessus (Q3) de la valeur médiane. La ligne horizontale au sein de chaque boîte représente la médiane génotypique. Les barres verticales représentent les valeurs minimales et maximales, excepté pour les génotypes qui sont à plus de 1,5 fois du haut de l'interquartile (Q3 – Q1).

Cependant, la majorité des travaux rapporte des rendements variant de 10 t ha^{-1} an^{-1} à 15 t ha^{-1} an^{-1} pour *P. trichocarpa* (Hofmann-Schielle *et al*., 1999), *P. trichocarpa* × *P. deltoides* (Berthelot, 2001 ; Laureysens *et al*., 2004 ; Rae *et al*., 2004, 2008 ; Vande Walle *et al*., 2007 ; Marron *et al*., 2010) et *P. deltoides* × *P. nigra* (Aravanopoulos, 2010 ; Marron *et al*., 2010) en l'absence de fertilisation et d'irrigation. Les valeurs plus élevées de biomasse de cépée, rendement, et N_{export} observées à Échigey peuvent être en partie expliquées par les conditions environnementales de croissance des arbres. En effet, le site d'Échigey présentait un sol à la fois plus riche en nutriments et mieux alimenté en eau (Chapitre 2.1). Ainsi, au cours de la seconde saison de végétation (année des mesures), le site d'Échigey avait reçu 382 mm de précipitations estivales alors que le site de Saint-Cyr-en-Val n'en recevait que 189 mm (Chapitre 2.1). De la même manière, les hauteurs les plus importantes ont été observées à Échigey. Ce résultat est en accord avec la relation linéaire et positive entre hauteur et disponibilité en azote du sol observée par Fang *et al*. (2008). Toutefois, l'effet de la teneur en azote du sol ne peut pas être dissocié de celui lié au cumul des précipitations estivales dans cette étude ; l'effet du contexte pédoclimatique global est discuté. Il a par ailleurs été observé que la température, la texture du sol, l'humidité du sol ou encore la quantité de nutriments disponibles dans le sol pour les plantes affectaient leur croissance. Ainsi, la productivité était favorisée sur les sols riches et/ou bien alimentés en eau pour des espèces telles que le peuplier (Berthelot, 2001 ; Liberloo *et al*., 2004 ; Zhang *et al*., 2005 ; Marron *et al*., 2007 ; Fang *et al*., 2008 ; Monclus *et al*., 2009 ; Fichot *et al*., 2010) ou le saule (Martin & Stephens, 2006 ; Glynn *et al*., 2007 ; Sevel *et al*., 2012) (**Chapitre 3**). Cependant, d'autres auteurs n'ont pas mis en évidence de différence de productivité en réponse à une fertilisation azotée pour des peuplier et des saules cultivés en TTCR suggérant que l'azote n'était pas un nutriment limitant la croissance des arbres dans les conditions pédoclimatiques de leur étude (Balasus *et al*., 2012).

Les valeurs de NUE observées dans cette étude, variant de 118 kg MS kg^{-1} N à 368 kg MS kg^{-1} N, étaient comparables à celles rapportées dans la littérature pour les peupliers (variant de 145 kg MS kg^{-1} N à 450 kg MS kg^{-1} N ; Heilman & Stettler, 1986 ; Lodhiyal *et al*., 1995a ; Lodhiyal & Lodhiyal, 1997 ; Jug *et al*., 1999 ; Berthelot *et al*., 2000 ; Li *et al*., 2012) et pour les saules (204 kg MS kg^{-1} N à 344 kg MS kg^{-1} N) (Adegbidi *et al*., 2001 ; Tharakan *et al*., 2005). Ces valeurs étaient également comparables voir légèrement plus élevées que celle rapportées pour le miscanthus (135 kg MS kg^{-1} N à 200 kg MS kg^{-1} N ; (Beale & Long, 1997 ;

Jørgensen, 1997 ; Jørgensen & Schelde, 2001) et plus faibles que celles rapportées pour l'eucalyptus (155 kg MS kg^{-1} N à 822 kg MS kg^{-1} N ; Herbert, 1996 ; Laclau *et al*., 2000 ; Safou-Matondo *et al*., 2005). Les valeurs de NUE étaient plus élevées à Échigey qu'à Saint-Cyr-en-Val (respectivement 228,1 kg MS kg^{-1} N *vs*. 181,8 kg MS kg^{-1} N). Ces résultats ne sont pas en accord avec le principe fondamental de la théorie de NUE qui est que les plantes croissant dans un environnement pauvre en azote sont moins productives mais plus efficientes pour utiliser l'azote que les plantes se développant dans un milieu riche en azote (Berendse & Aerts, 1987 ; Adegbidi *et al*., 2001 ; Gornall & Guy, 2007 ; Adler *et al*., 2008 ; Weih *et al*., 2011). Ainsi, il a été montré qu'une diminution de la disponibilité en azote était souvent associée à une augmentation de NUE pour de nombreuses espèces ligneuses telles que *Pinus resinosa* Ait., *Acer pensylvanicum* L. et *Prunus pensylvanica* L. (Elliott & White, 1993), y compris pour le peuplier (Kubiske *et al*., 1997 ; Rivest *et al*., 2009). Par ailleurs, il a été observé que l'efficience d'utilisation de l'azote augmentait avec l'âge (et donc la longueur des cycles de rotations) par l'intermédiaire de l'augmentation du rapport écorce/bois (Lodhiyal *et al*., 1995b). Il a en effet été rapporté par de nombreux auteurs que l'écorce est plus riche en azote que le bois (Hansen & Baker, 1979 ; Cromer & Williams, 1982 ; Ericsson *et al*., 1992 ; Laclau *et al*., 2000). Les concentrations en azote sont plus élevées dans l'écorce que dans le bois à cause d'une activité métabolique importante et d'une fonction de stockage dans les tiges afin de servir de réserve pour permettre la reprise de croissance l'année suivante. Cela a été observé pour le saule (Sander & Ericsson, 1998) et le peuplier (Heilman & Stettler, 1986). Ainsi, sachant que les arbres de Saint-Cyr-en-Val étaient plus petits que ceux d'Échigey, leur proportion d'écorce par rapport à la biomasse totale de la tige devait être plus importante, entrainant ainsi des valeurs plus élevées de N_{tige} et donc de plus faibles valeurs de NUE. Considérant cela, et sachant que les futurs cycles dureront au moins trois ans, les valeurs de NUE devraient augmenter par rapport à la première rotation en raison de la diminution de la proportion d'écorce dans la biomasse récoltée (Adegbidi *et al*., 2001). Cette hypothèse est appuyée par le fait que la gamme de variation de N_{tige} observée dans notre étude (4,4 mg g^{-1} à Saint-Cyr-en-Val et 4,7 mg g^{-1} à Échigey) était comparable à celles rapportées dans la littérature pour des jeunes plants de peupliers et de saules (Alban, 1985 ; Nilsson & Ericsson, 1986 ; Ericsson *et al*., 1992 ; Jug *et al*., 1999), mais supérieure à celle reportée pour des peupliers plus âgés (de 5 à 8 ans : 1,2 mg g^{-1} ; Lodhiyal *et al*., 1995b). Cette différence, bien

que dépendante de la biomasse totale, illustre bien le risque d'appauvrissement des sols en azote lié à l'exportation de bois jeune dans les systèmes de culture à très courte rotation.

La gamme de variation observée pour N_{export} (de 7,9 kg N ha^{-1} an^{-1} à 64,6 kg N ha^{-1} an^{-1} à Échigey et de 3,3 kg N ha^{-1} an^{-1} à 23,5 kg N ha^{-1} an^{-1} à Saint-Cyr-en-Val) englobait celles observées pour des génotypes de *P. deltoides* (de 7,8 à 12,9 kg N ha^{-1} an^{-1} ; Swamy *et al*. 2006), de *P. trichocarpa* (de 18 kg N ha^{-1} an^{-1} à 58,2 kg N ha^{-1} an^{-1} ; Heilman & Norby, 1998 ; Jug *et al*., 1999), de *P. trichocarpa* × *P. deltoides* (de 2 kg N ha^{-1} an^{-1} à 25 kg N ha^{-1} an^{-1} : Gelhaye *et al*., 1997 ; Berthelot *et al*., 2000), de *P. maximoviczii* × *P. nigra* (11,2 kg N ha^{-1} an^{-1} à 16,8 kg N ha^{-1} an^{-1} ; Balasus *et al*., 2012) et de *P. nigra* × *P. trichocarpa* (13 kg N ha^{-1} an^{-1} ; Cote & Camire, 1984). Cependant, les résultats mis en évidence dans notre étude étaient comparables pour le site d'Échigey mais inférieurs pour le site de Saint-Cyr-en-Val à ceux rapportés pour le saule cultivé en TTCR (de 18 kg N ha^{-1} an^{-1} à 86 kg N ha^{-1} an^{-1} ; Heilman & Norby, 1998 ; Adegbidi *et al*., 2011), ou encore l'eucalyptus (de 13 kg N ha^{-1} an^{-1} à 30 kg N ha^{-1} an^{-1} ; Merino *et al*., 2005 ; Safou-Matondo *et al*., 2005). Ces plus faibles taux d'exportation d'azote peuvent être expliqués d'une part, par la plus petite taille des arbres et d'autre part, par le fait que dans notre étude, les dispositifs n'étaient pas fertilisés contrairement à certaines des études citées ci-dessus.

Des interactions significatives entre génotype et environnement ont été mises en évidence pour tous les caractères étudiés suggérant que les génotypes ne répondaient pas de la même façon à leur environnement de croissance. Cet effet d'interaction peut être dû soit à des modifications des classements des génotypes entre sites, soit à une différence de gamme de variation entre génotypes aux deux sites, soit à une combinaison des deux effets. Bien que les coefficients de Spearman entre sites soient dans certains cas significatifs, les valeurs de coefficients faibles à modérées montraient que les classements des génotypes étaient peu conservés pour la plupart des caractères. Ces résultats suggèrent qu'en fonction du site où la culture sera installée, il faudra adapter la sélection des génotypes afin d'obtenir une productivité maximale.

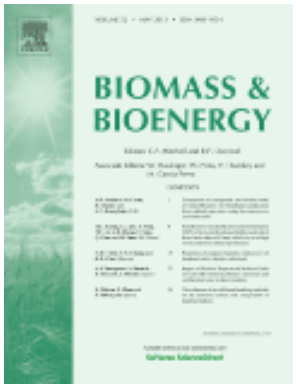
Une corrélation positive, mais modérée, entre la hauteur et NUE aux deux sites a été observée dans cette étude. Ces résultats suggèrent que les génotypes les plus productifs seraient également les plus efficients pour utiliser l'azote.

4. Conclusion

Cette étude a permis de mettre en évidence une importante gamme de variation pour tous les caractères étudiés aux deux sites. Les génotypes cultivés sur le site d'Échigey montraient des valeurs de biomasse, rendement, NUE et N_{export} plus élevées que ceux cultivés sur le site de Saint-Cyr-en-Val. Le classement des génotypes était peu conservé entre les deux sites pour la plupart des caractères. Les génotypes les plus productifs et les plus efficients pour utiliser l'azote étaient également ceux responsables des plus fortes exportations d'azote de la plantation lors des récoltes. En effet, bien que les génotypes les plus productifs aient une NUE élevée, leur forte production de biomasse entraînait une exportation d'azote de la plantation plus importante que les génotypes moins productifs au moment de la récolte. Cette étude devra être poursuivie pour des cycles de rotation successifs. En effet, les résultats présentés ici sont issus de la première rotation, qui consiste en une phase d'installation de la culture. De plus, les arbres n'ayant pas été recépés à la fin de la première année de croissance, ils étaient principalement composés d'une ou deux tiges et le système de culture en taillis n'était pas encore mis en place. Il serait également intéressant d'étudier l'effet de la densité de plantation sur NUE pour ces mêmes hybrides de peuplier. Cela pourra être testé soit en réalisant des carottes de bois dans les troncs des arbres cultivés en TCR, soit en attendant la fin du cycle de production (huit ans). Ces résultats pourront aussi être comparés à d'autres hybrides de peupliers, d'autres espèces utilisées dans les plantations à vocation bioénergétique telles que le saule, le robinier ou l'eucalyptus et sous d'autres contextes pédoclimatiques.

CHAPITRE 3

VARIABILITE ET PLASTICITE DE LA PRODUCTIVITE ET DE L'EFFICIENCE D'UTILISATION DE L'EAU ET DU TAUX D'EXPORTATION D'AZOTE DU SAULE EN TTCR



Variabilité et plasticité de la productivité, de l'efficience d'utilisation de l'eau et du taux d'exportation d'azote du saule en TTCR

Julien Toillon, Erwin Dallé, Muriel Feinard-Duranceau, Franck Brignolas & Nicolas Marron

Accepté pour publication par la revue Biomass & Bioenergy le 22 mai 2013

Résumé de l'article

Les taillis à très courte rotation (TTCR) de saule à vocation bioénergétique devraient jouer un rôle important dans la production de biomasse. Ces plantations sont caractérisées par de fortes densités de plantation associées à de fréquentes récoltes pouvant entrainer une diminution rapide des ressources du sol. L'utilisation de génotypes capables de produire une importante quantité de biomasse en utilisant de moindres quantités d'eau et de nutriments pourrait limiter l'appauvrissement en eau et azote du sol. Dans ce contexte, les objectifs étaient d'évaluer parmi six génotypes de saule *(i)* la variabilité de caractères liés à la productivité (*e.g.* biomasse-bois aérienne, hauteur de la tige), les teneurs en azote de la feuille et de la tige, le taux d'exportation d'azote de la plantation et l'efficience d'utilisation de l'eau *via* la discrimination isotopique vis-à-vis du carbone 13 ($\Delta^{13}C$), *(ii)* les relations entre ces caractères et *(iii)* la plasticité de ces caractères et de leurs relations en réponse à différents contextes pédoclimatiques. Les six génotypes de saule ont été plantés en TTCR sur trois sites dans le nord de la France. Ces sites se différenciaient principalement par leurs précipitations et teneurs en eau du sol. Une variabilité génotypique significative a été observée pour tous les caractères étudiés à l'exception du taux d'exportation d'azote. Les valeurs de chaque caractère étaient modulées par le contexte pédoclimatique. Le classement des génotypes entre sites pour les caractères liés à la productivité et $\Delta^{13}C$ était également dépendant du site. Quel que soit le site, $\Delta^{13}C$ était corrélé négativement avec la biomasse-bois aérienne et/ou la hauteur de l'individu suggérant que les génotypes les plus productifs étaient aussi les plus efficients vis-à-vis de l'utilisation de l'eau. En conclusion, aucun antagonisme n'a été mis en évidence entre la production de biomasse et WUE. Les génotypes les plus productifs et efficients vis-à-vis de l'utilisation de l'eau étaient ceux responsables des plus forts taux d'exportation d'azote de la plantation.

BIOMASS AND BIOENERGY 56 (2013) 392–404

Available online at www.sciencedirect.com

SciVerse ScienceDirect

http://www.elsevier.com/locate/biombioe

Variability and plasticity of productivity, water-use efficiency, and nitrogen exportation rate in *Salix* short rotation coppice

Julien Toillon [a,b,c,d], *Bénédicte Rollin* [a,b], *Erwin Dallé* [a,b], *Muriel Feinard-Duranceau* [c,d,e], *Jean-Charles Bastien* [f], *Franck Brignolas* [c,d], *Nicolas Marron* [a,b,*]

[a] INRA, UMR 1137 Ecologie et Ecophysiologie Forestières, F-54280 Champenoux, France
[b] Université de Lorraine, UMR 1137 Ecologie et Ecophysiologie Forestières, F-54500 Vandœuvre-lès-Nancy, France
[c] Université d'Orléans, UFR-Faculté des Sciences, UPRES EA 1207 Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures, BP 6759, F-45067 Orléans, France
[d] INRA, USC 1328 Arbres et Réponses aux Contraintes Hydriques et Environnementales, BP 6759, F-45067 Orléans, France
[e] Université d'Orléans, IUFM Centre Val de Loire, F-36000 Châteauroux, France
[f] INRA, UR 0588 Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, F-45075 Orléans, France

ARTICLE INFO

Article history:
Received 7 May 2012
Received in revised form
30 November 2012
Accepted 20 May 2013
Available online xxx

Keywords:
Willow
Bioenergy plantation
Biomass production
Genotype × Site interaction
Nitrogen removal
Bulk leaf carbon isotope discrimination ($\Delta^{13}C$)

ABSTRACT

Short rotation coppice (SRC) willow plantations may play an important role in the future for biomass production purposes. However, the high planting density schemes combined with the frequent harvests occurring in such plantations could rapidly deplete soil resources. The use of genotypes able to produce greater amounts of biomass by using the least water and nutrients may help mitigating this risk. This study aimed at assessing among six willow genotypes (1) the variability of traits related to productivity (*e.g.* aboveground dry biomass or stem height), leaf and wood nitrogen (N) contents, N exportation rate and water-use efficiency (WUE) as estimated through bulk leaf carbon isotope discrimination ($\Delta^{13}C$), (2) the relationships among traits, and (3) the plasticity of these traits and of the relationships among them across different sites. The six genotypes were grown under SRC at three sites in northern France differing primarily in pedoclimatic characteristics for two years. A significant genotypic variability was found for all traits, except for the N exportation rate. The pedoclimatic context impacted the values of all traits, and the genotypic ranking for traits related to productivity and for $\Delta^{13}C$. $\Delta^{13}C$ was negatively correlated with total shoot dry biomass and/or height irrespective of the site, meaning that the most productive genotypes were also the most efficient to use water. In conclusion, no antagonism was detected between biomass production and WUE. The most productive and most water-use efficient genotypes were the ones responsible for the highest nitrogen removal from the plantation during harvest.

© 2013 Elsevier Ltd. All rights reserved.

* *Corresponding author*. INRA Nancy, UMR 1137 Ecologie et Ecophysiologie Forestières, Route d'Amance, F-54280 Champenoux, France. Tel.: +33 (0)3 83 39 73 30; fax: +33 (0)3 83 39 40 22.
E-mail addresses: julien.toillon@nancy.inra.fr (J. Toillon), benedicte.rollin@onf.fr (B. Rollin), erwin.dalle@nancy.inra.fr (E. Dallé), muriel.feinard-duranceau@univ-orleans.fr (M. Feinard-Duranceau), jean-charles.bastien@orleans.inra.fr (J.-C. Bastien), franck.brignolas@univ-orleans.fr (F. Brignolas), nicolas.marron@nancy.inra.fr (N. Marron).
0961-9534/$ – see front matter © 2013 Elsevier Ltd. All rights reserved.
http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2013.05.017

1. Introduction

The increasing importance of renewable energy in the present geopolitical and environmental context has aroused renewed interest in the cultivation of plants for bioenergy production. Tree cultivation under short-rotation coppice (SRC) may play an important role in the near future because of their favorable environmental footprint as compared to annual crops [1]. In the temperate zone, four different tree genera are mostly used in SRC in order to produce biomass: poplars (*Populus* spp. L.), willows (*Salix* spp. L.), eucalyptus (*Eucalyptus* spp. L'Her.), and black locust (*Robinia* spp. L.) [2–4]. These trees are used because of their rapid growth and their good coppicing ability [1,2].

Willows are currently cultivated in SRC in northern Europe with high planting densities, from 10,000 to 12,000 trees per hectare (ha) associated with frequent harvests, every two to three years, in a production cycle varying between 15 and 20 years [5,6]. Willow SRC can reach high yields, from 4 to 26 tons of dry matter (DM) per ha and per year depending both on rotation length and pedoclimatic conditions [5,7,8]. In the absence of fertilization, the large number of trees per ha associated with frequent exportations of woody material may alter soil fertility. The identification and deployment of genotypes displaying high productivity per unit water and nitrogen, can contribute to limit water consumption and N exportations.

Whole-plant water-use efficiency (WUE), defined as the ratio of total biomass produced to water used during the same period, has been shown to vary greatly among genotypes [9–11]. Intrinsic water-use efficiency (WUE_i), ratio of leaf net CO_2 assimilation to stomatal conductance to water vapor, is a direct estimator of WUE measured at an instantaneous scale [12–15]. A time-integrated value of WUE_i can be gained over the leaf-life span through bulk leaf carbon isotope discrimination ($\Delta^{13}C$) because of their linear and negative relationship highlighted in many species including willows [13]. Few studies have addressed the plasticity of WUE in response to environmental variations. The range of $\Delta^{13}C$ was found to be at least 0.2‰ among willow genotypes under limiting water supply, and varying at least by 1.9‰ with different levels of water availabilities [16–19]. To our knowledge, only one recent study has estimated the plasticity of $\Delta^{13}C$ in response to various pedoclimatic contexts using four north American willow genotypes [20], while this topic has hardly been studied in European commercialized willow genotypes. The absence of relationship [18,19], as well as either positive [19] or negative relationships [18,20] between $\Delta^{13}C$ and productivity have been reported.

There is much concern regarding the possibility that high production of short-rotation crops will impoverish the pool of soil nutrients, and particularly N, due to high losses of nutrients incorporated in the shoot biomass, especially in case of short harvest cycles [21]. It has indeed been observed that short-rotation intensive cultures of fast growing woody species have higher rates of N removal by harvest than medium-rotation and mature forests. The higher bark:wood ratio of the younger stems in SRC systems (reaching almost 20% in young willow stands [22]) and the higher N concentration of the bark are important factors contributing to the higher N removal [21]. In fertilized herbaceous energy crops such as miscanthus or switchgrass, N removal by harvest is generally high, but the comparison with SRC is tricky because fertilization of SRC is not a commonly adopted practice, except using residues [23,24]. In large-scale agricultural systems, maximizing biomass production and lower nutrient removal are desirable from both economic and sustainability perspectives. Where willow biomass crops are used in buffer strips to manage nutrients from agricultural fields or in systems to manage wastes like biosolids, manure or wastewater, clones with high nutrient removal will be the most effective in managing nutrient loads. Few data have been published on N removal in willows [25,26].

The present study was done with six European commercialized willow genotypes. The objectives were: (1) to estimate the genotypic variability of WUE, *via* bulk leaf carbon isotope discrimination, traits related to productivity (*e.g.* bud phenology, growth duration, tree dimensions, biomass production), and N exportation rate, (2) to evaluate the relationships among the three categories of traits, and (3) to evaluate the plasticity of these traits and of the relationships among them across three sites in northern France.

2. Materials and methods

2.1. Study sites

The experiments were carried out at three willow SRC plantations located in northern France at Guémené-Penfao (GP, Loire-Atlantique), Brinon-sur-Sauldre (Br, Cher) and Échigey (Ech, Côte-d'Or) (Table 1). GP and Br are characterized by an oceanic climate with mild annual temperatures, while Ech is characterized by a continental climate with frost temperatures in winter and high temperatures in summer. Meteorological data were obtained from the closest meteorological station at each site (Météo France, Table 1). During the time course of the experiment, Ech had the highest precipitations (802 mm), while GP and Br received the lowest amounts (*ca.* 680 mm for the two sites). Mean annual temperature was comparable between sites (Table 1).

At the three sites, soil moisture (%) was monitored using water content reflectometer (model CS616, TDR type, Campbell Scientific, Logan, UT, USA) at 20 cm depth. Data were collected automatically every 15 min and stored on a logger (model CR 1000, Campbell Scientific, Logan, UT, USA). Mean summer soil relative humidity values (May – August) are presented in Table 1. On average, soil humidity was more than three times higher in Ech than in GP.

Before planting, 20 spatially distributed soil samples were collected at each site at 0–20 and 20–40 cm depths (ten samples per depth), each sample being a composite of 16 subsamples. Soil texture (% sand/% silt/% clay), composition (*i.e.* organic matter (OM, g kg^{-1}), carbon content (C, g kg^{-1}), and nitrogen content (N, g kg^{-1}), using Dumas method), and pH were determined in 2010 by the service unit 10 Soil Analysis Laboratory of Arras (US10, LAS Arras, INRA Lille, France). Extensive descriptions of the methods used can be found at: http://www5.lille.inra.fr/las/methodes_d_analyse/Sols. The

Table 1 – Description of the three sites.

Site	Guémené-Penfao	Brinon-sur-Sauldre	Échigey
Geographical localization			
Latitude	47°37′N	47°33′N	47°10′N
Longitude	1°49′W	2°33′E	5°11′E
Altitude (m asl)	43	140	197
Climate condition			
MAT (°C)	11.1	10.7	10.6
TAP (mm)	682	683	802
MST (°C)	16.7	17.0	17.4
TSP (mm)	148	257	382
Soil characteristics			
MSSRH (%)	17.5 ± 0.3^{a}	27.7 ± 0.5^{b}	53.1 ± 0.5^{c}
% Sand	37.5 ± 2.1^{b}	85.2 ± 1.7^{c}	5.8 ± 0.9^{a}
% Silt	40.8 ± 1.1^{b}	9.5 ± 1.1^{a}	42.5 ± 4.1^{b}
% Clay	19.7 ± 0.8^{b}	4.2 ± 0.2^{a}	51.6 ± 3.1^{c}
pH	6.8 ± 0.9^{b}	5.9 ± 0.1^{a}	7.5 ± 0.8^{c}
Organic matter (g kg^{-1})	39.4 ± 1.6^{b}	9.9 ± 0.4^{a}	62.1 ± 6.4^{c}
Nitrogen (g kg^{-1})	1.7 ± 0.1^{b}	0.6 ± 0.03^{a}	3.2 ± 0.3^{c}
Carbon (g kg^{-1})	22.8 ± 0.9^{b}	5.7 ± 0.2^{a}	35.9 ± 3.7^{c}

asl: above sea level, MAT: mean annual temperatures (2009–2010), TAP: total annual precipitations (2009–2010), MST: mean summer temperatures (from May to August 2010), TSP: total summer precipitations (from May to August 2010), MSSRH: mean summer soil relative humidity. When the site effect was significant, different superscript letters indicate differences among sites using the Scheffe's method for Post'hoc analyses.

GP soil was a loamy type, the Br soil was a sandy type, and the Ech soil was a silty–clay type. The soil of Br had the lowest amount of OM, organic C, total N, and pH, while the soil of Ech had the highest amount of OM, organic C, total N, and highest pH; the GP soil showed an intermediate composition (Table 1).

2.2. Experimental design

The three plantations were established using 25-cm-long woody-stem willow cuttings in a double row design (0.75 × 0.75 m spacing within double rows, 2 m between double rows, 9697 plants ha^{-1}) in April 2009. No water or fertilizer supply were added on the experimental plots. Herbicide was applied on each field trial just after plantation in order to control weedy vegetation (3.5 L ha^{-1} GARDENET Paysage, Dow AgroScience SAS, Mougin, France). No harvest was realized after the first growing season (winter 2009–2010). Each stool was composed of one to three stems.

At each site, six commercialized willow clones from different genetic backgrounds (Table 2) were planted in five randomized blocks divided into monoclonal subplots. Each subplot was composed of five double rows of 12 plants (120 plants, approximately 124 m^2). One double row was planted around the plantations in order to minimize border effects.

2.3. Measurements

All measurements (except the relationships between gas exchange and $\Delta^{13}C$) were realized during the second growing season on two randomly selected individuals per subplot ($n = 10$), per genotype ($n = 60$), and per site ($n = 180$). Individuals were selected apart from the two edge rows on each subplot side. Phenology and growth monitoring were done at GP and Ech only, because these two sites were the most contrasted in terms of precipitations and soil water content (Table 1). Measurement periods of the different traits are listed in Table 3.

2.3.1. Traits related to productivity

Phenology was characterized by the dates of bud burst and bud set at GP and Ech in 2010. From the beginning of March, the top of the main stem was observed weekly and the bud burst date (day of the year, DOY) was estimated using a five level scale [27,28]; the apical bud was considered opened

Table 2 – Characteristics of the six willow clones used in the study.

Parentage	Name	Breeding number	Sex	Release date	Authorities
S. viminalis × (*S. schwerinii* × *S. viminalis*)	'Olof'	SW930387	M	1998	Svalöf Weibull AB, Svalöf, Sweden
S. schwerinii × *S. viminalis*	'Tora'	SW910007	F	1996	
(*S. schwerinii* × *S. viminalis*) × *S. viminalis*	'Tordis'	SW960299	F	2000	
(*S. schwerinii* × *S. viminalis*) × *S. viminalis*	'Torhild'	SW930725	F	1997	
[(*S. viminalis* × *S. Schwerinii*) × *S. viminalis* × (*S. viminalis* × *S. schwerinii*)] × *S. viminalis*	'Resolution'	LA980414	F	2002	European Willow Breeding Partnership[a]
(*S. viminalis* × *S. triandra*) × *S. miyabeana*	'Terra_Nova'	LA980132	F	2005	

a Consortium initiated in 1996 and composed by Long Ashton Research Station (LARS), Murray Carter Ltd., and Svalöf Weibull AB.

when the shoot tip was at least 5 mm long. Similarly, from the end of August, the top of the dominant stem was monitored weekly; the bud set date (DOY) was considered when the shoot apex was aborted (stage 90 of the BBCH (Biologishe Bundesanstalt, Bundessortenamt and CHemical industry) scale) [27,29]. The length of the growing season (GSL, days) was then calculated as the difference between bud set and bud burst dates.

In Ech and GP, height (Height, cm) of the dominant stem was monitored every two weeks to the nearest centimeter using a graduated height pole. At the three sites, stem height and circumference (Circ, mm, at 20 cm aboveground, to the nearest millimeter using a taper) were measured at the end of the growing season. Leaves on the dominant stem were also counted every two weeks from the beginning of April until the end of September.

All trees were cut back at 5 cm aboveground in January 2011 at the three sites. The fresh weight of the dominant stem was measured separately from the rest of the stool and 20-cm-long samples were collected on each tree at 1 m aboveground. All samples were then weighed before and after being oven-dried at 60 °C during two weeks for the determination of dry/fresh weight ratios. The calculated ratio was then used to compute the total shoot dry biomass per tree (TDB, g_{DM}).

2.3.2. *Wood composition*

The collected wood samples were ground to powder and 2 mg were analyzed for carbon and nitrogen contents (C_{wood} and N_{wood}, respectively) using an elemental analyzer (NCS2500, EA/NA 1110, CE instrument Thermo Quest, Italy); results were expressed on a dry weight basis (mg g_{DM}^{-1}). The N exportation rate (N_{export}, kg N ha^{-1} $year^{-1}$) was then calculated as:

$$(N_{wood} \times TDB) \times (\text{number of stools per hectare})/\text{number of growth years}$$

where N_{wood} is the wood aboveground N content (g kg_{DM}^{-1}) and TDB the total shoot dry biomass (kg_{DM}). The number of stools per ha was equal to 9697 and the duration of growth was two years.

2.3.3. *Leaf traits*

At the end of July 2010, the first fully illuminated mature leaf with maximal leaf area from the top of the dominant stem was collected on each selected plant (2 plants per subplot). Individual maximal leaf area (LA_{MAx}, cm^2) was determined using a leaf area meter (Li-Cor, LI-3000A type, Lincoln, NE, USA). The leaves were then oven-dried at 60 °C for at least 48 h, weighted, and specific leaf area (SLA, cm^2 g_{DM}^{-1}) was calculated as individual

Table 3 – Units, abbreviations, and measurement periods of the traits estimated at the three sites.

Traits (unit)	Abbreviations	Measurement periods		
		Échigey	Guémené-Penfao	Brinon-sur-Sauldre
Phenology				
Bud burst (DOY)	–	March–April 2010		–
Bud set (DOY)	–	August–September 2010		–
Growing season length (days)	GSL	March–September 2010		–
Growth				
Stem height (cm)	Height	March to September 2010		September 2010
Stem circumference (mm)	Circ	September 2010		
Number of leaves	–	April to September 2010		–
Total shoot dry biomass (g_{DM})	TDB	January 2011		
Wood				
Nitrogen content (mg g_{DM}^{-1})	N_{wood}	January 2011		
Carbon content (mg g_{DM}^{-1})	C_{wood}	January 2011		
N exportation rate (kg N ha^{-1} $year^{-1}$)	N_{export}	January 2011		
Leaf				
Individual maximal leaf area (cm^2)	LA_{MAx}	July 2010		
Specific leaf area (cm^2 g_{DM}^{-1})	SLA	July 2010		
Nitrogen content (mg g_{DM}^{-1})	N_{leaf}	July 2010		
Carbon content (mg g_{DM}^{-1})	C_{leaf}	July 2010		
Carbon isotope discrimination (‰)	$\Delta^{13}C$	July 2010		
Leaf gas exchange				
Net CO_2 assimilation rate (μmol CO_2 m^{-2} s^{-1})	A	September 2011	–	–
Stomatal conductance to water vapor (mmol H_2O m^{-2} s^{-1})	g_s	September 2011	–	–
Intrinsic water-use efficiency (mmol CO_2 mol^{-1} H_2O)	WUE_i	September 2011	–	–
Carbon isotope discrimination (‰)	$\Delta^{13}C$	September 2011	–	–

Note: DOY, day of year.

leaf area divided by individual dry mass. Foliar carbon and nitrogen contents (C_{leaf} and N_{leaf}, mg g_{DM}^{-1}) and carbon isotopic composition ($\delta^{13}C$, ‰) were assessed from 1 mg of homogeneous leaf dry powder using an elemental analyzer (NCS2500, EA/NA 1110, CE instrument Thermo Quest, Italy) coupled with an isotope ratio mass spectrometer (Delta S, Finnigan MAT, Bremen, Germany). Carbon isotopic composition was calculated relative to the Vienna Pee Dee Belemnite standard as:

$$\delta^{13}C = ((R_{sample} - R_{standard})/R_{standard}) \times 1000(‰)$$

where R_{sample} and $R_{standard}$ are the $^{13}CO_2/^{12}CO_2$ ratios of the sample and the standard, respectively [12]. Carbon isotope discrimination ($\Delta^{13}C$) between source air and bulk leaf organic material was calculated according to Farquhar and Richards (1984) [30], as:

$$\Delta^{13}C = (\delta_{air} - \delta_{plant})/(1 + (\delta_{plant}/1000))(‰)$$

where δ_{air} is the isotopic composition of the air (assumed to equal −8‰) and δ_{plant} is the isotopic composition of leaf organic matter.

In order to validate the functional relationship between $\Delta^{13}C$ and leaf intrinsic water-use efficiency, leaf gas exchange measurements were carried out in September 12th, 2011 at Échigey (first year of growth of the second rotation, i.e. 1 year-old stem on 3 year-old root system). Net CO_2 assimilation rate (A, µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}) and stomatal conductance to water vapor (g_s, mmol H_2O m^{-2} s^{-1}) were measured using an LI-6400 portable gas exchange system (Li-Cor Biosciences Inc., Lincoln, NE, USA) on a cloudless day between 11.00 am and 03.00 pm local time. Mean of three repeated measurements per plant was done over three blocks of the plantation (one mean per tree, per genotype, and per block, $n = 3$) on the first fully illuminated and expanded mature leaf from the top of the main stem. Measurements were completed with the LED light source set at 1300 µmol photons m^{-2} s^{-1}. Leaf temperature, VPD and CO_2 concentration inside the chamber matched ambient conditions. Measurements were logged after leaf equilibration inside the chambers. Intrinsic water-use efficiency (WUE_i, mmol CO_2 mol^{-1} H_2O) was then calculated as the ratio between A and g_s. The leaves used for the WUE_i measurements were then dried and ground to powder for estimation of nitrogen and carbon contents, and $\Delta^{13}C$.

2.4. Statistical analyses

Results were analyzed with the R software [31]. Data were found to meet the assumptions of homoscedasticity and the normality distribution of residuals. Statistical tests were considered significant at $P \leq 0.05$. Means are expressed with their standard error.

Data were analyzed by a two-way ANOVA using the following model:

$$var = Site + Geno + (Geno \times Site) + e$$

where '*var*' refers to all tested variables, '*Site*' refers to the site effect considered as fixed, '*Geno*' refers to the genotype effect

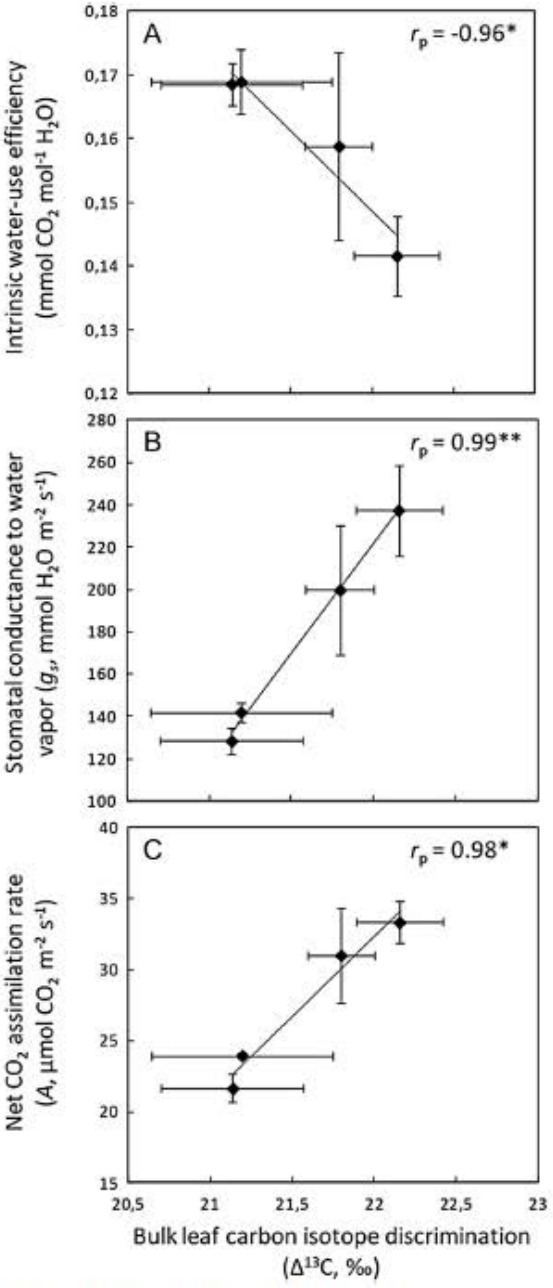


Fig. 1 – Relationship between bulk leaf carbon isotope discrimination ($\Delta^{13}C$) and intrinsic water-use efficiency (WUE_i) (A), stomatal conductance to water vapor (B), and net CO_2 assimilation rate (C) at Échigey. Each dot represents genetic means (±SE) (n = 3 individuals per genotype). Levels of significance: *$P \leq 0.05$ and **$P \leq 0.01$.

considered as random, '*Geno* × *Site*' refers to the genotype by site interaction and 'ε' refers to the residual value of the model.

When a significant '*Geno* × *Site*' interaction effect was highlighted, a one-way ANOVA was run to account independently for the '*Site*' and '*Geno*' effects. In order to classify statistical differences among sites, Post'hoc tests were realized according to the Scheffe's method. For the monitoring of growth and phenology, comparisons in time were done using the General Linear Model (GLM) procedure for repeated measurements (Split Plot in Times). Differences among sites in genotype ranking were analyzed by calculating rank correlation coefficients (Spearman's rank coefficient, r_s) from genotypic means.

For each site, relationships among variables were computed by linear correlations (Pearson correlation coefficients, r_p). For

Table 4 – General means (±SE) (n = 10 individuals per genotype), genotypic range of variation, and level of significance of Site × Genotype interaction (S × G), Site (S) and Genotype (G) effects (GP: Guémené-Penfao, Br: Brinon-sur-Sauldre, and Ech: Échigey) for phenology, plant growth, wood, and leaf traits.

	Site	Mean ± SE	Genotypic range	Two-way ANOVA		
				S × G	S	G
Phenology traits						
Bud burst (DOY)	GP	66.8 ± 0.6^{a}	63.0–71.4	***	*	***
	Br	–	–			
	Ech	69.1 ± 1.4^{b}	60.0–79.2			
Bud set (DOY)	GP	248.6 ± 1.1^{a}	243.0–261.2	ns	***	***
	Br	–	–			
	Ech	263.2 ± 1.5^{b}	256.8–270.8			
GSL (days)	GP	181.8 ± 1.2^{a}	173.7–193.3	ns	***	***
	Br	–	–			
	Ech	194.1 ± 1.8^{b}	185.8–208.2			
Plant growth traits						
TDB (g_{DM})	GP	137.0 ± 11.3^{a}	74.7–186.5	***	***	***
	Br	269.5 ± 22.7^{b}	176.6–463.5			
	Ech	653.3 ± 73.3^{c}	312.0–1096.7			
Height (cm)	GP	242.5 ± 6.9^{a}	201.7–307.1	ns	***	***
	Br	332.2 ± 10.9^{b}	285.6–381.8			
	Ech	410.8 ± 13.2^{c}	366.6–499.8			
Circ (mm)	GP	54.8 ± 1.2^{a}	50.2–60.9	ns	***	*
	Br	58.8 ± 1.8^{a}	51.4–64.8			
	Ech	75.5 ± 2.7^{b}	64.0–79.8			
Wood traits						
N_{wood} (mg g_{DM}^{-1})	GP	4.2 ± 0.1^{a}	2.6–4.9	***	***	***
	Br	5.1 ± 0.2^{b}	4.4–6.3			
	Ech	4.6 ± 0.1^{ab}	3.9–5.0			
C_{wood} (mg g_{DM}^{-1})	GP	464.4 ± 0.4^{b}	461.7–466.7	***	***	***
	Br	458.3 ± 0.8^{a}	455.1–462.3			
	Ech	471.2 ± 1.1^{c}	462.5–477.2			
N_{export} (kg ha^{-1} $year^{-1}$)	GP	2.82 ± 0.26^{a}	1.31–4.51	**	***	ns
	Br	6.93 ± 0.54^{b}	3.93–10.90			
	Ech	14.18 ± 1.36^{c}	7.10–19.09			
Leaf traits						
LA_{MAX} (cm^2)	GP	12.6 ± 0.6^{a}	9.0–17.2	**	***	***
	Br	24.4 ± 1.6^{b}	17.4–35.6			
	Ech	24.3 ± 1.3^{b}	16.8–29.3			
SLA (cm^2 g_{DM}^{-1})	GP	87.0 ± 1.8^{ab}	80.8–98.0	**	***	**
	Br	89.7 ± 2.0^{b}	81.5–100.1			
	Ech	79.0 ± 2.0^{a}	66.1–87.3			
N_{leaf} (mg g_{DM}^{-1})	GP	16.7 ± 0.4^{a}	14.6–18.5	*	***	**
	Br	23.3 ± 0.7^{b}	19.7–25.1			
	Ech	21.0 ± 0.8^{b}	17.9–26.2			
C_{leaf} (mg g_{DM}^{-1})	GP	466.9 ± 1.1^{b}	462.5–472.0	ns	***	***
	Br	470.3 ± 1.7^{b}	459.3–483.4			
	Ech	458.5 ± 2.2^{a}	448.0–468.6			
$\Delta^{13}C$ (‰)	GP	19.94 ± 0.14	18.69–20.83	ns	*	***
	Br	20.12 ± 0.13	19.26–20.83			
	Ech	20.45 ± 0.19	19.11–21.33			

Levels of significance: *$P \leq 0.05$, **$P \leq 0.01$, and ***$P \leq 0.001$, and ns for non-significant. See the Materials and methods section for trait abbreviations. When the site effect was significant, different superscript letters indicate differences among sites using the Scheffe's method for Post'hoc analyses.

the three sites together, relationships among variables were illustrated by a principal component analysis (PCA) using genotypic means. The variables were standardized and orthogonal factors (i.e. F1 and F2 axis) were successively built as linear combinations of these variables to maximize the fraction of variability explained by these factors. Variables were first represented on the plane defined by the two main factors of the PCA; their coordinates were their linear correlation coefficients (r_p) with these factors. The PCA was built with $\Delta^{13}C$, TDB, Height, Circ, N_{leaf}, C_{leaf}, LA_{MAx}, N_{wood} and C_{wood} as variables.

3. Results

3.1. Gas exchanges and relationships with $\Delta^{13}C$

A negative and linear relationship was highlighted between $\Delta^{13}C$ and WUE_i ($r_p = -0.96$, $P \leq 0.05$) (Fig. 1A). $\Delta^{13}C$ was positively correlated with g_s ($r_p = 0.99$, $P \leq 0.01$) and A ($r_p = 0.98$, $P \leq 0.05$) (Fig. 1B and C), while WUE_i was only negatively correlated with g_s ($r_p = -0.96$, $P \leq 0.05$).

3.2. Genotypic variability and site effect

All studied traits were significantly different among genotypes (G) except N_{export} (Table 4). This effect was dependent on the site (significant genotype by site interaction (G × S)) for all traits except for Height, Circ, C_{leaf} and $\Delta^{13}C$. Using a one-way ANOVA, N_{wood} and N_{export} in GP and Br only were significantly different among genotypes (data not shown). As shown by the significance of the Spearman rank coefficients between GP and Ech, the genotypic ranking was stable for Height ($r_s = 0.83$, $P \leq 0.05$), N_{leaf} ($r_s = 0.89$, $P \leq 0.05$), and LA_{MAx} ($r_s = 0.94$, $P \leq 0.01$). Between Br and Ech, the genotypic ranking was conserved for C_{leaf} only ($r_s = 0.94$, $P \leq 0.01$).

All traits were significantly different between sites ($P \leq 0.05$). The lowest values of TDB, Height, Circ, N_{export},

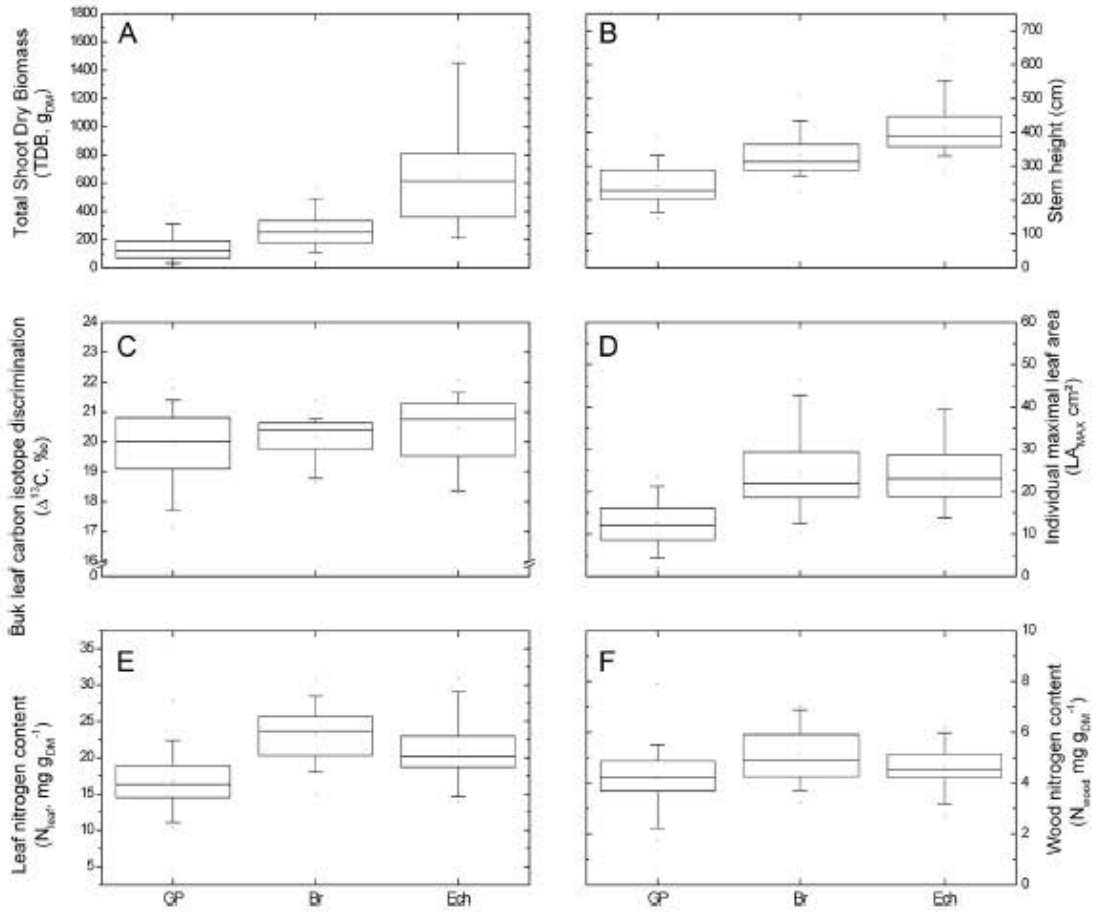


Fig. 2 – Box plots for total shoot dry biomass (TDB, g_{DM}) (A), dominant stem height (cm) (B), bulk leaf carbon isotope discrimination ($\Delta^{13}C$, ‰) (C), individual maximum leaf area (LA_{MAx}, cm^2) (D), leaf nitrogen content (N_{leaf}, mg g_{DM}^{-1}) (E), and wood nitrogen content (N_{wood}, mg g_{DM}^{-1}) (F) recorded in 10 individuals per genotype at Guémené-Penfao (GP), Brinon-sur-Sauldre (Br), and Échigey (Ech). Each box represents the quartile below (Q1) and above (Q3) the median value. Square in the box represents the mean of all individuals. Vertical bars represent minimum and maximum values except for individuals that are away 1.5 times from the top of the interquartile (Q3–Q1) range.

LA_{MAx}, Bud burst, Bud set, and $\Delta^{13}C$ were observed in GP, while the highest values were observed in Ech for most of the traits (Table 4 and Fig. 2). Bud burst started two days earlier in GP than in Ech (day 67 *vs.* day 69, $P \leq 0.05$), and Bud set occurred 14 days earlier in GP than in Ech (day 249 *vs.* 263, $P \leq 0.001$). As a result, the 2010 growing season length was significantly longer in Ech as compared to GP (194 days *vs.* 182 days, respectively, $P \leq 0.001$) (Fig. 3). The dynamic of leaf increment as well as stem height increase showed a similar trend at the beginning of the growing season at GP and Ech (Fig. 3). From early summer, stem height and leaf number became higher at Ech than in GP.

3.3. *Relationships among traits*

In Br and in Ech, the three most productive genotypes ('Olof', 'Terra_Nova', and 'Resolution') were also the three most efficient for water use irrespective of the site (Fig. 4). These three genotypes were also those that exported the highest amount of N from the plantations (data not shown).

The main plane of the PCA, established with the genotypic means of the three sites together, (F1 × F2) (Fig. 5A) explained 61.3% of the genotypic variation, with 41.1% for F1 alone, while the F3 axis did not differentiate significantly the genotypes (data not shown). TDB was correlated with N_{leaf} ($r_p = 0.52$, $P \leq 0.05$), C_{wood} ($r_p = 0.57$, $P \leq 0.05$), and LA_{MAx} ($r_p = 0.69$, $P \leq 0.001$); and N_{leaf} was correlated with LA_{MAx} ($r_p = 0.63$, $P \leq 0.01$). When genotypes were projected in the F1 × F2 plane, they were clearly grouped per site (Fig. 5B).

In complement to the PCA established for the three sites together, Pearson's correlations per site are presented in Table 5. In GP, $\Delta^{13}C$ was negatively correlated with stem height ($r_p = -0.87$, $P \leq 0.05$) and the date of bud set ($r_p = -0.91$, $P \leq 0.05$). C_{wood} was negatively correlated with SLA ($r_p = -0.90$, $P \leq 0.05$) and the date of bud set was positively correlated with the growing season length ($r_p = 0.85$, $P \leq 0.05$). In Br, $\Delta^{13}C$ was negatively correlated with TDB ($r_p = -0.93$, $P \leq 0.01$) (Fig. 4), Circ (-0.93, $P \leq 0.01$), and Height (-0.95, $P \leq 0.05$). In Ech, $\Delta^{13}C$ was negatively correlated with TDB ($r_p = -0.94$, $P \leq 0.01$) (Fig. 4) and N_{leaf} ($r_p = -0.86$, $P \leq 0.05$). N_{leaf} was positively correlated with the growing season length ($r_p = 0.95$, $P \leq 0.01$). C_{wood} was positively correlated with SLA ($r_p = 0.81$, $P \leq 0.05$), LA_{MAx} ($r_p = 0.95$, $P \leq 0.01$), and N_{export} (0.90, $P \leq 0.05$).

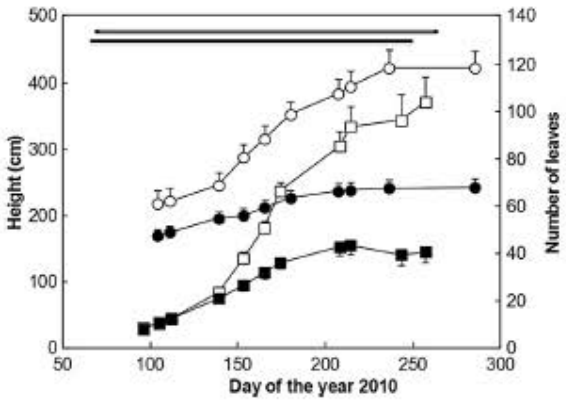


Fig. 3 – Time course of stem height (squares) and leaf increment (circles) during the vegetation season of year 2010 in Guémené-Penfao (closed symbols) and in Échigey (opened symbols). The growing season length is represented as a black bar at Guémené-Penfao and as a gray bar at Échigey. Each dot represents genotypic means (±SE) ($n = 6$ genotypes).

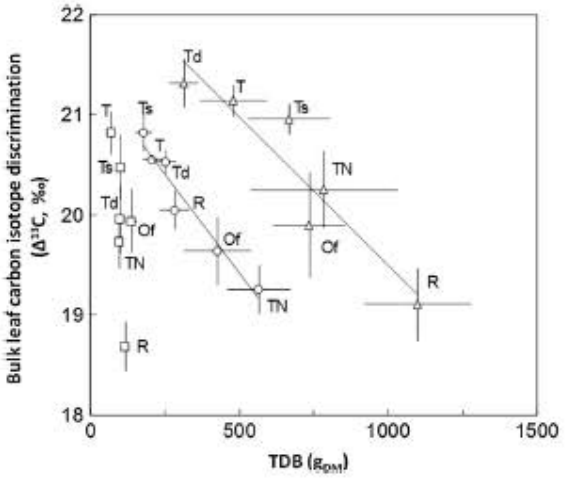


Fig. 4 – Relationships between bulk leaf carbon isotope discrimination ($\Delta^{13}C$, ‰) and total shoot dry biomass (TDB, g_{DM}) at Guémené-Penfao (squares), Brinon-sur-Sauldre (circles) and Échigey (triangles). Each dot represents genotypic means (±SE) ($n = 10$ individuals per genotype). Pearson's correlations are presented in the Result section. Genotypes abbreviations: Of ('Olof'), R ('Resolution'), TN ('Terra_Nova'), T ('Tora'), Ts ('Tordis'), and Td ('Torhild').

4. Discussion

4.1. *Genotypic variation in biomass production, water-use efficiency and nitrogen removal*

A significant genotypic variation was demonstrated for traits related to biomass production, WUE, and leaf and wood traits. Similar levels of variability have already been reported for willow clones [7,17–19]. However, the values of biomass production observed in the present study (ranging between 0.7 tons ha^{-1} $year^{-1}$ for clone 'Tora' in Guémené-Penfao and 10.6 tons ha^{-1} $year^{-1}$ for clone 'Resolution' in Échigey) were lower compared to previously reported values ranging between 14 and 22 tons ha^{-1} $year^{-1}$ [5,25,32]. This difference is probably due to the fact that mineral fertilizers (N, P, K) were not used on our experimental plantations in order to be under similar conditions at the three sites. At higher latitudes than northern France, where the growing season is shorter, temperatures lower, and organic matter mineralization slower (*e.g.* in Sweden where willow SRC are well established), fertilization and irrigation are common practices [9], but it is not the case in central Europe. However, the addition of

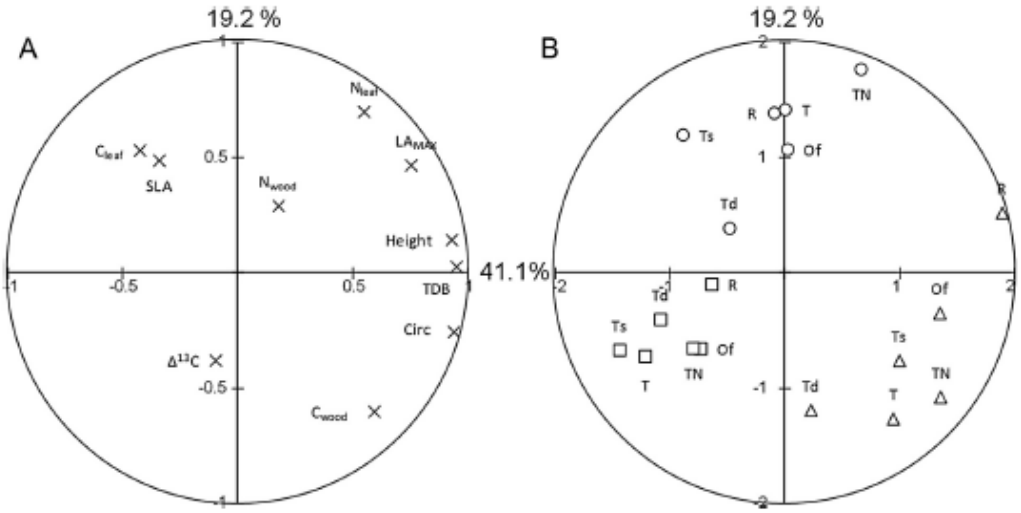


Fig. 5 – The distribution of the variables (A) and the projection of the six willow genotypes at Guémené-Penfao (squares), Brinon-sur-Sauldre (circles), and Échigey (triangles) (B) are shown in the main factorial plane F1 × F2 of the principal component analysis (PCA). The numbers (in %) next to each panel represent the variation explained by the respective principal components. See the Material and methods section for traits abbreviations. Genotypes abbreviations are as in Fig. 4.

fertilizer and water in Guémené-Penfao would make sense with regards to the very low yield achieved at this site. Moreover, the first years of an SRC system are often less productive than the next ones [33,34]. It has indeed been shown that 1- and 2-year cycles are too short to reach maximum yield in Swedish willow production systems [35]. With or without fertilization and irrigation, yield has been shown to be more than four times higher after 3 years as compared to a two-year cycle [26].

The values of $\Delta^{13}C$ were of the same order of magnitude as the ones already reported for riverside willow trees (19.1–21.1‰ [16]), for north American clones selected for biomass production (18.6–20.6‰ [20]) as well as for Swedish clones (20.1–22.1‰ [17,19]). However, the range of variation for $\Delta^{13}C$ (18.7–21.3‰) was wider in our study than the ones of the aforementioned studies. Even if the three most water-use efficient clones remained the same irrespective of the sites, the ranking of genotypes in terms of $\Delta^{13}C$ was not significantly conserved across sites highlighting the limited potential of the tested plant material for the selection of water-use efficient clones.

Willow is known to be rather demanding with regard to N as compared with other fast-growing species such as poplar, and often need fertilization in order to attain maximum growth [36]. A large range of variation among clones has been highlighted for the N exportation rate. However, the values (ranging between 1.3 and 19 kg ha^{-1} $year^{-1}$) were much lower than the ones reported in the literature, ranging between 18 and 86 kg ha^{-1} $year^{-1}$ for willow [25,36] and between 19 and 105 kg ha^{-1} $year^{-1}$ for poplar [36–38]. This difference is likely to be due to the fact that the N exportation rate was closely related to biomass production [37,39,40]. According to Ericsson et al. [40], 3–4 kg N ton^{-1} of harvested stem dry matter has to be replaced in short rotation forest plantations in order to maintain site productivity. The genotypic ranges of variation observed in our study show that there is the potential to select willow clones in Europe enabling reduced nitrogen removal by harvest.

4.2. *Plasticity of biomass production, water-use efficiency, nitrogen removal, and their relationships*

Climate conditions and soil texture and quality differed between the three sites. Échigey was the wettest site while Guémené-Penfao was the driest. Soil of Échigey was the richest in nitrogen while the soil of Brinon-sur-Sauldre was the poorest. The highest biomass production was observed in Échigey and the lowest was observed in Guémené-Penfao. Numerous authors have studied the effects of low levels of water and nitrogen availabilities on dry mass accumulation in willows [17,18,41,42]. In agreement with other studies, willows growing under high N supply have the highest biomass production, the largest total leaf area, the highest N_{leaf} and the longest growing season [43,44]. The $\Delta^{13}C$ increase from Guémené-Penfao to Échigey can be attributed to regional climatic changes, and more particularly, to higher cumulated rainfall in Échigey. Indeed, increase in WUE_i or decrease in $\Delta^{13}C$ is known to be common responses to low water availability [45].

The timing of the critical stages for growth initiation in spring (*e.g.* bud burst), and growth termination in autumn (*e.g.* height growth cessation and bud set) are known to be highly influenced by the environment [27,46]. Genotypic differences in phenology were rather small in this study, and phenology was assessed only in two out of the three sites. No relationship was detected between biomass production and bud phenology, except in Guémené-Penfao where biomass

Table 5 – . Pearson's correlations among traits at the three sites (GP: Guémené-Penfao, Br: Brinon-sur-Sauldre, and Ech: Échigey) calculated from genotypic means.

	Site	$\Delta^{13}C$	N_{leaf}	C_{leaf}	SLA	LA_{MAx}	N_{export}	N_{wood}	C_{wood}	GSL	Bud set	Bud burst	TDB	Height
Circ	GP						0.88*							
	Br	−0.93**	0.82*											0.83*
	Ech													
Height	GP	−0.87*									0.97**			
	Br	−0.95*					0.82*						0.82*	
	Ech		−0.86*	0.87*									0.82*	
TDB	GP					0.88*	0.93**							
	Br	−0.93**					0.93**							
	Ech	−0.94**					0.93**							
Bud burst	GP													
	Ech													
Bud set	GP	−0.91*								0.85*				
	Ech													
GSL	GP													
	Ech		0.95**											
C_{wood}	GP				−0.90*									
	Br													
	Ech				0.81*	0.95**	0.90*							
N_{wood}	GP													
	Br													
	Ech													
N_{export}	GP				−0.87*	0.82*								
	Br	−0.89*												
	Ech		−0.83*		0.87*	0.94**								
LA_{MAx}	GP													
	Br													
	Ech				0.92**									
SLA	GP													
	Br													
	Ech													
C_{leaf}	GP													
	Br													
	Ech													
N_{leaf}	GP													
	Br													
	Ech													

Levels of significance: *P ≤ 0.05, **P ≤ 0.01, and ***P ≤ 0.001. See the Materials and methods section for trait abbreviations.

production was positively correlated with the date of bud set. Previous studies have already shown correlation between biomass production and bud phenology, but relationships were observed mainly with the date of bud burst [27,47,48].

A negative and linear relationship between traits related to biomass production and $\Delta^{13}C$ was highlighted for the three sites; i.e. the most productive genotypes seemed to be simultaneously the most efficient for water use, as recently observed by Schifman et al. for other *Salix* species [20]. Similar results have already been shown in other tree species such as *Castanea sativa* Mill., *Pinus pinaster* Aiton, *Larix occidentalis* Nutt or *Populus nigra* and hybrids [49–54]. Furthermore, leaf nitrogen content was positively correlated with $\Delta^{13}C$ in Échigey. These relationships confirm that there is a potential for improving WUE in willow without reducing overall productivity.

On a physiological basis, A and g_s were positively correlated as already observed in willows [55,56], illustrating the stomatal limitation of assimilation in our experiment. $\Delta^{13}C$ was also positively correlated to both A and g_s, and negatively to the ratio between A and g_s (WUE_i). This apparent contradiction, as an increase in A should imply an increase in WUE_i, is probably due to the fact that the genotypic variation for g_s was much larger than the genotypic variation for A. An increase in A was counterbalanced by a much larger increase in g_s in parallel, and so, WUE_i decreased. Variations in WUE_i can be attributed to genotypic variation of g_s as reported in previous studies [18,19].

The positive correlation between biomass production and WUE is generally explained by a control of both traits by carbon assimilation. In our study, WUE seems however to be under the control of the stomatal conductance. It is possible that the bigger trees, with larger leaf area [26], were more subjected to periodical droughts during the whole growing season, which caused stomata to close periodically to keep the water balance of the trees and caused more ^{13}C to be fixed (decrease in $\Delta^{13}C$). In this case, leaf area (in other words, the combination SLA × Leaf Mass Ratio) rather than A would be the major determinant of biomass production. Moreover, it has also to be kept in mind that biomass production and $\Delta^{13}C$ are measured at two different time scales: biomass production integrates two complete growing seasons while

$\Delta^{13}C$ integrates leaf life span at the time it is collected and depends on the period in which the leaf is formed and is functional.

5. Conclusion

A high genotypic variability was observed for most of the traits irrespective of the site and no antagonism was detected between biomass production and WUE. However, the most productive and most water-use efficient genotypes are also the ones responsible for the highest nitrogen removal from the plantation during harvest. The strength of the positive relationship between WUE and productivity was dependent on environmental conditions; more favorable were the pedo-climatic conditions, stronger was the correlations. In the driest site (GP), the correlation was significant between $\Delta^{13}C$ and stem height, but not with biomass. This is probably due to the fact that the correlation can be observed only when the conditions are favorable enough to allow the expression of the growth potential of the trees. From a breeding point of view, three possibilities can occur concerning the relationship between WUE and yield, the three cases have been observed in poplar and willow depending on species or hybrid formula: (1) no relationship, meaning a possible selection of genotypes for the two traits independently, (2) a positive correlation, meaning that the clones selected for high yield will also be water efficient (or inversely), and (3) a negative correlation, an antagonism between WUE and biomass production, meaning that productive clones will be inefficient to use water. Only the third case is problematic as it is not possible to select productive and water-use efficient clones at the same time. Fortunately, the two traits are rarely negatively correlated for poplar [57,58] as well as for willow [19]. Noteworthy, the genotypes 'Olof', 'Terra_Nova', and 'Resolution' display both high productivity and high WUE. The use of six genotypes only could be a limit even if the range of variation observed for most of the traits was wide. Moreover, present results need to be checked across successive rotations.

Acknowledgments

The authors thank Olivier Forestier from the State Forestry Nursery of Guémené-Penfao (Guémené-Penfao, France), François Charnet from the Forest Development Institute (IDF, Orléans, France), Guillaume Bodineau and Jean Gauvin from the experimental unit Genetic and Forest Biomass of INRA Orleans (GBFOr unit, Orléans, France) and Alain Berthelot from the Forêt Cellulose Bois-construction Ammeublement institute (FCBA, Charrey-sur-Saône, France) who have managed plantations and annual monitoring of growth. The authors also thank Dramane Konate, Laurent Roux, Romain Leray, Laureline BesDeBerc, and Julie Delevaux (INRA Nancy, Champenoux, France) and Isabelle Le Jan (University of Orleans, Orléans, France) for their implications in growth and biomass measurements in Guémené-Penfao, Brinon-sur-Sauldre, and Échigey. Isotopic and elemental analyses were performed by the technical platform of functional ecology (OC 081) at INRA Nancy of the forest ecology and ecophysiology unit. Authors would specifically thanks Christian Hossann and Jacqueline Marchand for their implication in leaf and wood analyses. The authors also thank the two reviewers for their useful comments on the manuscript. Julien Toillon is a PhD student supported by the bioenergy section of the French national research agency (ANR) project SYLVABIOM (ANR-08-BIOE-006) and by the ERA-Net Bioenergy project CREFF (ADEME).

REFERENCES

[1] Karp A, Shield I. Bioenergy from plants and the sustainable yield challenge. New Phytol 2008;179:15.
[2] Ceulemans R, McDonald AJS, Pereira JS. A comparison among eucalypt, poplar and willow characteristics with particular reference to a coppice, growth-modelling approach. Biomass Bioenergy 1996;11:215.
[3] Sims REH, Senelwa K, Maiava T, Bullock BT. *Eucalyptus* species for biomass energy in New Zealand – part II: coppice performance. Biomass Bioenergy 1999;17:333.
[4] Gruenewald H, Brandt BKV, Schneider BU, Bens O, Kendzia G, Huttl RF. Agroforestry systems for the production of woody biomass for energy transformation purposes. Ecol Eng 2007;29:319.
[5] Stolarski M, Szczukowski S, Tworkowski J, Klasa A. Productivity of seven clones of willow coppice in annual and quadrennial cutting cycles. Biomass Bioenergy 2008;32:1227.
[6] Karp A, Hanley SJ, Trybush SO, Macalpine W, Pei M, Shield I. Genetic improvement of willow for bioenergy and biofuels. J Integr Plant Biol 2011;53:151.
[7] Tharakan PJ, Volk TA, Nowak CA, Abrahamson LP. Morphological traits of 30 willow clones and their relationship to biomass production. Can J For Res 2005;35:421.
[8] Bergante S, Facciotto G, Minotta G. Identification of the main site factors and management intensity affecting the establishment of short-rotation-coppices (SRC) in Northern Italy through stepwise regression analysis. Cent Eur J Biol 2010;5:522.
[9] Lindroth A, Cienciala E. Water use efficiency of short-rotation *Salix viminalis* at leaf, tree and stand scales. Tree Physiol 1996;16:257.
[10] Linderson ML, Iritz Z, Lindroth A. The effect of water availability on stand-level productivity, transpiration, water use efficiency and radiation use efficiency of field-grown willow clones. Biomass Bioenergy 2007;31:460.
[11] Guidi W, Labrecque M. Effects of high water supply on growth, water use, and nutrient allocation in willow and poplar grown in a 1-year pot trial. Water Air Soil Pollut 2010;207:85.
[12] Farquhar GD, Ehleringer JR, Hubick KT. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol 1989;40:503.
[13] Sullivan PF, Welker JM. Variation in leaf physiology of *Salix arctica* within and across ecosystems in the high Arctic: test of a dual delta C-13 and delta O-18 conceptual model. Oecologia 2007;151:372.
[14] Roussel M, Le Thiec D, Montpied P, Ningre N, Guehl J-M, Brendel O. Diversity of water use efficiency among *Quercus robur* genotypes: contribution of related leaf traits. Ann For Sci 2009;66:408.
[15] Fichot R, Chamaillard S, Depardieu C, Le Thiec D, Cochard H, Barigah TS, et al. Hydraulic efficiency and coordination with xylem resistance to cavitation, leaf function, and growth performance among eight unrelated *Populus deltoides* × *Populus nigra* hybrids. J Exp Bot 2011;62:2093.

[16] Sparks JP, Ehleringer JR. Leaf carbon isotope discrimination and nitrogen content for riparian trees along elevational transects. Oecologia 1997;109:362.
[17] Weih M. Evidence for increased sensitivity to nutrient and water stress in a fast-growing hybrid willow compared with a natural willow clone. Tree Physiol 2001;21:1141.
[18] Weih M, Nordh NE. Characterising willows for biomass and phytoremediation: growth, nitrogen and water use of 14 willow clones under different irrigation and fertilisation regimes. Biomass Bioenergy 2002;23:397.
[19] Weih M, Ronnberg-Wastljung AC, Glynn C. Genetic basis of phenotypic correlations among growth traits in hybrid willow (*Salix dasyclados* × *S. viminalis*) grown under two water regimes. New Phytol 2006;170:467.
[20] Schifman LA, Stella JC, Volk TA, Teece MA. Carbon isotope variation in shrub willow (*Salix* spp.) ring-wood as an indicator of long-term water status, growth and survival. Biomass Bioenergy 2012;36:316.
[21] Ericsson T. Nutrient cycling in energy forest plantations. Biomass Bioenergy 1994;6:115.
[22] Adler A, Verwijst T, Aronsson P. Estimation and relevance of bark proportion in a willow stand. Biomass Bioenergy 2005;29:102.
[23] Goodlass G, Green M, Hilton B, McDonough S. Nitrate leaching from short-rotation coppice. Soil Use Manag 2007;23:178.
[24] Kering MK, Butler TJ, Biermacher JT, Guretzky JA. Biomass yield and nutrient removal rates of perennial grasses under nitrogen fertilization. Bioenergy Res 2012;5:61.
[25] Adegbidi HG, Volk TA, White EH, Abrahamson LP, Briggs RD, Bickelhaupt DH. Biomass and nutrient removal by willow clones in experimental bioenergy plantations in New York State. Biomass Bioenergy 2001;20:399.
[26] Weih M, Nordh NE. Determinants of biomass production in hybrid willows and prediction of field performance from pot studies. Tree Physiol 2005;25:1197.
[27] Weih M. Genetic and environmental variation in spring and autumn phenology of biomass willows (*Salix* spp.): effects on shoot growth and nitrogen economy. Tree Physiol 2009;29:1479.
[28] Verwijst T, Lundkvist A, Edelfeldt S, Forkman J, Nordh N-E. Effects of clone and cutting traits on shoot emergence and early growth of willow. Biomass Bioenergy 2012;37:257.
[29] Saska MM, Kuzovkina YA. Phenological stages of willow (*Salix*). Ann Appl Biol 2010;156:431.
[30] Farquhar GD, Richards RA. Isotopic composition of plant carbon correlates with water-use efficiency of wheat genotypes. Aust J Plant Physiol 1984;11:539.
[31] R Development Core Team. R: a language and environment for statistical computing. 2.11.1 ed. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2010.
[32] Martin PJ, Stephens W. Willow growth in response to nutrients and moisture on a clay landfill cap soil. I. Growth and biomass production. Bioresour Technol 2006;97:437.
[33] Kopp RF, Abrahamson LP, White EH, Burns KF, Nowak CA. Cutting cycle and spacing effects on biomass production by a willow clone in New York. Biomass Bioenergy 1997;12:313.
[34] Al Afas N, Marron N, Van Dongen S, Laureysens I, Ceulemans R. Dynamics of biomass production in a poplar coppice culture over three rotations (11 years). For Ecol Manag 2008;255:1883.
[35] Willebrand E, Ledin S, Verwijst T. Willow coppice systems in short rotation forestry: effects of plant spacing, rotation length and clonal composition on biomass production. Biomass Bioenergy 1993;4:323.
[36] Jug A, Hofmann-Schielle C, Makeschin F, Rehfuess KE. Short-rotation plantations of balsam poplars, aspen and willows on former arable land in the Federal Republic of Germany. II. Nutritional status and bioelement export by harvested shoot axes. For Ecol Manag 1999;121:67.
[37] Heilman P, Norby RJ. Nutrient cycling and fertility management in temperate short rotation forest systems. Biomass Bioenergy 1998;14:361.
[38] Berthelot A, Ranger J, Gelhaye D. Nutrient uptake and immobilization in a short-rotation coppice stand of hybrid poplars in north-west France. For Ecol Manag 2000;128:167.
[39] Cote B, Camire C. Growth, nitrogen accumulation, and symbiotic dinitrogen fixation in pure and mixed plantings of hybrid poplar and black alder. Plant Soil 1984;78:204.
[40] Ericsson T, Rytter L, Linder S. Nutritional dynamics and requirements of short rotation forests. In: Mitchell CP, Ford-Robertson JB, Hinckley TM, Sennerby-Forsse L, editors. Ecophysiology of short rotation forest crops. London and New York: Elsevier Applied Sciences; 1992. p. 35.
[41] McIvor I, Cumming H, Hurst S. Response of four *Salix* species to soil water deficit. Agronomy New Zealand, Proceedings. Lincoln Canterbury. Agronomy Soc New Zealand Inc; 2005. p. 74.
[42] Bonosi L, Ghelardini L, Weih M. Growth responses of 15 *Salix* genotypes to temporary water stress are different from the responses to permanent water shortage. Trees Struct Funct 2010;24:843.
[43] Stadenberg I, McDonald AJS, Palmer S. Diurnal variation in leaf extension of *Salix viminalis* at two nitrogen supply rates. Tree Physiol 1994;14:1131.
[44] Rönnberg-Wästljung AC, Gullberg U, Nilsson C. Genetic parameters of growth characters in *Salix viminalis* grown in Sweden. Can J For Res 1994;24:1960.
[45] Körner C, Renhardt U. Dry matter partitioning and root length/leaf area ratios in herbaceous perennial plants with diverse altitudinal distribution. Oecologia 1987;74:411.
[46] Ronnberg-Wastljung AC. Genetic structure of growth and phenological traits in *Salix viminalis*. Can J For Res 2001;31:276.
[47] Raven JA. The physiology of *Salix*. Proc Roy Soc Edin B 1992;98:49.
[48] Ronnberg-Wastljung AC, Gullberg U. Genetics of breeding characters with possible effects on biomass production in *Salix viminalis* (L.). Theor Appl Genet 1999;98:531.
[49] Guehl JM, Nguyen-Queyrens A, Loustau D, Ferhi A. Genetic and environmental determinants of water-use efficiency and carbon isotope discrimination in forest trees. In: Sandermann HJ, Bonnet-Masimbert M, editors. EUROSILVA: contribution to forest tree physiology. Versailles: INRA; 1995. p. 298.
[50] Casasoli M, Pot D, Plomion C, Monteverdi MC, Barreneche T, Lauteri M, et al. Identification of QTLs affecting adaptive traits in *Castanea sativa* Mill. Plant Cell Environ 2004;27:1088.
[51] Zhang X, Zang R, Li C. Population differences in physiological and morphological adaptations of *Populus davidiana* seedlings in response to progressive drought stress. Plant Sci 2004;166:791.
[52] Monclus R, Villar M, Barbaroux C, Bastien C, Fichot R, Delmotte FM, et al. Productivity, water-use efficiency and tolerance to moderate water deficit correlate in 33 poplar genotypes from a *Populus deltoides* x *Populus trichocarpa* F-1 progeny. Tree Physiol 2009;29:1329.
[53] Chamaillard S, Fichot R, Vincent-Barbaroux C, Bastien C, Depierreux C, Dreyer E, et al. Variations in bulk leaf carbon isotope discrimination, growth and related leaf traits among three *Populus nigra* L. populations. Tree Physiol 2011;31:1076.
[54] Monclus R, Leplé J-C, Bastien C, Bert P-F, Villar M, Marron N, et al. Integrating genome annotation and QTL position to identify candidate genes for productivity, architecture and

water-use efficiency in *Populus* spp. BMC Plant Biol 2012;12:173.
[55] Cienciala E, Lindroth A. Gas-exchange and sap flow measurements of *Salix viminalis* trees in short-rotation forest. 2. Diurnal and seasonal-variations of stomatal response and water-use efficiency. Trees Struct Funct 1995;9:295.
[56] Li S, Pezeshki SR, Goodwin S, Shields Jr FD. Physiological responses of black willow (*Salix nigra*) cuttings to a range of soil moisture regimes. Photosynthetica 2004;42:585.
[57] DesRochers A, van den Driessche R, Thomas BR. NPK fertilization at planting of three hybrid poplar clones in the boreal region of Alberta. For Ecol Manag 2006;232:216.
[58] Elias AA, Busov VB, Kosola KR, Ma C, Etherington E, Shevchenko O, et al. Green revolution trees: semidwarfism transgenes modify gibberellins, promote root growth, enhance morphological diversity, and reduce competitiveness in hybrid poplar. Plant Physiol 2012;160:1130.

CONCLUSIONS, LIMITES ET PERSPECTIVES

Conclusions, limites et perspectives

Les objectifs spécifiques de cette thèse visaient à *(i)* caractériser l'impact de la densité de plantation et des conditions pédoclimatiques sur la physiologie des peupliers et des saules dédiés à la production de biomasse, *(ii)* évaluer la variabilité génotypique de caractères liés à la productivité, l'efficience d'utilisation de l'eau (WUE) et l'efficience d'utilisation de l'azote (NUE) dans une perspective appliquée de sélection variétale, et *(iii)* juger des relations entre ces caractères. Les expériences réalisées sur peuplier ont été conduites sur 56 génotypes hybrides de *P. deltoides* × *P. nigra* installés en TCR et TTCR sur deux sites se distinguant essentiellement par la disponibilité en eau et le niveau de fertilité du sol (**Chapitre 2**) ; les expériences réalisées sur saule ont été menées sur six génotypes hybrides issus du croisement de plusieurs espèces de saules cultivés en TTCR à trois sites se distinguant également par leur disponibilité en eau et leur niveau de fertilité du sol (**Chapitre 3**). Dans cette partie, les principales conclusions et la contribution des travaux de thèse à l'avancée des connaissances sont restituées au regard des objectifs initiaux. Certaines limites directement liées au travail de thèse sont également évoquées ainsi que les perspectives qui permettraient d'y remédier. D'autres perspectives de travail, plus fondamentales, sont enfin proposées.

La densité de plantation affecte la production de biomasse et WUE de façon site-dépendante chez le peuplier.

L'effet de la densité de plantation sur la croissance des arbres est assez bien documenté, y compris chez le peuplier (DeBell *et al*., 1996 ; Benomar *et al*., 2012). Une augmentation de la densité de plantation favorise le plus souvent la croissance primaire des arbres au détriment de la croissance secondaire. En revanche, l'effet de la densité de plantation sur WUE n'avait à notre connaissance encore jamais été étudié directement chez les espèces pouvant être dédiées à la production de biomasse comme le peuplier ; le peu de résultats présents dans la littérature sur ce point pour d'autres espèces est par ailleurs contradictoire (Walcroft *et al*., 1996 ; Warren *et al*., 2001 ; Woodruff *et al*., 2002 ; McDowell *et al*., 2003 ; Querejeta *et al*., 2008 ; Martin-Benito *et al*., 2010). Or, comprendre comment la densité de plantation affecte à la fois des caractères comme la production de biomasse et WUE chez les espèces pouvant être cultivées à différentes densités (TCR *vs.* TTCR par exemple) pourrait fournir des informations utiles à la gestion des plantations bioénergétiques. Le dispositif expérimental utilisé dans le cadre de ma thèse (2 densités × 2 sites) a non seulement permis de caractériser l'impact de la

densité sur la physiologie de l'arbre, mais également d'évaluer dans quelle mesure cet effet pouvait être modulé par les conditions pédoclimatiques.

Lorsque les conditions environnementales sont favorables à la croissance (disponibilité en eau non limitante, fertilité importante), une augmentation de la densité de plantation semble accentuer principalement la compétition entre arbres pour la lumière, entrainant une augmentation de la hauteur des arbres, une diminution de la circonférence et une diminution de WUE. Bien que n'ayant pas été directement validé dans le cadre de la thèse, l'effet sur WUE s'explique probablement par un ombrage plus important à forte densité, une assimilation nette de CO_2 plus faible (McDowell *et al*., 2003) et donc un rapport A/g_s plus faible. En revanche, lorsque les conditions environnementales sont moins favorables à la croissance (et notamment lorsque la disponibilité en eau du sol devient limitante), une augmentation de la densité de plantation semble accentuer davantage la compétition entre arbres pour l'acquisition de la ressource en eau, conduisant à un effet limité sur la hauteur des arbres mais surtout à une augmentation de WUE. En fait, la disponibilité en eau étant déjà limitante à faible densité, une augmentation de la densité d'arbres accentue encore plus le problème ; la croissance est alors moins importante, les stomates probablement moins ouverts afin de limiter les pertes en eau à l'échelle de la feuille d'où une plus forte WUE.

Dans le cadre du dispositif expérimental utilisé, les effets liés à la fertilité et à la disponibilité en eau du sol étaient confondus. Afin de découpler de façon plus claire les effets liés à chaque facteur, il faudrait travailler sur des sites se distinguant pour un seul des facteurs à la fois. Il aurait été envisageable d'irriguer les plantations afin que les arbres soient cultivés en conditions hydriques optimales et que la fertilité soit le seul facteur permettant de différencier les sites entre eux.

Relations production de biomasse – WUE et applications potentielles.

Une relation linéaire et négative entre production de biomasse et $\Delta^{13}C$ (*i.e*. positive entre production de biomasse et WUE) a été observée, dans le cas du saule, sur les sites d'Échigey et de Brinon-sur-Sauldre ; aucune relation significative n'a pu être mise en évidence au site de Guémené-Penfao. Chez le peuplier, une relation linéaire et négative a également été observée entre la circonférence (un indicateur de la production de biomasse) et $\Delta^{13}C$ pour les génotypes cultivés en TCR au site d'Échigey uniquement ; aucune relation n'a pu être mise en évidence dans les trois autres conditions (*i.e*. TTCR d'Échigey et TCR – TTCR de Saint-Cyr-en-Val). La relation positive entre production de biomasse et WUE est souvent interprétée dans la

littérature comme le résultat d'un contrôle des variations de WUE par des variations de capacités photosynthétiques (Farquhar *et al*., 1989 ; Monclus *et al*., 2009), alors que l'absence de relation significative entre les deux caractères est couramment interprétée comme le résultat d'un contrôle plus important des variations de WUE par des variations de conductance stomatique à la vapeur d'eau (Farquhar *et al*., 1989). Cependant, les résultats obtenus à la fois sur saule et peuplier dans le cadre de ma thèse montrent que ces interprétations ne sont pas toujours applicables. Sur saule par exemple, bien que l'on ait observé une relation positive entre production de biomasse et WUE, les mesures d'échanges de gaz ont clairement montré que c'était davantage les variations de conductance stomatique qui expliquaient les variations de WUE_i. Par ailleurs, sur peuplier, la relation négative observée dans tous les cas entre $\Delta^{13}C$ et les teneurs surfaciques en azote suggère que les variations de capacités photosynthétiques contribuent aux variations de WUE_i, alors qu'aucune relation entre production de biomasse et $\Delta^{13}C$ n'a pu être observée dans trois cas sur quatre.

Ces résultats soulignent le fait que l'analyse des relations croissance – WUE est plus complexe. Plusieurs facteurs peuvent notamment expliquer pourquoi aucune relation entre les deux caractères n'est observée dans certains cas.

1. Tout d'abord, les variations observées pour les caractères considérés peuvent s'avérer plus ou moins importantes en fonction des conditions environnementales. Pour les saules cultivés à Guémené-Penfao par exemple, c'est-à-dire au site où aucune relation n'a pu être mise en évidence, la variabilité observée pour la production de biomasse était très faible en comparaison de celle observée aux deux autres sites en raison de la plus faible disponibilité en eau (inférieure à 20% sur la saison de croissance). De la même manière, l'expression de la variabilité pour la circonférence des peupliers cultivés en TTCR à Saint-Cyr-en-Val était également réduite en comparaison de celle observée dans les autres conditions de culture. Ainsi, une amplitude de variation plus restreinte limite la possibilité de mettre en évidence une relation.

2. Ensuite, les différences de pas de temps d'intégration entre les deux caractères tels qu'ils ont été mesurés dans le cadre de cette thèse peuvent également contribuer à flouter la relation. La production de biomasse intègre deux années de croissance alors

que la signature en ^{13}C de la feuille reflète majoritairement la durée de développement de la feuille, soit quelques semaines.

3. Enfin, la production de biomasse et $\Delta^{13}C$ sont des caractères complexes qui dépendent fondamentalement d'autres caractères morphologiques et physiologiques, plus ou moins indépendants les uns des autres en fonction des conditions environnementales (Figure 10). Ce schéma complexe illustre pourquoi les deux caractères peuvent donc être en partie sinon totalement découplés d'un point de vue fonctionnel. La production de biomasse reflète finalement l'intégral du taux de croissance (RGR) sur les deux années. Le RGR est lui-même contrôlé par plusieurs caractères, dont l'importance relative varie avec le temps (Shipley *et al.* 2000) et les espèces (Lamers *et al*., 2006) : le rapport entre la biomasse foliaire et la biomasse totale de l'arbre (Leaf Mass Ratio, LMR) qui représente l'allocation en carbone au compartiment foliaire, la surface massique foliaire (Specific Leaf Area, SLA) qui représente la surface assimilatrice pour un investissement en carbone donné, et enfin le taux d'assimilation net de CO_2 (Net Assimilation Rate, NAR) qui représente le fonctionnement photosynthétique de la feuille (Figure 10). Les valeurs de $\Delta^{13}C$ reflètent quant à elles l'intégral de WUE_i (c'est-à-dire le rapport entre l'assimilation nette de CO_2 et la conductance stomatique à la vapeur d'eau) sur le pas de temps de développement de la feuille.

Lorsque la relation entre production de biomasse (ou ses déterminants) et WUE a été détectée, elle était toujours positive. Une des explications possibles pourrait être que les variations génotypiques pour les capacités photosynthétiques sont à l'origine à la fois de la variabilité observée pour la production de biomasse et WUE (Figure 10) ; cependant, il ne nous est pas possible de vérifier cette explication à l'aide de nos résultats puisque nous n'avons pas réalisé de mesures d'échange de gaz sur les peupliers. Une autre explication peut être également proposée. De façon intéressante, la relation a systématiquement été observée sur les sites où les conditions environnementales étaient les plus favorables à la croissance, qu'il s'agisse du peuplier ou du saule. Or, lorsque la croissance est importante, les arbres présentent une surface foliaire totale généralement plus importante (Barigah *et al*., 1994). Une canopée plus développée est inévitablement associée à des pertes en eau par transpiration potentiellement plus importantes. Ces pertes en eau plus importantes à l'échelle de l'arbre pourraient alors être

compensées à l'échelle de la feuille par une meilleure régulation stomatique, augmentant dans le même temps l'efficience d'utilisation de l'eau.

Bien que la relation entre croissance et WUE soit variable, aucun antagonisme n'a pu être observé entre les deux caractères. De plus, l'essentiel du matériel végétal utilisé dans le cadre de ces travaux de thèse (48 sur 56 génotypes de peuplier) est actuellement en cours de test par le *Groupement d'Intérêt Scientifique - Peuplier* français (GIS-Peuplier) et la société italienne *Alasia Franco Vivai*. Nos travaux ont notamment montré une gamme de variations importante pour les caractères d'intérêt. D'un point de vue appliqué, cela laisse donc l'espoir de pouvoir sélectionner à termes chez les hybrides *P. deltoides* × *P. nigra* des génotypes efficients pour l'utilisation de l'eau sans pour autant contre-sélectionner sur le niveau de productivité ; ce résultat confirme les résultats déjà obtenus sur d'autres génotypes *P. deltoides* × *P. nigra* (Monclus *et al*., 2006, 2009 ; Bonhomme *et al*., 2008 ; Dillen *et al*., 2011b). Il semble également possible pour les saules de sélectionner des génotypes efficients pour l'utilisation de l'eau sans contre-sélectionner sur le potentiel de production. Toutefois, seuls six génotypes déjà commercialisés ont été évalués dans ces travaux de thèse ; un plus grand nombre de génotypes permettrait de confirmer ces résultats. Parmi les six génotypes de saule utilisés, il semble toutefois préférable de planter les génotypes issus de l'European Willow Breeding Partnership (EWBP) qui présentaient dans les trois sites utilisés dans cette étude les productions de biomasse et les efficiences d'utilisation de l'eau les plus élevées.

Interactions Génotype × Environnement et sélection variétale.

L'évaluation des interactions Génotype × Environnement (G × E) revêt une importance particulière pour la sélection d'espèces plantées telles que le peuplier et le saule. De profonds changements entre environnements de croissance dans le classement des génotypes pour leurs performances physiologiques peuvent en effet réduire la pertinence du déploiement de génotypes à grande échelle. Dans la suite de ce chapitre, les environnements de croissance correspondent au site (S) et à la densité de plantation (D). On parlera donc successivement d'interaction Génotype × Site (G × S) et d'interaction Génotype × Densité de plantation (G × D).

Nos travaux réalisés sur peuplier ont permis de mettre en évidence d'importantes interactions G × S pour tous les caractères étudiés pour le peuplier associées à des modifications de classements très importantes entre sites (**Chapitres 2.1 et 2.2**). Il est donc

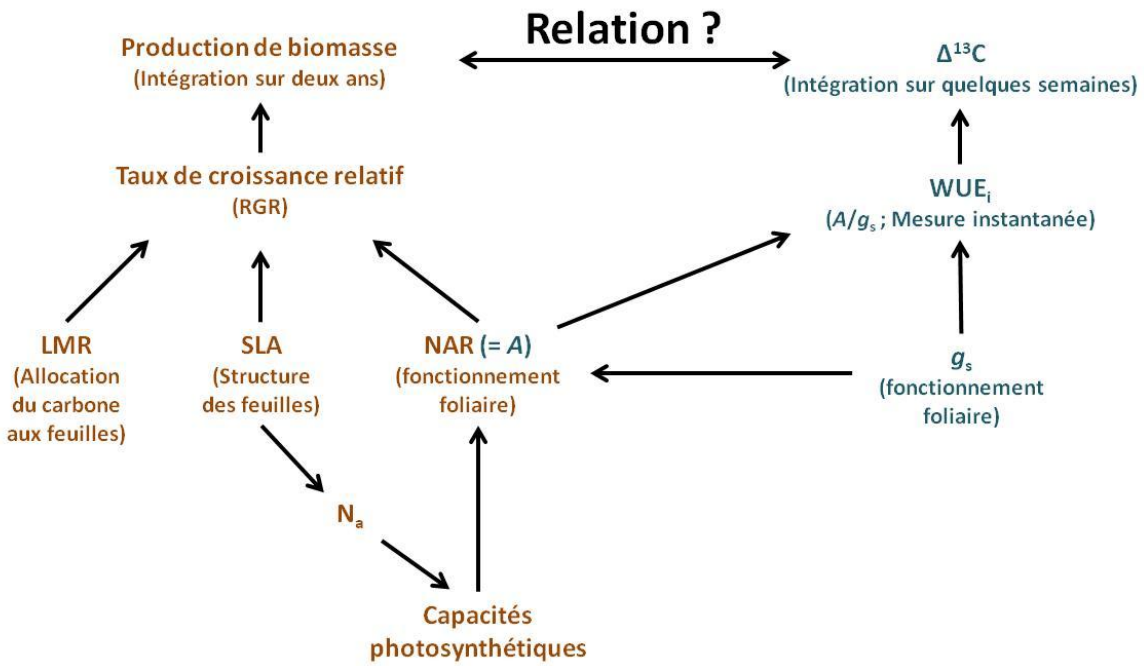


Figure 10. Représentation schématique des sources de variations des caractères à l'origine de l'absense d'observation de la relation entre production de biomasse (marron) et efficience d'utilisation de l'eau (bleu). Les flèches indiquent les relations entre caractères.

Abréviations : $\Delta^{13}C$, discrimination isotopique vis-vis du carbone 13 ; A, assimilation nette de CO_2 ; g_s, conductance stomatique à la vapeur d'eau ; LMR, leaf mass ratio ; N_a, teneur en azote foliaire exprimée par unité de surface ; NAR, net assimilation rate ; SLA, specific leaf area ; WUE_i, intrinsic water-use efficiency.

difficile d'envisager l'identification de quelques génotypes performants sur une large gamme de conditions pédoclimatiques. La sélection devrait être réalisée de façon site-dépendante. En revanche, les interactions G × D étaient moins importantes que les interactions G × S et étaient associées à de moindres modifications de classements des génotypes entre densités de plantation (**Chapitre 2.1**). Ainsi, pour un contexte pédoclimatique donné, il semble possible d'identifier des génotypes qui soient à la fois performants en TCR et en TTCR.

Dans le cas du saule (**Chapitre 3**), les interactions G × S étaient dépendantes des caractères considérés. Ainsi, des interactions G × S significatives étaient observées pour la production de biomasse et le taux d'exportation d'azote alors qu'aucune interaction n'était observée pour $\Delta^{13}C$. Toutefois, cette étude ne comparait que six génotypes et nécessite d'être confirmée sur un plus grand nombre de génotypes afin de conclure sur cet aspect. Les interactions G × D n'ont pas été étudiées pour les saules puisqu'ils sont cultivés uniquement en TTCR.

Comme observé dans la littérature, les plus fortes productions de biomasse sont observées dans les conditions de croissanceles plus favorables, c'est-à-dire lorsque la disponibilité en eau et la fertilité du sol sont les plus élevées (Marron *et al*., 2006, 2010 ; Dillen *et al*., 2011b ; Weih, 2001 ; Weih *et al*., 2006). De façon générale et quelle que soit l'espèce considérée, les plus faibles valeurs de $\Delta^{13}C$ (*i.e.* les plus fortes efficiences d'utilisation de l'eau) étaient observées aux sites présentant les plus faibles disponibilités en eau du sol. Ces faibles valeurs de $\Delta^{13}C$ en réponse à une diminution de la disponibilité en eau du sol sont classiquement observée chez le peuplier (Zhang *et al*., 2004 ; Monclus *et al*., 2009, 2009 ; Fichot *et al*., 2010) et le saule (Weih *et al*., 2006). Lorsque les arbres sont cultivés sur des sites où la disponibilité en eau du sol est faible, ces derniers limitent leurs pertes en eau en réduisant leur conductance stomatique à la vapeur d'eau, conduisant à de plus fortes valeurs d'efficience d'utilisation de l'eau (A/g_s).

Les conditions de croissance au site d'Echigey permettaient une meilleure expression de la variabilité génotypique pour les caractères liés à la production de biomasse et NUE pour les peupliers et les saules. En revanche, les conditions croissances plus contraignantes observées à Saint-Cyr-en-Val pour les peupliers et à Guémené-Penfao pour les saules permettaient une meilleure expression de la variabilité génotypique pour $\Delta^{13}C$. Afin de maximiser la gamme de variabilité pour les différents caractères étudiés dans ces travaux de thèse, il semble qu'il faille cultiver les peupliers et les saules sur des sites se contrastant pour leurs disponibilités en eau du sol. Les larges gammes de variabilité observées pour la production de biomasse, NUE

et WUE suggèrent que le potentiel existe au sein du set de génotypes de peupliers et de saules utilisé dans le cadre de ces travaux de thèse pour sélectionner des génotypes productifs et efficients pour utiliser l'eau et l'azote.

Production de biomasse, efficience d'utilisation de l'azote et taux d'exportation de l'azote.

Il a été rapporté dans la littérature que les arbres poussant dans des conditions contraignantes en termes de fertilité présentent généralement des efficiences d'utilisation de l'azote (NUE) élevées (Berendse & Aerts, 1987 ; Elliott & White, 1993 ; Kubiske *et al*., 1997 ; Adegbidi *et al*., 2001 ; Gornall & Guy, 2007 ; Adler *et al*., 2008 ; Rivest *et al*., 2009 ; Weih *et al*., 2011a). Or, nous avons pu observer que les peupliers cultivés à Saint-Cyr-en-val présentaient des valeurs de NUE plus faibles que ceux cultivés à Échigey. Ces plus faibles valeurs de NUE observées à Saint-Cyr-en-Val peuvent être en partie expliquées par la définition de NUE utilisée dans cette thèse. Les arbres produisant de faibles quantités de biomasse ont généralement un rapport écorce : bois élevé. Sachant qu'une grande partie de l'azote contenu dans les parties ligneuses se situe dans l'écorce (Sander & Ericsson, 1998 ; Rytter, 2002 ; Adler *et al*., 2005), et que les arbres cultivés à Saint-Cyr-en-Val présentaient une faible production de biomasse avec une forte proportion d'écorce, cela explique les faibles valeurs d'efficiences d'utilisation de l'azote observées pour les arbres cultivés à Saint-Cyr-en-Val.

Des relations opposées entre production biomasse et NUE ont été rapportées dans la littérature ; positive entre hauteur et NUE pour le saule (Tharakan *et al*., 2005) et négative entre hauteur en NUE pour le peuplier (Gornall & Guy, 2007). Dans le cadre de ces travaux de thèse, nous avons mis en évidence une relation linéaire et positive entre hauteur et efficience d'utilisation de l'azote pour les peupliers cultivés en TTCR à Échigey et à Saint-Cyr-en-Val (**Chapitre 2.2**). Ces résultats s'opposent à ceux observés par Gornall & Guy (2007) et peuvent s'expliquer par *(i)* une différence en termes de fond génétique du matériel végétal (*P. trichocarpa vs*. *P.deltoides* × *P. nigra*) et *(ii)* une méthode de calcul de NUE différente ; Gornall & Guy (2007) ayant utilisé l'efficience photosynthétique d'utilisation de l'azote.

Lorsque l'on raisonne en termes d'exportation en azote de la plantation (N_{export}), les génotypes de peuplier et de saule les plus productifs sont également ceux qui exportent le plus d'azote de la plantation lors des coupes (**Chapitres 2.2 et 3**). Ces génotypes conduisent donc inévitablement à un appauvrissement du sol en termes de fertilité. La production de biomasse,

l'efficience d'utilisation de l'azote et le taux d'exportation d'azote de la plantation n'ont été évalués que pour les génotypes cultivés en TTCR. En effet, si l'on raisonne sur une durée de rotation du TCR de six ans, ces données ne seront disponibles qu'à partir de l'hiver 2016-2017 sur le site d'Échigey et l'hiver 2017-2018 sur le site de Saint-Cyr-en-Val. Au moment de la récolte, les parties aériennes des arbres sont plus âgées dans le TCR que dans le TTCR (respectivement six ans *vs*. trois ans). Sachant que les arbres âgés présentent une proportion d'écorce plus faible et que les récoltes sont réalisées de façon beaucoup moins fréquente que dans le TTCR, la culture des arbres en TCR devraient conduire à une plus faible exportation d'azote de la plantation.

D'un point de vue appliqué et sachant que la majorité des génotypes de peuplier utilisés dans cette étude sont en cours de test, la relation positive entre hauteur et NUE observée aux deux sites laisse la possibilité de sélectionner des génotypes productifs et efficients pour utiliser l'azote. Toutefois, les relations positives entre NUE et N_{export} et entre production de biomasse et N_{export} observées pour les saules et les peupliers semblent indiquer que lorsque l'on sélectionne sur la production de biomasse ou NUE, on contre-sélectionne sur le taux d'exportation d'azote de la plantation.

De façon intéressante, nos travaux n'ont pas permis de mettre en évidence de lien entre WUE, estimée *via* $\Delta^{13}C$, et NUE suggérant qu'il n'y a pas d'antagonisme entre WUE et NUE (Figure 11). La mesure de l'efficience photosynthétique d'utilisation de l'azote (PNUE), c'est-à-dire le rapport entre l'assimilation nette de CO_2 (A, μmol CO_2 m^{-2} s^{-1}) et le contenu en azote foliaire exprimé par unité de surface (N_a, g_N m^{-2}) pourrait fournir le pendant des mesures de $\Delta^{13}C$ et WUE_i réalisées à l'échelle de la feuille. Compte tenu de la lourdeur associée à la mesure des échanges de gaz, ces mesures pourraient être réalisées sur un nombre plus restreint de génotypes.

Conduire l'étude sur une révolution entière de 20 ans est indispensable.

Les plantations bioénergétiques conduites en TCR et TTCR sont vouées à rester en place une vingtaine d'années et à être récoltées de façon plus ou moins fréquente. Il est donc nécessaire d'évaluer comment les performances des génotypes évolueront au cours du temps et ce type de données est encore extrêmement rare dans la littérature. À notre connaissance, les seules expériences réalisées sur la totalité d'une révolution ont été obtenues sur la plantation TTCR de Boom en Belgique sur laquelle différents fonds génétiques (un génotype de *P. nigra,* trois génotypes de *P. trichocarpa*, trois génotypes *P. deltoides* × *P. nigra*, trois génotypes de *P.*

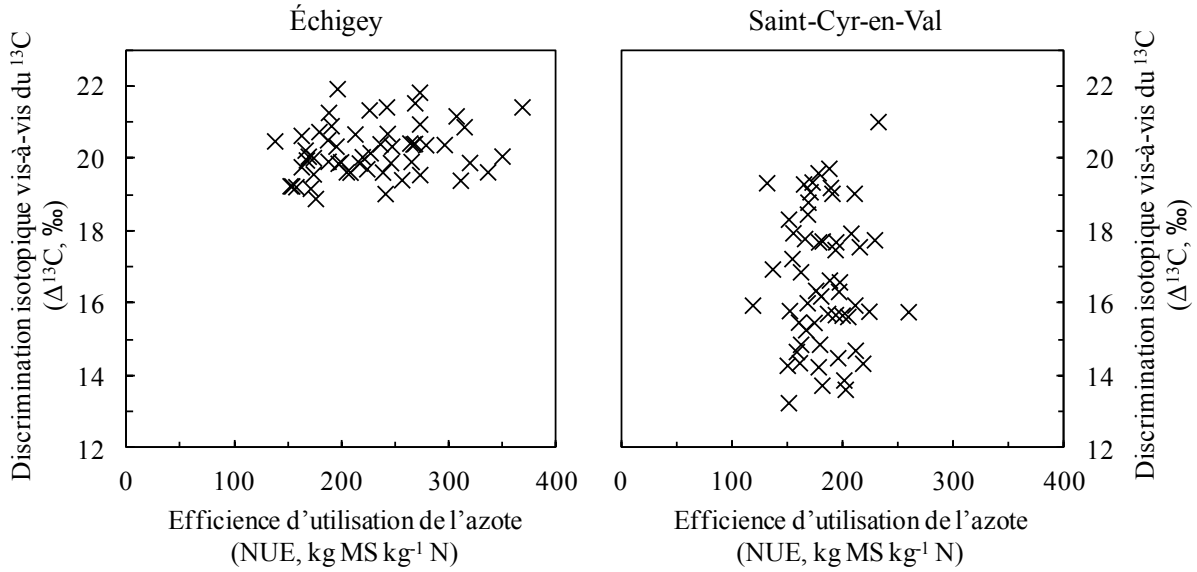


Figure 11. Relation entre l'efficience d'utilisation de l'azote (NUE, kg MS kg^{-1} N) et la discrimination isotopique vis-à-vis du carbone 13 de la matière organique foliaire ($\Delta^{13}C$, ‰) dans le TTCR d'Échigey et de Saint-Cyr-en-Val. Les données projetées sont les moyennes génotypiques (n = 56).

deltoides × *P. trichocarpa*, six génotypes de *P. trichocarpa* × *P. deltoides*, et un génotype de *P. trichocarpa* × *P. balsamifera*) avaient été plantés en mélange (Ceulemans & Deraedt, 1999 ; Laureysens *et al*., 2003, 2005a,b ; Al afas *et al*., 2008 ; Dillen *et al*., 2013). Sur cette plantation, quatre rotations ont été réalisées sur une période de 16 années. Les principaux résultats ont montré que le pourcentage de mortalité augmentait avec les récoltes successives mais pas forcément de la même façon pour tous les fonds génétiques (Al afas *et al*., 2008 ; Dillen *et al*., 2013). Cette étude a également montré que, sur le long terme, les espèces pures (*P. nigra* et *P. trichocarpa*) pourraient avoir de meilleures performances physiologiques que des peupliers hybrides (*P. deltoides* × *P. nigra*, *P. deltoides* × *P. trichocarpa*, *P. trichocarpa* × *P. deltoides*, et *P. trichocarpa* × *P. balsamifera*) quand elles sont cultivées dans des contions sub-optimales (absence d'irrigation, de fertilisation, de traitements fongicides et insecticides). Des changements de classement génotypiques pour la production de biomasse s'opéraient entre la deuxième et la quatrième rotation. Cependant, l'analyse des coefficients de rang de Spearman montre une grande stabilité des classements entre les deux dernières rotations (Dillen *et al*., 2013). Le suivi des plantations de Saint-Cyr-en-Val et d'Échigey sur une révolution complète de TCR et de TTCR permettrait de compléter significativement la littérature sur les aspects de gestion à long terme de ce type de plantations.

Quelle espèce utiliser en TTCR sous un climat continental ?

Une récente méta-analyse compare différentes espèces cultivées en TTCR pour leurs potentiels de productivité et leurs efficiences d'utilisation de l'eau (King *et al*., 2013). Dans cette étude, les peupliers, qu'il s'agisse d'espèce pures ou d'hybrides ne se distinguent des saules (espèces pures ou hybrides) ni par leurs potentiels de productivité (~ 8 T_{MS} ha^{-1} an^{-1} pour les deux genres), ni par leurs efficiences d'utilisation de l'eau estimée *via* $\delta^{13}C$ (~ -28 ‰ pour les deux genres). Dans les conditions de croissance les plus favorables (Échigey), les peupliers présentaient en moyenne une production de biomasse supérieure aux saules (1623,6 g *vs*. 653,3 g, respectivement). Les travaux réalisés dans cette thèse ne nous permettent pas non plus de répondre à cette question quand on considère le déséquilibre entre genres en termes de nombre de génotypes (56 génotypes pour le peuplier *vs*. 6 génotypes pour le saule). Sur le site le plus favorable à la croissance, les peupliers causaient une plus forte exportation d'azote de la plantation que les saules (de 7,9 à 64,6 kg N ha^{-1} an^{-1} pour le peuplier et de 1,3 à 19 kg N ha^{-1} an^{-1} pour le saule). Toutefois, les peupliers et les saules présentaient en moyenne

les mêmes valeurs de $\Delta^{13}C$ (respectivement 20,20 et 20,45‰). Bien que la production de biomasse fût supérieure pour les peupliers, les saules présentaient généralement un comportement différent après recépage *via* une augmentation du nombre de tiges par souche entrainant par conséquent une hausse de productivité. Après recépage, des saules âgés de deux ans produisent entre 15 et 20 tiges par souche alors que les peupliers produisent moins de 10 tiges par souche (Ceulemans *et al*., 1996 ; Bergvist & Ledin, 1998). Compte-tenu des résultats disponibles dans cette étude et la littérature, il ne nous est actuellement pas possible d'aider au choix raisonné de l'espèce à planter en TTCR dans nos régions tempérées.

À quelle densité de plantation faut-il planter le peuplier, TCR ou TTCR ?

Les données acquises dans le cadre de cette thèse concernent les premières années de vie des plantations. Les résultats présentés sur les arbres cultivés en TTCR ne concernent que la première rotation d'installation (deux ans, système mono-tige). De la même manière, les résultats présentés pour le TCR ne correspondent qu'aux deux premières années de la première rotation ; le cycle du TCR allant de six à huit ans, il n'était pas possible d'acquérir les données de biomasse et d'efficience d'utilisation de l'azote au cours de ces travaux de thèse pour les arbres cultivés en TCR. Nous ne sommes donc pas encore en mesure de répondre à cette question. Néanmoins, il semble que lorsque les sites présentent des conditions de croissance peu favorables notamment en termes de disponibilité en eau, le fait de planter un TTCR pourrait exacerber les phénomènes de compétition entre arbres pour l'acquisition de la ressource en eau et limiter la productivité. Le choix de la densité de plantation est également très important en fonction du type de valorisation de la biomasse souhaité. Si le souhait est de produire de petits arbres destinés à l'industrie papetière, il faudra favoriser la culture de type TCR. Cependant, les bénéfices liés à l'exploitation de la plantation seront assez espacés dans le temps (tous les 8 à 10 ans) mais restent toutefois beaucoup plus fréquents que pour la foresterie traditionnelle (coupes franches à 20, 40 ou 80 ans). En revanche, si le souhait de l'exploitant est de produire des plaquettes forestières et des copeaux pour l'alimentation de chaufferies à bois par exemple, il faudra favoriser la culture en TTCR. De plus, ce type de culture en TTCR permet des bénéfices beaucoup plus rapprochés dans le temps (tous les 2 à 4 ans) mais probablement moins importants que la culture en TCR.

L'utilisation d'espèces fixatrices d'azote comme le robinier pour la production de biomasse : une alternative à la fertilisation azotée

Les cultures ligneuses à vocation bioénergétique (TCR et TTCR) reposent sur l'utilisation d'espèces capables de produire un maximum de biomasse en un minimum de temps, préférentiellement sur des terres peu propices à l'agriculture à vocation alimentaire. Ces surfaces agricoles sont généralement difficilement fertilisables et/ou irrigables, entraînant des coûts de production élevés. La sélection et l'utilisation de matériel végétal utilisant efficacement les ressources (eau et nutriments) constituent un premier moyen d'optimiser le fonctionnement des plantations, et c'est sur ce point que la thèse était centrée. Une alternative complémentaire serait d'utiliser des espèces fixatrices d'azote atmosphérique (N_2), telles que le robinier, sur des terres peu fertiles afin d'enrichir le sol en azote grâce à la minéralisation de la matière organique produite par le robinier. Tout comme le peuplier et le saule, le robinier est une espèce pionnière, à croissance rapide, apte au rejet de souche et adaptée à une large gamme de conditions édaphiques (Keresztesi, 1988 ; Hanover, 1990), d'où le regain d'intérêt actuel pour cette espèce pour la production de biomasse ligneuse à moindre coût.

A titre exploratoire, des travaux sur l'utilisation du robinier en plantation bioénergétique ont été initiés dans le cadre de cette thèse. Notre objectif principal était de comparer deux provenances de *Robinia pseudoacacia* L. cultivées en TCR et en TTCR pour leur productivité, WUE *via* la discrimination isotopique vis-à-vis du ^{13}C ($\Delta^{13}C$) et le taux d'exportation d'azote de la plantation. À cet objectif principal s'ajoutait un objectif complémentaire, qui était de comparer les résultats observés pour ces deux provenances avec ceux observés pour les génotypes de saules présentés dans le chapitre 3. Afin d'apporter des éléments de réponse à ces objectifs, deux provenances de robiniers, '*Nyirseg*' et '*Nagybudmerii*', issues de vergers à graines hongrois ont été installées à Guémené-Penfao (Loire-Atlantique, France) en TCR et TTCR au printemps 2009. Les expérimentations ont été menées en parallèle de celles décrites au même site pour le saule dans le chapitre 3. La croissance, la production de biomasse, la phénologie, les caractères foliaires et la minéralomasse de 10 individus par provenance et par système de culture ont été estimés selon les protocoles présentés dans le chapitre 3.

D'importantes variations intra-provenance ont été observées pour la plupart des caractères et ont pu masquer les différences entre provenances et entre systèmes de culture. À titre d'exemple, la gamme de variation pour $\Delta^{13}C$ en TCR était au minimum de 3‰ pour les deux

Tableau 5. Moyenne ± erreur standard (ES) des deux provenances de robinier cultivées en TCR (1428 plant / ha) et en TTCR (7272 plants / ha) des caractères liés à la productivité, à la phénologie, au feuillage et à la minéralomasse. Ht = hauteur de tige, Circ = circonférence de tige, dHt/dt = vitesse de croissance en hauteur, dnf/dt = vitesse d'apparition des feuilles, $Biom_s$ = biomasse de cépée, Déb. = date de débourrement, Dor. = date d'entrée en dormance, LSV = longueur de la saison de végétation, Surf. = surface foliaire individuelle, SLA = specific leaf area, $N_{feuille}$ = teneur en azote foliaire, $C_{feuille}$ = teneur en carbone foliaire, $\Delta^{13}C$ = discrimination isotopique vis-à-vis du carbone 13, N_{bois} = teneur en azote du bois, C_{bois} = teneur en carbone du bois, N_{export} = taux d'exportation d'azote.

	TCR		TTCR	
Caractères	Nagybudmerii	Nyirseg	Nagybudmerii	Nyirseg
Productivité / croissance				
Ht (cm)	244,7 ± 15,7	264,7 ± 17,9	236,4 ± 13,4	234,1 ± 15,7
Circ (mm)	114,6 ± 7,5	113,1 ± 11,6	92,6 ± 7,8	97,0 ± 8,2
*d*Ht/*d*t (cm jour^{-1})	0,70 ± 0,10	0,76 ± 0,14	0,65 ± 0,11	0,57 ± 0,11
*d*nf/*d*t (feuilles jour^{-1})	0,16 ± 0,02	0,15 ± 0,02	0,13 ± 0,01	0,14 ± 0,02
$Biom_S$ (g)			535,2 ± 135,8	628,7 ± 114,2
Rendement (t ha^{-1} an^{-1})			1,83 ± 0,46	2,15 ± 0,39
Phénologie				
Déb. (jour de l'année)	95,1 ± 2,9	93,4 ± 1,9	92,2 ± 2,1	97,3 ± 2,6
Dor. (jour de l'année)	268,9 ± 4,4	262,4 ± 5,7	268,2 ± 3,5	258,4 ± 3,9
LSV (jours)	176,1 ± 7,3	168,4 ± 7,3	175,7 ± 4,4	162,0 ± 4,3
Caractères foliaires				
Surf. (cm^2)	107,3 ± 8,2	137,9 ± 12,2	122,0 ± 15,9	133,4 ± 12,0
SLA (cm^2 g^{-1})	149,6 ± 5,4	144,9 ± 6,7	143,5 ± 4,6	130,7 ± 14,8
$N_{feuille}$ (mg g^{-1})	39,7 ± 2,5	40,1 ± 2,5	41,5 ± 1,9	41,0 ± 1,4
$C_{feuille}$ (mg g^{-1})	477,0 ± 4,6	475,9 ± 4,4	480,8 ± 5,4	485,5 ± 3,7
$\Delta^{13}C$ (‰)	17,7 ± 0,5	16,7 ± 0,3	16,4 ± 0,4	16,9 ± 0,5
Minéralomasse				
N_{tige} (mg g^{-1})			9,6 ± 0,6	9,7 ± 0,5
C_{tige} (mg g^{-1})			460,4 ± 1,3	460,2 ± 1,4
N_{export} (kg N ha^{-1} an^{-1})			15,5 ± 3,2	20,6 ± 3,8

provenances (Tableau 5). Les valeurs moyennes de rendement observées en TTCR étaient de 1,83 ± 0,46 t MS ha^{-1} an^{-1} pour '*Nagybudmerii*' et de 2,15 ± 0,39 t MS ha^{-1} an^{-1} pour '*Nyirseg*'. Ces résultats sont du même ordre de grandeur que ceux observés sur quatre cultivars de robinier âgés de 3 ans ('*Ulloi*', 3,0 tonnes ha^{-1} an^{-1} ; '*Jaszkiséri*' et '*Nyirségi*', 2,4 t ha^{-1} an^{-1} ; '*Kiscsalai*', 4,2 t ha^{-1} an^{-1}) (Rédei *et al*., 2010). Cependant, des rendements atteignant plus de 9,5 t MS ha^{-1} an^{-1} ont été mesurés dans une plantation de robiniers âgés de 14 ans (Grünewald *et al*., 2009). Les faibles rendements de notre étude pourraient être expliqués par la faible disponibilité en eau du sol observée à Guémené-Penfao au cours de la seconde saison de croissance. L'âge des arbres (deux ans) et le système mono-tige non recépé pourraient également être des éléments pouvant expliquer les faibles rendements observés dans notre cas. Enfin, les valeurs de N_{export} observées en TTCR (15,5 ± 3,2 kg N ha^{-1} an^{-1} pour '*Nagybudmerii*' et 20,6 ± 3,8 kg N ha^{-1} an^{-1} pour '*Nyirseg*') étaient inférieures aux valeurs observées dans l'étude de Quinkenstein *et al*., (2012) sur des individus âgés de 2 ans également cultivés en TTCR (31,8 kg N ha^{-1} an^{-1}).

Quel que soit le caractère étudié, aucun effet densité de plantation, aucun effet provenance, et aucun effet d'interaction entre provenance et densité de plantation n'ont pu être mis en évidence. Bien que le robinier puisse être cultivé à la fois en TCR et en TTCR, l'effet de la densité de plantation sur $\Delta^{13}C$ reste à notre connaissance non documenté chez le robinier et nécessiterait d'être étudié. Malgré l'absence de différences significatives entre systèmes de culture, il est intéressant de remarquer que les valeurs moyennes des caractères de croissance et de productivité étaient plus élevées dans le TCR que dans le TTCR. Cette différence peut sans doute être attribuée à la compétition entre arbres pour l'acquisition des ressources plus importante à forte densité de plantation. Ces résultats sont comparables à ceux observés pour les peupliers cultivés à Saint-Cyr-en-val, suggérant que l'augmentation de la densité de plantation accentue la compétition pour l'acquisition des ressources en eau, principalement lorsque cette ressource est limitante.

En TTCR, tout comme pour les Salicacées, la hauteur et la circonférence des tiges étaient corrélées positivement au rendement (r_p = 0,76*** et r_p = 0,94***, respectivement). Aucun lien entre $\Delta^{13}C$ et $N_{feuille}$ n'a pu être mis en évidence chez le robinier, suggérant que les principales sources de variations de WUE_i sont principalement issues de variation de la conductance stomatique à la vapeur d'eau (Farquhar *et al*., 1989). De plus, aucun lien significatif entre $\Delta^{13}C$ et le rendement n'a été observé, venant conforter cette hypothèse. En accord avec d'autres travaux réalisés sur d'autres espèces ligneuses telles que le peuplier et le

Tableau 6. *Moyenne ± erreur standard des caractères liés à la productivité, à la phénologie, au feuillage et à la composition minérale du bois pour le robinier (n = 20) et le saule (n = 60) cultivés en TTCR uniquement*. Voir la légende du tableau 5 pour les abréviations.

Caractères	Saule	Robinier
Productivité / croissance		
Ht (cm)	242,5 ± 6,9	235,3 ± 10,2
Circ (mm)	54,8 ± 1,2	94,8 ± 5,6
dHt/dt (cm jour^{-1})	0,68 ± 0,03	0,61 ± 0,08
$d$nf/dt (feuilles jour^{-1})	0,36 ± 0,01	0,13 ± 0,01
$Biom_S$ (g)	137,0 ± 11,3	582,0 ± 87,0
Rendement (t ha^{-1} an^{-1})	0,7 ± 0,1	2,1 ± 0,3
Phénologie		
Déb. (jour de l'année)	66,9 ± 0,7	94,8 ± 1,8
Dor. (jour de l'année)	250,3 ± 2,2	263,3 ± 2,8
LSV (jours)	183,4 ± 2,1	168,8 ± 3,4
Caractères foliaires		
Surf. (cm^2)	12,6 ± 0,6	128,0 ± 9,7
SLA (cm^2 g^{-1})	87,0 ± 1,8	136,7 ± 8,0
$N_{feuille}$ (mg g^{-1})	16,8 ± 0,4	41,2 ± 1,1
$C_{feuille}$ (mg g^{-1})	466,9 ± 1,1	483,3 ± 3,2
$\Delta^{13}C$ (‰)	19,9 ± 0,1	16,7 ± 0,3
Minéralomasse		
N_{tige} (mg g^{-1})	4,2 ± 0,1	9,6 ± 0,4
C_{tige} (mg g^{-1})	464,4 ± 0,4	460,3 ± 0,9
N_{export} (kg N ha^{-1} an^{-1})	2,7 ± 0,2	19,2 ± 2,6

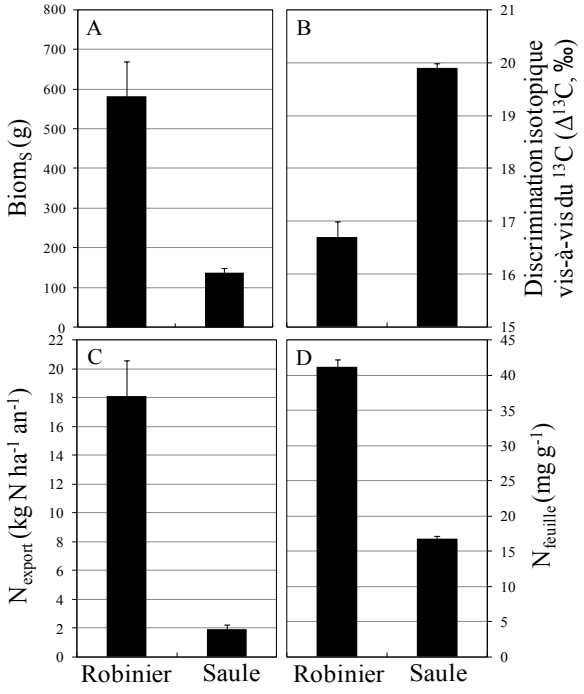


Figure 12. **Histogrammes des valeurs**

saule, ces résultats suggèrent qu'il serait possible de sélectionner des individus à la fois productifs et efficients pour l'utilisation de l'eau (Rae *et al*., 2004 ; Monclus *et al*., 2006 ; Weih *et al*., 2006, Fichot *et al*., 2010 ; Chamaillard *et al*., 2011).

De façon générale, le robinier se différenciait du saule pour tous les caractères étudiés (Tableau 6). Le robinier présentait des valeurs de biomasse sèche plus de trois fois supérieures à celles du saule (Figure 12A). Le taux d'exportation d'azote de la plantation (N_{export}) était plus de sept fois plus élevé pour les robiniers que pour les saules (Tableau 6, Figure 12C). Cependant, il ne nous est pas possible de séparer la proportion d'azote issue du sol de celle issue de la fixation symbiotique. Il a été montré que l'utilisation d'espèce fixatrice de N_2 permettait d'augmenter la quantité d'azote présente dans les tissus de plantes non fixatrices de N_2 utilisées à des fins de production de biomasse (Coté & Camire, 1984). Ainsi, lorsque les peupliers étaient cultivés seuls, 13 kg N ha^{-1} étaient présents dans les tissus alors que 48 kg N ha^{-1} étaient présents dans les tissus des peupliers cultivés en mélange avec de l'aulne. De plus, cela permettait également de produire de la biomasse ligneuse tout en restaurant des sols et terme de qualité nutritive (Zeleznik & Skousen, 1996 ; Grünewald *et al*., 2009).

Le robinier présentait des valeurs de $N_{feuille}$ plus de deux fois supérieures à celles observées chez le saule (Tableau 6, Figure 12D), tout comme cela a été observé sur des espèces tropicales fixatrices et non fixatrices de N_2 (Cernusak *et al*., 2011b). De plus, il a été observé à l'échelle foliaire que l'azote présent dans les feuilles d'une espèce fixatrice de N_2 dérivait de la fixation symbiotique de N_2 (Pons *et al*., 2007). Chez les espèces non fixatrices de N_2, les teneurs en azote foliaire sont directement liées à la disponibilité de l'azote dans le sol. Sachant que plus de 70 % de l'azote foliaire est impliqué dans la machinerie photosynthétique, le robinier est plus adapté que le saule à pousser dans des endroits présentant peu d'éléments nutritifs disponibles pour la croissance des arbres.

Les valeurs de $\Delta^{13}C$ observées pour le robinier étaient inférieures de 3 ‰ à celles observées chez le saule (Tableau 6, Figure 12B). Ces résultats sont en accord avec d'autres études réalisées sur un plus large éventail d'espèces ligneuses montrant que les espèces fixatrices d'azote sont généralement plus efficientes vis-à-vis de l'utilisation de l'eau que les espèces non fixatrices d'azote (Schulze *et al*., 1998 ; Zheng & Shangguan, 2007a,b ; King *et al*., 2013). Ces résultats suggèrent qu'en plus d'être plus productifs que les saules, les robiniers utilisent plus efficacement l'eau. Il faut néanmoins garder en mémoire que le site de Guémené-Penfao a subi une sécheresse estivale sévère en 2010 (*cf*. chapitre 3) et que le robinier a sans doute mieux supporté que le saule ces conditions particulières.

Les travaux réalisés sur robinier dans le cadre de cette thèse restent exploratoires et nécessitent d'être confirmés sur des rotations successives. À notre connaissance, la relation entre $\Delta^{13}C$ et WUE_i n'a pas été validée pour le robinier et nécessiterait d'être étudiée afin de confirmer que $\Delta^{13}C$ est bien un estimateur de WUE_i chez le robinier. L'utilisation de plantations mixtes peuplier – robinier pourrait également être une alternative à la fertilisation minérale des plantations bioénergétiques. Les peupliers bénéficieraient pour leur croissance des exsudats racinaires des robiniers et du retour d'une partie de l'azote atmosphérique *via* la minéralisation de la litière comme cela a déjà été observé dans la littérature (Coté & Camire, 1984 ; Cernusak *et al*., 2011b). L'UMR EEF est impliquée dans le projet *INTENS&FIX*, financé par le programme Systerra de l'Agence Nationale de la Recherche française sur la période 2011-2014, qui traite de l'intensification écologique des plantations forestières à travers l'association d'espèces fixatrices d'azote en mélange avec des espèces non fixatrices d'azote. Un dispositif expérimental de peuplier – robinier cultivé en TCR a d'ailleurs été installé sur le site de Saint-Cyr-en-val. Quatre thèses sont actuellement en cours sur le projet *INTENS&FIX* au sein de l'UMR EEF.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES[3]

[3] La liste des références bibliographiques comprend les références citées dans les articles.

A

Aasamaa K, Heinsoo K, Holm B (2010) Biomass production, water use and photosynthesis of *Salix* clones grown in a wastewater purification system. *Biomass & Bioenergy* 34: 897–905

Alcorn P, Pyttel P, Bauhus J, Smith RGB, Thomas D, James R, Nicotra A (2007) Effects of initial planting density on branch development in 4-year-old plantation grown Eucalyptus pilularis and Eucalyptus cloeziana trees. *Forest Ecology and Management* 252: 41–51.

Adegbidi HG, Volk TA, White EH, Abrahamson LP, Briggs RD, Bickelhaupt DH (2001) Biomass and nutrient removal by willow clones in experimental bioenergy plantations in New York State. *Biomass & Bioenergy* 20: 399–411

Adler A, Verwijst T, Aronsson P (2005) Estimation and relevance of bark proportion in a willow stand. *Biomass & Bioenergy* 29: 102–113

Adler A, Karacic A, Weih M (2008) Biomass allocation and nutrient use in fast-growing woody and herbaceous perennials used for phytoremediation. *Plant Soil* 305: 189–206

Aerts R (1990) Nutrient use efficiency in evergreen and deciduous species from heathlands. *Oecologia* 84: 391–397

Agence Internationale de l'Energie (2007) World Energy Outlook 2007: China and India insights *In* OECD (eds) 675p ISBN: 9789264027305

AILE (2003) *Rapport* - Programme de plantation de Taillis à Très Courte Rotation (TTCR) en Bretagne

Al Afas N, Marron N, Van Dongen S, Laureysens I, Ceulemans R (2008) Dynamics of biomass production in a poplar coppice culture over three rotations (11 years). *Forest Ecology and Management* 255: 1883

Alban DH (1985) Seasonal changes in nutrient concentration and content of aspen suckers in Minnesota. *Forest Science* 31: 785–794

Aravanopoulos FA (2010) Breeding of fast growing forest tree species for biomass production in Greece. *Biomass & Bioenergy* 34: 1531–1537

Argus, G. W (1997) Infrageneric classification of *Salix* (*Salicaceae*) in the New World. - Systematic Botany Monographs. Vol. 52. 121 pp.

Arvizu D, Bruckner T, Chum H, Edenhofer O, Estefen S, Faaij A, Fischedick M, Hansen G, Hiriart G, Hohmeyer O (2011) Technical summary. IPCC Special report on renewable energy sources and climate change mitigation

B

Baker JB, Blackmon BG (1977) Biomass and nutrient accumulation in a cottonwood plantation - first growing season. *Soil Science Society of American Journal* 41: 632–636

Balasus A, Bischoff W-A, Schwarz A, Scholz V, Kern J (2012) Nitrogen fluxes during the initial stage of willows and poplars in short-rotation coppices. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 175: 729–738

Ball J, Carle J, Del lungo A (2005) Contribution des peupliers et des saules à la valorisation durable des forêts et au développement rural. *Unasylva* 221

Barigah TS, Saugier B, Mousseau M, Guittet J, Ceulemans R (1994) Photosynthesis, leaf area and productivity of 5 poplar clones during their establishment year. *Annals of Forest Science* 51 : 613–625

Batzli JM, Graves WR, Vanberkum P (1992) Diversity among *Rhizobia* effective with *Robinia pseudoacacia* L. *Applied and Environment Microbiology* 58: 2137–2143

Beale CV, Long SP (1997) Seasonal dynamics of nutrient accumulation and partitioning in the perennial C-4-grasses *Miscanthus* x *giganteus* and *Spartina cynosuroides*. *Biomass & Bioenergy* 12: 419–428

Benomar L, DesRochers A, Larocque G (2011) Changes in specific leaf area and photosynthetic nitrogen-use efficiency associated with physiological acclimation of

two hybrid poplar clones to intraclonal competition. *Canadian Journal of Forest Research* 41: 1465–1476

Benomar L, DesRochers A, Larocque G (2012). The effects of spacing on growth, morphology and biomass production and allocation in two hybrid poplar clones growing in the boreal region of Canada. *Trees* 26: 939–949

Berendse F, Aerts R (1987) Nitrogen-use-efficiency: a biologically meaningful definition? *Functional Ecology* 1: 293–296

Bergante S, Facciotto G, Minotta G (2010) Identification of the main site factors and management intensity affecting the establishment of Short-Rotation-Coppices (SRC) in Northern Italy through stepwise regression analysis. *Central European Journal of Biology* 5: 522–530

Bergvist P, Linden S (1998) Stem biomass yields at different planting designs and spacings in willow coppice systems. *Biomass & Bioenergy* 14 : 149–156

Berthelot A, Ranger J, Gelhaye D (2000) Nutrient uptake and immobilization in a short-rotation coppice stand of hybrid poplars in north-west France. *Forest Ecology and Management* 128: 167–179

Berthelot A (2001) Mixed clones of short-rotation poplar coppice: Influence on productivity and homogeneity of harvested products. *Canadian Journal of Forest Research* 31: 1116–1126

Berthelot A, Bastien C, Villar M, Pinon J, Heois B, Bourlon V, Menard M (2005) Le GIS Peuplier, 4 ans après sa création.

Bogeat-Triboulot MB, Brosché M, Renaut J, Jouve L, Le Thiec D, Fayyaz P, Vinocur B, Witters E, Laukens K, Teichmann T, Altman A, Hausman JF, Polle A, Kangasjärvi J, Dreyer E (2007). Gradual soil water depletion results in reversible changes of gene expression, protein profiles, ecophysiology, and growth performance in *Populus euphratica*, a poplar growing in arid regions. *Plant Physiology* 143: 876-892.

Böhm C, Quinkenstein A, Freese D, Hüttl RF (2011) Assessing the short rotation woody biomass production on marginal post-mining areas. *Journal of Forest Science* 57: 303–311

Bonal D, Sabatier D, Montpied P, Tremeaux D, Guehl JM (2000) Interspecific variability of delta C-13 among trees in rainforests of French Guiana: functional groups and canopy integration. *Oecologia* 124: 454–468

Bonhomme L, Barbaroux C, Monclus R, Morabito D, Berthelot A, Villar M, Dreyer E, Brignolas F (2008) Genetic variation in productivity, leaf traits and carbon isotope discrimination in hybrid poplars cultivated on contrasting sites. *Annals of Forest Science* 65: 503

Bonhomme L (2009) Protéome foliaire et efficience d'utilisation de l'eau chez le peuplier. Thèse de doctorat. Université d'Orléans, Orléans, France

Bonosi L, Ghelardini L, Weih M (2010) Growth responses of 15 *Salix* genotypes to temporary water stress are different from the responses to permanent water shortage. *Trees-Structure and Functions* 24: 843–854

Brendel O, Pot D, Plomion C, Rozenberg P, Guehl JM (2002) Genetic parameters and QTL analysis of $\delta^{13}C$ and ring width in maritime pine. *Plant, Cell & Environment* 25: 945–953

Brodie LC, DeBell DS (2004) Evaluation of field performance of poplar clones using selected competition indices. *New Forests* 27: 201–214

Brooks JR, Flanagan LB, Buchmann N, Ehleringer JR (1997) Carbon isotope composition of boreal plants: functional grouping of life forms. *Oecologia* 110: 301–311

Buchmann N, Kao WY, Ehleringer J (1997) Influence of stand structure on carbon-13 of vegetation, soils, and canopy air within deciduous and evergreen forests in Utah, United States. *Oecologia* 110: 109–119

Bullard MJ, Mustill SJ, McMillan SD, Nixon PMI, Carver P, Britt CP (2002a) Yield improvements through modification of planting density and harvest frequency in short

rotation coppice *Salix* spp. - 1. Yield response in two morphologically diverse varieties. *Biomass & Bioenergy* 22: 15–25

Bullard MJ, Mustill SJ, Carver P, Nixon PMI (2002b) Yield improvements through modification of planting density and harvest frequency in short rotation coppice *Salix* spp. - 2. Resource capture and used in two morphologically diverse varieties. *Biomass & Bioenergy* 22: 27–39

Bungart R, Huttl RF (2001) Production of biomass for energy in post-mining landscapes and nutrient dynamics. *Biomass & Bioenergy* 20: 181–187

Bunger MT, Thomson HJ (1938) Root development as a factor in the success or failure of windbreak trees in the southern high plains. *Journal of Forestry* 36: 790–803

C

Calfapietra C, Angelis P de, Gielen B, Lukac M, Moscatelli MC, Avino G, Lagomarsino A, Polle A, Ceulemans R, Mugnozza GS (2007) Increased nitrogen-use efficiency of a short-rotation poplar plantation in elevated CO_2 concentration. *Tree Physiology* 27: 1153–1163

Cao S, Feng Q, Su Y, Chang Z, Xi H (2011) Research on the water use efficiency and foliar nutrient status of *Populus euphratica* & *Tamarix ramosissima* in the extreme arid region of China. *Environmental Earth Sciences* 62: 1597–1607

Cao X, Jia JB, Li H, Li MC, Luo J, Liang ZS, Liu TX, Liu WG, Peng CH, Luo ZB (2012) Photosynthesis, water use efficiency and stable carbon isotope composition are associated with anatomical properties of leaf and xylem in six poplar species. *Plant Biology* 14: 612–620

Casasoli M, Poti D, Plomion C, Monteverdi MC, Barreneche T, Lauteri M, Villani F (2004) Identification of QTLs affecting adaptive traits in *Castanea sativa* Mill. *Plant, Cell & Environment* 27: 1088–1101

Castellani E, Freccero V, Lapietra G (1967) Proposta Di Una Scala Di Differenziazione Delle Gemme Fogliari Del Pioppo Utile Per Gli Interventi Antiparas Sitari. *Giornale botanico italiano* 101: 355–360

Cavanagh A, Gasser MO, Labrecque M (2011) Pig slurry as fertilizer on willow plantation. *Biomass & Bioenergy* 35: 4165–4173

Cernusak LA, Winter K, Aranda J, Turner BL (2008) Conifers, angiosperm trees, and lianas: growth, whole-plant water and nitrogen use efficiency, and stable isotope composition ($\delta^{13}C$ and $\delta^{18}O$) of seedlings grown in a tropical environment. *Plant Physiology* 148: 642–659

Cernusak LA, Hutley LB, Beringer J, Holtum JAM, Turner BL (2011a) Photosynthetic physiology of eucalypts along a sub-continental rainfall gradient in northern Australia. *Agricultural and Forest Meteorology* 151: 1462–1470

Cernusak LA, Winter K, Martinez C, Correa E, Aranda J, Garcia M, Jaramillo C, Turner BL (2011b) Responses of legume versus nonlegume tropical tree seedlings to elevated CO_2 concentration. *Plant Physiology* 157: 372–385

Ceulemans R (1990) Genetic variation in functional and structural determinants in poplar. Thesis Publishers, Amsterdam., Antwerp

Ceulemans R, Deraedt (1999) Production physiology and growth potential of poplars under short-rotation forestry culture. *Forest Ecology and Manegement* 121 : 9–23

Ceulemans R, McDonald AJS, Pereira JS (1996) A comparison among eucalypt, poplar and willow characteristics with particular reference to a coppice, growth-modelling approach. *Biomass & Bioenergy* 11: 215–231

Chamaillard S (2011) Efficience d'utilisation de l'eau chez le peuplier noir (*Populus nigra* L.) : variabilité et plasticité en réponse aux variations de l'environnement. Thèse de doctorat. Université d'Orléans, Orléans, France

Chamaillard S, Fichot R, Vincent-Barbaroux C, Bastien C, Depierreux C, Dreyer E, Villar M, Brignolas F (2011) Variations in bulk leaf carbon isotope discrimination,

growth and related leaf traits among three *Populus nigra* L. populations. *Tree Physiology* 31: 1076–1087

Cienciala E, Lindroth A (1995) Gas-exchange and sap flow measurements of *Salix viminalis* trees in short-rotation forest .2. diurnal and seasonal-variations of stomatal response and water-use efficiency. *Trees-Structure and Function* 9: 295–301

Clifton-Brown JC, Lewandowski I (2000) Water use efficiency and biomass partitioning of three different *Miscanthus* genotypes with limited and unlimited water supply. *Annals of Botany* 86: 191–200

Cocozza C, Giovannelli A, Traversi ML, Castro G, Cherubini P, Tognetti R (2011) Do tree-ring traits reflect different water deficit responses in young poplar clones (*Populus* x *canadensis* Monch "I-214" and *P. deltoides* "Dvina")? *Trees- Structure and Function* 25: 975–985

Cooke JEK, Weih M, (2005) Nitrogen storage and seasonal nitrogen cycling in *Populus*: bridging molecular physiology and ecophysiology. *New Phytologist* 167: 19–30

Cote B, Camire C (1984) Growth, nitrogen accumulation, and symbiotic dinitrogen fixation in pure and mixed plantings of hybrid poplar and black alder. *Plant and Soil* 78: 204–220

Craig H (1957) Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass-spectrometric analysis of carbon dioxide. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 12: 133–149

Craufurd PQ, Wheeler TR, Ellis RH, Summerfield RJ, Williams JH (1999) Effect of temperature and water deficit on water-use-efficiency, carbon isotope discrimination, and specific leaf area in *Peanut*. *Crop Science* 39: 136–142

Cromer R, Williams E (1982) Biomass and nutrient accumulation in a planted *E. globulus* (Labill.) fertilizer trial. *Australian Journal of Botany* 30: 265–278

D

Dawson TE, Mambelli S, Plamboeck AH, Templer PH, Tu KP (2002) Stable isotopes in plant ecology. *Annual Review of Ecology and Systematics* 33: 507–559

DeBell DS, Clendenen GW, Harrington CA, Zasada JC (1996) Tree growth and stand development in short-rotation *Populus* plantings: 7-year results for two clones at three spacings. *Biomass & Bioenergy* 11: 253–269

DeLucia EH, Schlesinger WH (1991) Resource-use efficiency and drought tolerance in adjacent Great-basin and Sierran plants. *Ecology* 72: 51–58

DesRochers A, van den Driessche R, Thomas BR (2006) NPK fertilization at planting of three hybrid poplar clones in the boreal region of Alberta. *Forest Ecology and Management* 232: 216–225

DesRochers A, van den Driessche R, Thomas BR (2007) The interaction between nitrogen source, soil pH, and drought in the growth and physiology of three poplar clones. *Canadian Journal of Botany* 85: 1046–1057

DesRochers A, Tremblay F (2009) The effect of root and shoot pruning on early growth of hybrid poplars. *Forest Ecology and Management* 258: 2062–2067

Devitt DA, Smith SD, Neuman DS (1997) Leaf carbon isotope ratios in three landscape species growing in an arid environment. *Journal of Arid Environments* 36: 249–257

Dickmann DI, Liu Z, Nguyen PV, Pregitzer KS (1992) Photosynthesis, water relations, and growth of two hybrid *Populus* genotypes during a severe drought. *Canadian Journal of Forest Research* 22: 1094–1106

Dickmann DI, Kuzovkina J (2008) Poplars and willow of the world, with emphasis on silviculturally important species. *In* JG Isebrands, J Richardson, eds, Poplars and willows in the world: meeting the needs of society and the environment. FAO/IPC, Rome, Italy, p 135

Dillen SY, Marron N, Bastien C, Ricciotti L, Salani F, Sabatti M, Pinel MPC, Rae AM, Taylor G, Ceulemans R (2007) Effects of environment and progeny on biomass

estimations of five hybrid poplar families grown at three contrasting sites across Europe. *Forest Ecology and Management* 252: 12–23

Dillen SY, Marron N, Koch B, Ceulemans R (2008) Genetic variation of stomatal traits and carbon isotope discrimination in two hybrid poplar families (*Populus deltoides* "S9-2" × *P. nigra* "Ghoy" and *P. deltoides* "S9-2" × *P. trichocarpa* "V24"). *Annals of Botany* 102: 399–407

Dillen SY, Storme V, Marron N, Bastien C, Neyrinck S, Steenackers M, Ceulemans R, Boerjan W (2009) Genomic regions involved in productivity of two interspecific poplar families in Europe. 1. Stem height, circumference and volume. *Tree Genetic & Genomes* 5: 147–164

Dillen SY, Kasmioui OE, Marron N, Calfapietra C, Ceulemans R (2011a) Poplars. Energy Crops, royal Society of Chemistry. Nigel G Halford and Angela Karp, pp 275–300

Dillen SY, Monclus R, Barbaroux C, Bastien C, Ceulemans R, Dreyer E, Villar M, Brignolas F, Marron N (2011b) Is the ranking of poplar genotypes for leaf carbon isotope discrimination stable across sites and years in two different full-sib families? *Annals of Forest Sciences* 68: 1265–1275

Dillen SY, Djomo SN, Al Afas A, Vandeveren S, Ceulemans R (2013) Biomass yield and energy balance of short-rotation poplar coppice with multiple clones on degraded land during 16 years. *Biomass & Bioenergy* 56: 157–165

Ding M, Su X, Huang Q (2006) Study on stable carbon isotopic composition of *Populus nigra* L. gene resource. *Forest Research*, Beijing 19: 272–276

Dini-Papanastasi O (2008) Effects of clonal selection on biomass production and quality in *Robinia pseudoacacia var. monophylla* Carr. *Forest Ecology and Management* 256: 849–854

Douthe C, Dreyer E, Epron D, Warren CR (2011) Mesophyll conductance to CO_2, assessed from online TDL-AS records of (CO_2)-C-13 discrimination, displays small but significant short-term responses to CO_2 and irradiance in *Eucalyptus* seedlings. *Journal of Experimental Botany* 62: 5335–5346

E

Eastham J, Rose CW, Charles-Edwards DA, Cameron DM, Rance SJ (1990) Planting density effects on water use efficiency of trees and pasture in an agroforestry experiment. *New Zealand Journal of Forestry Science*. 20: 39–53

Eckenwalder, J.E. (1996) Systematics and evolution of *Populus*. Biology of *Populus* and its applications for management and conservation, NRC Research Press. R. F. Stettler, H.D. Jr. Bradshaw, P.E. Heilman & T.M. Hinckley, Ottawa, Ontario, Canada, p 539

Ehleringer JR (1988) Carbon isotope ratios and physiological processes in aridland plants. Stables isotopes in ecologiocal research, Springer-Verlag. Rundel PW Ehleringer JR and NagyKA, New York USA, pp 41–54

Ehleringer JR (1993) Carbon and water relations in desert plants: an isotopic perspective. Stable isotopes and plant carbon-water relations, Academic press. Ehleringer J Hall A and Farquhar G, San Diego, USA, pp 155–172

Elias AA, Busov VB, Kosola KR, Ma C, Etherington E, Shevchenko O, Gandhi H, Pearce DW, Rood SB, Strauss SH (2012) Green revolution trees: semidwarfism transgenes modify gibberellins, promote root growth, enhance morphological diversity, and reduce competitiveness in hybrid poplar. *Plant Physiology* 160: 1130–1144

Elliott KJ, White AS (1993) Effects of competition from young northern hardwoods on red pine seedling growth, nutrient use efficiency, and leaf morphology. *Forest Ecology and Management* 57: 233–255

Eppler U, Petersen JE (2007) Short Rotation Forestry, Short Rotation Coppice and energy grasses in the European Union: agro-environmental aspects, present use and perspectives, in: EEA Specific Contract No 2 3604/B2006/EEA.52793 – Deliverable Task 2b: Background report on current SRF/SRC cropping patterns in Europe, 41 pp

Ericsson T, Rytter L, Linder S (1992) Nutritional dynamics and requirements of short rotation forests. *In* CP Mitchell, JB Ford-Robertson, TM Hinckley, L Sennerby-

Forsse, eds, Ecophysiology of short rotation forest crops. Elsevier Applied Sciences, London and New York, pp 35–58

Ericsson T (1994) Nutrient cycling in energy forest plantations. *Biomass & Bioenergy* 6: 115–121

Evans JR (1983) Nitrogen and photosynthesis in the flag leaf of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Physiology* 72: 297–302

Evans JR (1989) Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C3 plants. *Oecologia* 78: 9–19

F

Fang S, Xu X, Lu S, Tang L (1999) Growth dynamics and biomass production in short-rotation poplar plantations: 6-year results for three clones at four spacings. *Biomass & Bioenergy* 17: 95–108.

Fang S, Xie B, Liu J (2008) Soil nutrient availability, poplar growth and biomass production on degraded agricultural soil under fresh grass mulch. *Forest Ecology and Management* 255: 1802–1809

FAO (2008) Les peupliers, les saules et le bien-être des populations. Synthèse des rapports d'activité nationaux, préparée pour la 23ème Session de la Commission internationale du peuplier, organisée conjointement par la FAO, et par la Beijing Forestry University, la State Forest Administration of China et la Chinese Academy of Forestry.

Farquhar GD, Caemmerer SV, Berry JA (1980) A biochemical-model of photosynthetic CO_2 assimilation in leaves of C3 species. *Planta* 149: 78–90

Farquhar GD, Oleary MH, Berry JA (1982) On the relationship between carbon isotope discrimination and the inter-cellular carbon-dioxide concentration in leaves. *Australian Journal of Plant Physiology* 9: 121–137

Farquhar GD, Richards RA (1984) Isotopic composition of plant carbon correlates with water-use efficiency of wheat genotypes. *Australian Journal of Plant Physiology* 11: 539–552

Farquhar GD, Ehleringer JR, Hubick KT (1989) Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 40: 503–537

Farquhar GD, Cernusak LA (2012) Ternary effects on the gas exchange of isotopologues of carbon dioxide. *Plant, Cell & Environment* 35: 1221–1231

Feng YL, Fu GL, Zheng YL (2008) Specific leaf area relates to the differences in leaf construction cost, photosynthesis, nitrogen allocation, and use efficiencies between invasive and noninvasive alien congeners. *Planta* 228: 383–390

Fichot R, Laurans F, Monclus R, Moreau A, Pilate G, Brignolas F (2009) Xylem anatomy correlates with gas exchange, water-use efficiency and growth performance under contrasting water regimes: evidence from *Populus deltoides* x *Populus nigra* hybrids. *Tree Physiology* 29: 1537–1549

Fichot R (2010) Variabilité structurale et fonctionnelle du xylème et plasticité en réponse à la sécheresse chez le peuplier. Thèse de doctorat. Université d'Orléans, Orléans, France

Fichot R, Barigah TS, Chamaillard S, Le Thiec D, Laurans F, Cochard H, Brignolas F (2010) Common trade-offs between xylem resistance to cavitation and other physiological traits do not hold among unrelated *Populus deltoides* × *Populus nigra* hybrids. *Plant, Cell & Environment* 33: 1553–1568

Fichot R, Chamaillard S, Depardieu C, Le Thiec D, Cochard H, Barigah TS, Brignolas F (2011) Hydraulic efficiency and coordination with xylem resistance to cavitation, leaf function, and growth performance among eight unrelated *Populus deltoides* × *Populus nigra* hybrids. *Journal of Experimental Botany* 62: 2093–2106

Finzi AC, Norby RJ, Calfapietra C, Gallet-Budynek A, Gielen B, Holmes WE, Hoosbeek MR, Iversen CM, Jackson RB, Kubiske ME, Ledford J, Liberloo M, Oren R, Polle A, Pritchard S, Zak DR, Schlesinger WH, Ceulemans R (2007) Increases in

nitrogen uptake rather than nitrogen-use efficiency support higher rates of temperate forest productivity under elevated CO_2. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104: 14014–14019

Fredeen AL, Gamon JA, Field CB (1991) Responses of photosynthesis and carbohydrate-partitioning to limitations in nitrogen and water availability in field-grown sunflower. *Plant, Cell & Environment* 14: 963–970

Frewen BE, Chen THH, Howe GT, Davis J, Rohde A, Boerjan W, Bradshaw HD (2000) Quantitative trait loci and candidate gene mapping of bud set and bud flush in Populus. Genetics 154: 837–845

Froux F, Huc R, Ducrey M, Dreyer E (2002) Xylem hydraulic efficiency versus vulnerability in seedlings of four contrasting Mediterranean tree species (*Cedrus atlantica*, *Cupressus sempervirens*, *Pinus halepensis* and *Pinus nigra*). *Annals of Forest Science* 59: 409–418

G

Garcia, J., NGuyen-The, N. (2007) Espèces ligneuses pour la production de biomasse : Le robinier faux-acacia.
http://www.fcba.fr/biotechnologie/fiches_essences/culiexa_robinier.pdf

Gelhaye D, Ranger J, Bonneau M (1997) Biomass and nutrient content of a short rotation coppice of Beaupre poplars planted on a non-alluvial acidic soil improved by fertilization. *Annales des Sciences Forestières* 54: 649–665

Glynn C, Herms DA, Orians CM, Hansen RC, Larsson S (2007) Testing the growth-differentiation balance hypothesis: dynamic responses of willows to nutrient availability. *Journal of New Phytologist* 176: 623–634

Goodlass G, Green M, Hilton B, McDonough S (2007) Nitrate leaching from short-rotation coppice. *Soil Use and Management* 23:178–184

Gornall JL, Guy RD (2007) Geographic variation in ecophysiological traits of black cottonwood (*Populus trichocarpa*). *Canadian Journal of Botany* 85: 1202–1213

Gray JT, Schlesinger WH (1983) Nutrient use by evergreen and deciduous shrubs in southern california: II. experimental investigations of the relationship between growth, nitrogen uptake and nitrogen availability. *The Journal of Ecology* 71: 43.

Green DS, Kruger EL, Stanosz GR, Isebrands JG, (2001) Light-use efficiency of native and hybrid poplar genotypes at high levels of intracanopy competition. *Canadian Journal of Forest Research* 31: 1030–1037

Gruenewald H, Brandt BKV, Schneider BU, Bens O, Kendzia G, Huttl RF (2007) Agroforestry systems for the production of woody biomass for energy transformation purposes. *Ecological Engineering* 29: 319–328

Grünewald H, Böhm C, Quinkenstein A, Grundmann P, Eberts J, Wühlisch G von (2009) *Robinia pseudoacacia* L.: a lesser known tree species for biomass production. *Bioenergy Research* 2: 123–133

Guehl JM, Nguyen-Queyrens A, Loustau D, Ferhi A (1994) Genetic and environmental determinants of water-use efficiency and carbon isotope discrimination in forest trees. *In* Sandermann H.J., B-M M., eds, EUROSILVA Contribution to Forest Tree Physiology. INRA, Versailles, pp 297–321

Guehl JM, Fort C, Ferhi A (1995) Differential response of leaf conductance, carbon isotope discrimination and water-use efficiency to nitrogen deficiency in maritime pine and pedunculate oak plants. *New Phytologist* 131: 149–157

Guehl JM, Domenach AM, Bereau M, Barigah TS, Casabianca H, Ferhi A, Garbaye J (1998) Functional diversity in an Amazonian rainforest of French Guyana: a dual isotope approach (δ^{15}N and δ^{13}C). *Oecologia* 116: 316–330

Guidi W, Labrecque M (2010) Effects of high water supply on growth, water use, and nutrient allocation in willow and poplar grown in a 1-year pot trial. *Water Air Soil & Pollution* 207: 85–101

Guidolotti G, Calfapietra C, Loreto F (2011) The relationship between isoprene emission, CO_2 assimilation and water use efficiency across a range of poplar genotypes. *Physiologia Plantarum* 142: 297–304

H

Hanley (2003) Genetic mapping of important agronomic traits in biomass Willow. Thèse de doctorat. University of Bristol, UK.

Hanley S, Karp A (2003) Improving willow breeding efficiency. Contrat no. FES B/W6/00599/REP DTI/Pub URN 03/1219. Rothamsted Research, UK

Hanover JW (1990) Chemical basis for resistance of black locust to decay. *In*: K. Miller (ed.). Advanced technology applications to eastern hardwood utilization. Prog. Rpt. No. 3, Michigan State Univ. Agr. Expt. Sta., East Lansing

Hansen EA, Baker JB (1979) Biomass and nutrient removal in short rotation intensively cultured plantations. State University of New York, College of Environmental Science and Forestry, pp 130–151

Heilman PE, Stettler RF (1986) Nutritional concerns in selection of black cottonwood and hybrid clones for short rotation. *Canadian Journal of Forest Research* 16: 860–863

Heilman PE, Stettler RF (1990) Genetic-variation and productivity of *Populus trichocarpa* and its hybrids .IV. Performance in short-rotation coppice. *Canadian Journal of Forest Research* 20: 1257–1264

Heilman PE, Fu-Guang X (1993) Influence of nitrogen on growth and productivity of short-rotation *Populus trichocarpa* × *Populus deltoides* hybrids. *Canadian Journal of Forest Research* 23: 1863–1869

Heilman P, Norby RJ (1998) Nutrient cycling and fertility management in temperate short rotation forest systems. *Biomass & Bioenergy* 14: 361–370

Henderson CR (1953) Estimation of variance and covariance components. *Biometrics* 9: 226–252

Herbert MA (1996) Fertilizers and Eucalypt plantations in South Africa. Nutrition of Eucalypts. P.M. Attiwill, M.A. Adams, CSIRO, Australia, pp 303–325

Hikosaka K (2004) Interspecific difference in the photosynthesis–nitrogen relationship: patterns, physiological causes, and ecological importance. *Journal of Plant Research* 117: 481–494

Hofmann-Schielle C, Jug A, Makeschin F, Rehfuess KE (1999) Short-rotation plantations of balsam poplars, aspen and willows on former arable land in the Federal Republic of Germany. I. Site-growth relationships. *Forest Ecology and Management* 121: 41–55

Howe GT, Saruul P, Davis J, Chen THH (2000) Quantitative genetics of bud phenology, frost damage, and winter survival in an F-2 family of hybrid poplars. *Theorical Applied Genetics* 101: 632–642

Hudson JMG, Henry GHR, Cornwell WK (2011) Taller and larger: shifts in Arctic tundra leaf traits after 16 years of experimental warming. *Global Change Biology* 17: 1013–1021

I

Impa SM, Nadaradjan S, Boominathan P, Shashidhar G, Bindumadhava H, Sheshshayee MS (2005) Carbon isotope discrimination accurately reflects variability in WUE measured at a whole plant level in rice. *Crop Science* 45: 2517–2522

IPCC (2007) Climate change 2007: the physical science basis. Summary for policymakers. Contribution of working group I to the fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.

Israeli Y, Schwartz A, Plaut Z, Yakir D (1996) Effects of light regime on $\delta^{13}C$, photosynthesis and yield of field-grown banana (*Musa* sp., *Musaceae*). *Plant, Cell & Environment* 19: 225–230

J

Jørgensen U (1997) Genotypic variation in dry matter accumulation and content of N, K and Cl in *Miscanthus* in Denmark. *Biomass & Bioenergy* 12: 155–169

Jørgensen U, Schelde K (2001) Energy crop water and nutrient use efficiency. The international Energy Agency IEA Bioenergy Task 17, Short Rotation Crops. p 34

Jug A, Hofmann-Schielle C, Makeschin F, Rehfuess KE (1999a) Short-rotation plantations of balsam poplars, aspen and willows on former arable land in the Federal Republic of Germany. II. Nutritional status and bioelement export by harvested shoot axes. *Forest Ecology and Management* 121: 67–83

Jug A, Makeschin F, Rehfuess KE, Hofmann-Schielle C (1999b) Short-rotation plantations of balsam poplars, aspen and willows on former arable land in the Federal Republic of Germany. III. Soil ecological effects. *Forest Ecology and Management* 121: 85–99

K

Kanaga MK, Ryel RJ, Mock KE, Pfrender ME (2008) Quantitative-genetic variation in morphological and physiological traits within a quaking aspen (*Populus tremuloides*) population. *Canadian Journal of Forest Research* 38: 1690–1694

Karp, A. (2007) Bioenergy Research in the UK; Strategic Challenges. Tetrapartite meeting 2007. http://www.ars.usda.gov/meetings/2007Tetrapartite/documents/2007TetrapartiteBioenergyUK.doc.

Karp A, Shield I (2008) Bioenergy from plants and the sustainable yield challenge. *New Phytologist* 179: 15–32

Karp A, Hanley SJ, Trybush SO, Macalpine W, Pei M, Shield I (2011) Genetic improvement of willow for bioenergy and biofuels. *Journal of Integrative Plant Biology* 53:151–165

Keitel C, Adams MA, Holst T, Matzarakis A, Mayer H, Rennenberg H, Gessler A (2003) Carbon and oxygen isotope composition of organic compounds in the phloem sap provides a short-term measure for stomatal conductance of European beech (*Fagus sylvatica* L.). *Plant, Cell & Environment* 26: 1157–1168

Keresztesi B (1988) Black locust: the tree of agriculture. *Outlook on Agriculture* 17: 77–85

Kering MK, Butler TJ, Biermacher JT, Guretzky JA (2012) Biomass yield and nutrient removal rates of perennial grasses under nitrogen fertilization. *Bioenergy Research* 5: 61–70

Kerr G (2003) Effects of spacing on the early growth of planted Fraxinus excelsior. *Canadian Journal of Forest Research* 33: 1196–1207

King JS, Ceulemans R, Albaugh JM, Dillen SY, Domec JC, Fichot R, Fischer M, Leggett Z, Sucre E, Trnka M, Zenone T (2013) The challenge of lignocellulosic bioenergy in a water-limited world. *BioScience* 63: 102–117

Klasnja B, Kopitovic S, Orlovic S (2002) Wood and bark of some poplar and willow clones as fuelwood. *Biomass & Bioenergy* 23: 427–432

Kopp RF, Abrahamson LP, White EH, Burns KF, Nowak CA (1997) Cutting cycle and spacing effects on biomass production by a willow clone in New York. *Biomass & Bioenergy* 12: 313–319

Körner C, Renhardt U (1987) Dry matter partitioning and root length/leaf area ratios in herbaceous perennial plants with diverse altitudinal distribution. *Oecologia* 74: 411–418

Körner C, Farquhar GD, Wong SC (1991) Carbon isotope discrimination by plants follows latitudinal and altidudinal trends. *Oecologia* 88: 30–40

Kubiske ME, Pregitzer KS, Mikan CJ, Zak DR, Maziasz JL, Teeri JA (1997) *Populus tremuloides* photosynthesis and crown architecture in response to elevated CO_2 and soil N availability. *Oecologia* 110: 328–336

Kuzovkina YA, Weih M, Romero MA, Charles J, Hust S, McIvor I, Karp A, Trybush S, Labrecque M, Teodorescu TI, Singh NB, Smart LB, Volk TA (2008) *Salix*: botany and global horticulture. *In* J Janick, ed, Horticultural Reviews. John Wiley & Sons, Inc., pp 447–489

L

Labrecque M, Teodorescu TI (2005) Field performance and biomass production of 12 willow and poplar clones in short-rotation coppice in southern Quebec (Canada). *Biomass & Bioenergy* 29: 1–9

Laclau J-P, Bouillet J-P, Ranger J (2000) Dynamics of biomass and nutrient accumulation in a clonal plantation of *Eucalyptus* in Congo. *Forest Ecology and Management* 128: 181–196

Lagomarsino A, Moscatelli MC, Hoosbeek MR, De Angelis P, Grego S (2008) Assessment of soil nitrogen and phosphorous availability under elevated CO_2 and N-fertilization in a short rotation poplar plantation. *Plant & Soil* 308: 131–147

Lamers JPA, Khamzina A, Worbes M (2006) The analyses of physiological and morphological attributes of 10 tree species for early determination of their suitability of afforest degraded landscapes in the Aral Sea basin of Uzbekistan. *Forest ecology and Management* 221 : 249–259

Larchevêque M, Desrochers A, Larocque G (2011a) Comparison of manure compost and mineral fertilizer for hybrid poplar plantation establishment on boreal heavy clay soils. *Annals of Forest Science* 68: 849–860

Larchevêque M, Maurel M, Desrochers A, Larocque GR (2011b) How does drought tolerance compare between two improved hybrids of balsam poplar and an unimproved native species? *Tree Physiology* 31: 240–249

Larocque GR (1999) Performance and morphological response of the hybrid poplar DN-74 (*Populus deltoides* × *P. nigra*) under different spacings on a 4-year rotation. *Annals of Forest Science* 56: 275–287

Larsson S (1998) Genetic improvement of willow for short-rotation coppice. *Biomass & Bioenergy* 15: 23–26

Larsson S, Pirrwitz D (1998) Genetic improvement of willow (*Salix*) as a source of bioenergy. Produced for the EC. Biomat Net. Contract no. AIR2-CT94-1617

Laureysens I, Deraedt W, Indeherberge T, Ceulemans R (2003) Population dynamics in a 6-year old coppice culture of poplar. I. Clonal differences in stool mortality, shoot dynamics and shoot diameter distribution in relation to biomass production. *Biomass & Bioenergy* 24: 81–95

Laureysens I, Bogaert J, Blust R, Ceulemans R (2004) Biomass production of 17 poplar clones in a short-rotation coppice culture on a waste disposal site and its relation to soil characteristics. *Forest Ecology and Management* 187: 295–309

Laureysens I, Deraedt W, Ceulemans R (2005a) Population dynamics in a 6-year-old coppice culture of poplar. II. Size variability ansd one-sided competition of shoots ans stools. *Forest Ecology and Management* 218 : 115–128

Laureysens I, Pellis A, Willems J, Ceulemans R (2005b) Growth and production of a short rotation coppice culture of poplar. III. Second rotation results Biomass & Bioenergy 29 : 10–21

Lauteri M, Scartazza A, Guido MC, Brugnoli E (1997) Genetic variation in photosynthetic capacity, carbon isotope discrimination and mesophyll conductance in provenances of *Castanea sativa* adapted to different environments. *Functional Ecology* 11: 675–683

Leffler AJ, Evans AS (1999) Variation in carbon isotope composition among years in the riparian tree *Populus fremontii*. *Oecologia* 119: 311–319

Leffler AJ, Evans AS (2001) Physiological variation among *Populus fremontii* populations: short- and long-term relationships between delta C-13 and water availability. *Tree Physiology* 21: 1149–1155

Li CY, Yin CY, Liu SR (2004) Different responses of two contrasting *Populus davidiana* populations to exogenous abscisic acid application. *Environmental and Experimental Botany* 51: 237–246

Li S, Pezeshki SR, Goodwin S, Shields FD Jr. (2004) Physiological responses of black willow (*Salix nigra*) cuttings to a range of soil moisture regimes. *Photosynthetica* 42: 585

Li H, Li M, Luo J, Cao X, Qu L, Gai Y, Jiang X, Liu T, Bai H, Janz D, Polle A, Peng C, Luo ZB (2012) N-fertilization has different effects on the growth, carbon and nitrogen

physiology, and wood properties of slow- and fast-growing *Populus* species. *Journal of Experimental Botany* doi: 10.1093/jxb/ers271

Liang ZS, Yang HW, Shao HB, Han RL (2006) Investigation on water consumption characteristics and water use efficiency of poplar under soil water deficits on the Loess Plateau. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 53: 23–28

Liberloo M, Gielen B, Calfapietra C, Veys C, Pigliacelli R, Scarascia-Mugnozza G, Ceulemans R (2004) Growth of a poplar short rotation coppice under elevated atmospheric CO_2 concentrations (EUROFACE) depends on fertilization and species. *Annals of Forest Science* 61: 299–307

Liberloo M, Calfapietra C, Lukac M, Godbold D, Luos ZB, Polle A, Hoosbeek MR, Kull O, Marek M, Raines C, Rubino, M, Taylor G, Scarascia-Mugnozza, Ceulemans R (2006) Woody biomass production during the second rotation of a bio-energy *Populus* plantation increases in a future high CO_2 world. Global Change Biology 12: 1094–1106

Lindegaard KN, Parfitt RI, Donaldson G, Hunter T, Dawson WM, Forbes EGA, Carter MM, Whinney CC, Whinney JE, Larsson S (2001) Comparative trials of elite Swedish and UK biomass willow varieties. *Aspects of Applied Biology* 65

Linderson ML, Iritz Z, Lindroth A (2007) The effect of water availability on stand-level productivity, transpiration, water use efficiency and radiation use efficiency of field-grown willow clones. *Biomass & Bioenergy* 31: 460–468

Lindroth A, Cienciala E (1996) Water use efficiency of short-rotation *Salix viminalis* at leaf, tree and stand scales. *Tree Physiology* 16: 257–262

Lodhiyal LS, Lodhiyal N (1997) Nutrient cycling and nutrient use efficiency in short rotation, high density central Himalayan Tarai poplar plantations. *Annals of Botany* 79: 517–527

Lodhiyal LS, Singh RP, Singh SP (1995a) Structure and function of an age series of poplar plantations in central Himalaya: 2. Nutrient Dynamics. *Annals of Botany* 76: 201–210

Lodhiyal LS, Singh RP, Singh SP (1995b) Structure and Function of an Age Series of Poplar Plantations in Central Himalaya: 1. Dry-Matter Dynamics. *Annals of Botany* 76: 191–199

Lynch M, Walsh JB (1998) Genetics and analysis of quantitative traits. Sinauer Associates Editions, Inc., Sunderland, MA, USA, 980pp.

M

Madhavan S, Treichel I, O'leary MH (1991) Effects of relative humidity on carbon isotope fractionation in plants. *Botanica acta* 104: 292–294

Makino A, Mae T, Ohira K (1988) Differences between wheat and rice in the enzymic properties of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and the relationship to photosynthetic gas exchange. *Planta* 174: 30–38

Marmiroli M, Robinson BH, Clothier BE, Bolan NS, Marmiroli N, Schulin R (2012) Effect of dairy effluent on the biomass, transpiration, and elemental composition of *Salix kinuyanagi* Kimura. *Biomass & Bioenergy* 37: 282–288

Marron N (2003) Ecophysiologie des peupliers euraméricains en réponse à la sécheresse. Thèse de doctorat. Université d'Orléans, Orléans, France, 237 pp.

Marron N, Villar M, Dreyer E, Delay D, Boudouresque E, Petit JM, Delmotte FM, Guehl JM, Brignolas F (2005) Diversity of leaf traits related to productivity in 31 *Populus deltoides* × *Populus nigra* clones. *Tree Physiology* 25: 425–435

Marron N, Bastien C, Sabatti M, Taylor G, Ceulemans R (2006) Plasticity of growth and sylleptic branchiness in two poplar families grown at three sites across Europe. *Tree Physiology* 26: 935–946

Marron N, Ceulemans R (2006) Genetic variation of leaf traits related to productivity in a *Populus deltoides* × *Populus nigra* family. *Canadian Journal of Forest Research* 36: 390–400

Marron N, Dillen SY, Ceulemans R (2007) Evaluation of leaf traits for indirect selection of high yielding poplar hybrids. *Environmental and Experimental Botany* 61: 103–116

Marron N, Brignolas F, Delmotte FM, Dreyer E (2008) Modulation of leaf physiology by age and in response to abiotic constraints in young cuttings of two *Populus deltoides* × *P. nigra* genotypes. *Annals of Forest Science* 65

Marron N, Storme V, Dillen SY, Bastien C, Ricciotti L, Salani F, Sabatti M, Rae AM, Ceulemans R, Boerjan W (2010) Genomic regions involved in productivity of two interspecific poplar families in Europe. 2. Biomass production and its relationships with tree architecture and phenology. *Tree Genetics and Genomes* 6: 533–554

Marschner H (1995) Mineral nutrition of higher plants. 2nd edition, Acadamic Press, NY (USA), 889 pp.

Marsden C (2010) Bilans carbonés et hydriques de plantations à croissance rapide d'Eucalyptus: modélisation et extrapolation spatiale de la parcelle à la région. Thèse de doctorat. Université de Nancy 1 - Henri Poincare, Nancy, France, 263 pp.

Martin PJ, Stephens W (2006) Willow growth in response to nutrients and moisture on a clay landfill cap soil. I. Growth and biomass production. *Bioresource Technology* 97: 437–448

Martin-Benito D, Del Rio M, Heinrich I, Helle G, Canellas I (2010) Response of climate-growth relationships and water use efficiency to thinning in a *Pinus nigra* afforestation. *Forest Ecology and Management* 259: 967–975

McDowell N, Brooks JR, Fitzgerald SA, Bond BJ (2003) Carbon isotope discrimination and growth response of old *Pinus ponderosa* trees to stand density reductions. *Plant, Cell & Environment* 26: 631–644

McIvor I, Cumming H, Hurst S (2005) Response of four *Salix* species to soil water deficit. *In*: Agronomy New Zealand Proceedings. Lincoln Canterbury (NZ), Eds Agronomy Society New Zealand, p. 74-80

Meinzer FC, Goldstein G, Grantz DA (1990) Carbon isotope discrimination in coffee genotypes grown under limited water supply. *Plant Physiology* 92: 130–135

Merino A, Balboa MA, Rodríguez Soalleiro R, Álvarez González JG (2005) Nutrient exports under different harvesting regimes in fast-growing forest plantations in southern Europe. *Forest Ecology and Management* 207: 325–339

Mitchell CP, Stevens EA, Watters MP (1999) Short-rotation forestry - operations, productivity and costs based on experience gained in the UK. *Forest Ecology and Management* 121: 123–136

Monclus R, Dreyer E, Delmotte FM, Villar M, Delay D, Boudouresque E, Petit JM, Marron N, Brechet C, Brignolas F (2005) Productivity, leaf traits and carbon isotope discrimination in 29 *Populus deltoides* × *P. nigra* clones. *New Phytologist* 167: 53–62

Monclus R (2006) Efficience d'utilisation de l'eau et tolérance à la sécheresse chez le peuplier. Thèse de doctorat. Université d'Orléans, Orléans, France, 136 pp.

Monclus R, Dreyer E, Villar M, Delmotte FM, Delay D, Petit JM, Barbaroux C, Le Thiec D, Brechet C, Brignolas F (2006) Impact of drought on productivity and water use efficiency in 29 genotypes of *Populus deltoides* × *Populus nigra*. *New Phytologist* 169: 765–777

Monclus R, Villar M, Barbaroux C, Bastien C, Fichot R, Delmotte FM, Delay D, Petit JM, Brechet C, Dreyer E, Brignolas F (2009) Productivity, water-use efficiency and tolerance to moderate water deficit correlate in 33 poplar genotypes from a *Populus deltoides* × *Populus trichocarpa* F_1 progeny. *Tree Physiology* 29: 1329–1339

Monclus R, Leplé J-C, Bastien C, Bert P-F, Villar M, Marron N, Brignolas F, Jorge V (2012) Integrating genome annotation and QTL position to identify candidate genes for productivity, architecture and water-use efficiency in *Populus* spp. *BMC Plant Biology* 12: 173

N

Newsholme C (1992) Willows: the genus *Salix*. 224 pp.

Nier AO (1950) A redetermination of the relative abundances of the isotopes of carbon, nitrogen, oxygen, argon, and potassium. *Physical Review* 77: 789–793

Niinemets Ü, Sack L (2006) Structural determinants of leaf light-harvesting capacity and photosynthetic potentials. *In*: Progress in Botany. K. Esser, U. E. Lüttge, W. Beyschlag, and J. Murata, pp. 385 – 419

Nilsson LO, Ericsson T (1986) Influence of shoot age on growth and nutrient uptake patterns in a willow plantation. *Canadian Journal of Forest Research* 16: 185–190

Novak K, Cherubini P, Saurer M, Fuhrer J, Skelly JM, Kräuchi N, Schaub M (2007) Ozone air pollution effects on tree-ring growth, $\delta^{13}C$, visible foliar injury and leaf gas exchange in three ozone-sensitive woody plant species. *Tree Physiology* 27: 941–949

O

O'Leary MH (1981) Carbon isotope fractionation in plants. *Phytochemistry* 20: 553–567

Onoda Y, Hikosaka K, Hirose T (2004) Allocation of nitrogen to cell walls decreases photosynthetic nitrogen-use efficiency. *Functional Ecology* 18: 419–425

P

Pages L (1986) Biomass growth-curves - the example of black locust in the French Val-De-Loire region. *Annals of Forest Sciences* 43: 533–550

Parlement Européen, Conseil de l'Union Européenne (2009) Directive 2009/28/CE du parlement européen et du conseil relative à la promotion de l'utilisation de l'énergie produite à partir de sources renouvelables et modifiant puis abrogeant les directives 2001/77/CE et 2003/30/CE.

Pathre U, Sinha AK, Shirke PA, Sane PV (1998) Factors determining the midday depression of photosynthesis in trees under monsoon climate. Trees - Structure and Function 12: 472–481

Pei MH, Lindegaard K, Ruiz C, Bayon C (2008) Rust resistance of some varieties and recently bred genotypes of biomass willows. *Biomass & Bioenergy* 32: 453–459

Perret X, Staehelin C, Broughton WJ (2000) Molecular basis of symbiotic promiscuity. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64: 180-201

Picon C, Guehl JM, Ferhi A (1996) Leaf gas exchange and carbon isotope composition responses to drought in a drought-avoiding (*Pinus pinaster*) and a drought-tolerant (*Quercus petraea*) species under present and elevated atmospheric CO_2 concentrations. *Plant, Cell & Environment* 19: 182–190

Pinkard E, Neilsen W (2003) Crown and stand characteristics of Eucalyptus nitens in response to initial spacing: implications for thinning. *Forest Ecology and Management* 172: 215–227.

Pons TL, Westbeek MHM (2004) Analysis of differences in photosynthetic nitrogen-use efficiency between four contrasting species. *Physiologia Plantarum* 122: 68–78

Pons TL, Perreijn K, Van Kessel C, Werger MJA (2007) Symbiotic nitrogen fixation in a tropical rainforest: ^{15}N natural abundance measurements supported by experimental isotopic enrichment. *New Phytologist* 173: 154–167

Ponton S, Dupouey J-L, Bréda N, Feuillat F, Bodénès C, Dreyer E (2001) Carbon isotope discrimination and wood anatomy variations in mixed stands of *Quercus robur* and *Quercus petraea*. *Plant, Cell & Environment* 24: 861–868

Ponton S, Dupouey JL, Breda N, Dreyer E (2002) Comparison of water-use efficiency of seedlings from two sympatric oak species: genotype × environment interactions. *Tree Physiology* 22: 413–422

Poorter H, Evans JR (1998) Photosynthetic nitrogen-use efficiency of species that differ inherently in specific leaf area. *Oecologia* 116: 26–37

Poorter L (1999) Growth responses of 15 rain-forest tree species to a light gradient: the relative importance of morphological and physiological traits. *Functional Ecology* 13: 396–410

Proe MF, Griffiths JH, Craig J (2002) Effects of spacing, species and coppicing on leaf area, light interception and photosynthesis in short rotation forestry. *Biomass & Bioenergy* 23: 315–326

Q

Querejeta JI, Barbera GG, Granados A, Castillo VM (2008) Afforestation method affects the isotopic composition of planted *Pinus halepensis* in a semiarid region of Spain. *Forest Ecology and Management* 254: 56–64

R

R Development Core Team (2010) R: A language and Environment for statistical computing. Vienna, Austria

Rae AM, Robinson KM, Street NR, Taylor G (2004) Morphological and physiological traits influencing biomass productivity in short-rotation coppice poplar. *Canadian Journal of Forest Research* 34: 1488–1498

Rae AM, Pinel MPC, Bastien C, Sabatti M, Street NR, Tucker J, Dixon C, Marron N, Dillen SY, Taylor G (2008) QTL for yield in bioenergy *Populus*: identifying G×E interactions from growth at three contrasting sites. *Tree Genetics & Genomes* 4: 97–112

Ranney TG, Whitlow TH, Bassuk NL (1990) Response of five temperate deciduous tree species to water stress. *Tree Physiology* 6: 439–448

Raper SM, Steinbeck K, Moss IS, Whitehead D, (1992) Water-Use Efficiency and Transpiration of *Robinia*, *Liquidambar*, and *Platanus* Sprouts in the Southeastern USA. Forest Ecology Management 51: 259–268

Rasheed F, Richard B, Le Thiec D, Montpied P, Paillassa E, Brignolas F, Dreyer E (2011) Time course of $\delta^{13}C$ in poplar wood: genotype ranking remains stable over the life cycle in plantations despite some differences between cellulose and bulk wood. *Tree Physiology* 31: 1183–1193

Rasheed F, Dreyer E, Richard B, Brignolas F, Montpied P, Le Thiec D (2013) Genotype differences in ^{13}C discrimination between atmosphere and leaf matter match

differences in transpiration efficiency at leaf and whole-plant levels in hybrid *Populus deltoides* × *P. nigra*. *Plant, Cell & Environment* 36: 87–102

Raven JA (1992) The physiology of *Salix*. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh: section B-Biological Sciences* 98: 49-62

Rédei K, Veperdi I, Tomé M, Soares P (2010) Black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) short-rotation energy crops in Hungary: a review. *Silva Lusitana* 18: 217–223

Ren J, Dai W, Xuan Z, Yao Y, Korpelainen H, Li C (2007) The effect of drought and enhanced UV-B radiation on the growth and physiological traits of two contrasting poplar species. *Forest Ecology Management* 239: 112–119

Ripullone F, Lauteri M, Grassi G, Amato M, Borghetti M (2004) Variation in nitrogen supply changes water-use efficiency of *Pseudotsuga menziesii* and *Populus* ×*euroamericana*: a comparison of three approaches to determine water-use efficiency. *Tree Physiology* 24: 671–679

Rivest D, Cogliastro A, Olivier A (2009) Tree-based intercropping systems increase growth and nutrient status of hybrid poplar: a case study from two Northeastern American experiments. *Journal of Environmental Management* 91: 432–40

Rohde A, Storme V, Jorge V, Gaudet M, Vitacolonna N, Fabbrini F, Ruttink T, Zaina G, Marron N, Dillen S, Steenackers M, Sabatti M, Morgante M, Boerjan W, Bastien C (2010) Bud set in poplar – genetic dissection of a complex trait in natural and hybrid populations. *New Phytologist* 189: 106–121

Rönnberg-Wästljung AC, Gullberg U, Nilsson C (1994) Genetic parameters of growth characters in *Salix viminalis* grown in Sweden. *Canadian Journal of Forest Research* 24: 1960-1969

Rönnberg-Wästljung AC, Gullberg U (1999) Genetics of breeding characters with possible effects on biomass production in *Salix viminalis* L. *Theoretical and Applied Genetics* 98: 531-540

Rönnberg-Wästljung AC (2001) Genetic structure of growth and phenological traits in *Salix viminalis*. *Canadian Journal of Forest Research* 31: 276-282

Roupsard O (1997) Ecophysiologie et diversité génétique de *Faidherbia albida* (Del.) A. Chev. (syn. *Acacia albida* Del.), un arbre à usages multiples d'Afrique semi-aride. Fonctionnement hydrique et efficience d'utilisation de l'eau d'arbres adultes en parc agroforestier et de juvéniles en conditions semi-contrôlées. Tome 1 : Partie synthèse. Thèse de doctorat, Université Henri Poincaré, Nancy I, France, 70 pp

Roupsard O, Joly HI, Dreyer E (1998) Variability of initial growth, water-use efficiency and carbon isotope discrimination in seedlings of *Faidherbia albida* (Del.) A. Chev., a multipurpose tree of semi-arid Africa. Provenance and drought effects. *Annales des Sciences Forestières* 55: 329–348

Roussel M, Le Thiec D, Montpied P, Ningre N, Guehl J-M, Brendel O (2009) Diversity of water use efficiency among *Quercus robur* genotypes: contribution of related leaf traits. *Annals of Forest Sciences* 66: 408

Rytter L (2002) Nutrient content in stems of hybrid aspen as affected by tree age and tree size, and nutrient removal with harvest. *Biomass & Bioenergy* 23: 13–25

S

Safou-Matondo R, Deleporte P, Laclau JP, Bouillet JP (2005) Hybrid and clonal variability of nutrient content and nutrient use efficiency in *Eucalyptus* stands in Congo. *Forest Ecology and Management* 210: 193–204

Sander M-L, Ericsson T (1998) Vertical distributions of plant nutrients and heavy metals in *Salix viminalis* stems and their implications for sampling. *Biomass & Bioenergy* 14: 57–66

Saska MM, Kuzovkina YA (2010) Phenological stages of willow (*Salix*). *Annals of Applied Biology* 156: 431-437

Scarascia-Mugnozza GE, Ceulemans R, Heilman PE, Isebrands JG, Stettler RF, Hinckley TM (1997) Production physiology and morphology of *Populus* species and their hybrids grown under short rotation .2. Biomass components and harvest index of hybrid and parental species clones. *Canadian Journal of Forest Research* 27: 285–294

Scarascia-Mugnozza GE, Hinckley TM, Stettler RF, Heilman PE, Isebrands JG (1999) Production physiology and morphology of Populus species and their hybrids grown under short rotation. III. Seasonal carbon allocation patterns from branches. *Canadian Journal of Forest Research* 29: 1419–1432.

Schieving F, Poorter H (1999) Carbon gain in a multispecies canopy: the role of specific leaf area and photosynthetic nitrogen-use efficiency in the tragedy of the commons. *New Phytologist* 143: 201–211

Schifman LA, Stella JC, Volk TA, Teece MA (2012) Carbon isotope variation in shrub willow (*Salix* spp.) ring-wood as an indicator of long-term water status, growth and survival. *Biomass & Bioenergy* 36: 316–326

Schulze E-D, Williams RJ, Farquhar GD, Schulze W, Langridge J, Miller JM, Walker BH (1998) Carbon and nitrogen isotope discrimination and nitrogen nutrition of trees along a rainfall gradient in northern Australia. *Functional Plant Biology* 25: 413–425

Sevel L, Nord-Larsen T, Raulund-Rasmussen K (2012) Biomass production of four willow clones grown as short rotation coppice on two soil types in Denmark. *Biomass & Bioenergy* 46: 664–672

Shipley (2000) Trade-offs between net assimilation rate ans specific leaf area determining relative growth rate: relationship with daily irradiance. *Functional Ecology* 16 : 682–689

Siegwolf RTW, Matyssek R, Saurer M, Maurer S, Gunthardt-Goerg MS, Schmutz P, Bucher JB (2001) Stable isotope analysis reveals differential effects of soil nitrogen and nitrogen dioxide on the water use efficiency in hybrid poplar leaves. *New Phytologist* 149: 233–246

Sims REH, Senelwa K, Maiava T, Bullock BT (1999) *Eucalyptus* species for biomass energy in New Zealand - Part II: Coppice performance. *Biomass & Bioenergy* 17: 333-343

Singh M, Ceccarelli S, Hamblin J (1993) Estimation of heritability from varietal trials data. *Theoretical and Applied Genetics* 86: 437–441

Soolanayakanahally RY, Guy RD, Silim SN, Drewes EC, Schroeder WR (2009) Enhanced assimilation rate and water use efficiency with latitude through increased photosynthetic capacity and internal conductance in balsam poplar (*Populus balsamifera* L.). *Plant, Cell & Environment* 32: 1821–1832

Sparks JP, Ehleringer JR (1997) Leaf carbon isotope discrimination and nitrogen content for riparian trees along elevational transects. *Oecologia* 109: 362-367

Stadenberg I, McDonald AJS, Palmer S (1994) Diurnal variation in leaf extension of *Salix viminalis* at two nitrogen supply rates. *Tree Physiology* 14: 1131-1138

Stanton BJ (2009) The domestication and conservation of *Populus* genetic resources. Poplars and willows in the world: meeting the needs of society and the environment, FAO/IPC (Food and Agricultural Organization of the United Nations / International Poplar Commission). Isebrand, J.G. & Richardson J., Rome, Italy, p 86

Stocking CR, Ongun A (1962) The intracellular distribution of some metallic elements in leaves. *American Journal of Botany* 49: 284

Stolarski M, Szczukowski S, Tworkowski J, Klasa A (2008) Productivity of seven clones of willow coppice in annual and quadrennial cutting cycles. *Biomass & Bioenergy* 32: 1227–1234

Stott KG (1984) Improving the biomass potential of willow by selection and breeding. *In*: Ecology and management of forest biomass production systems. Perttu, K.L., Uppsala (Sweden), Swedish University of Agricultural Sciences, pp 233–260

Sullivan PF, Welker JM (2007) Variation in leaf physiology of *Salix arctica* within and across ecosystems in the High Arctic: test of a dual $\Delta^{13}C$ and $\Delta^{18}O$ conceptual model. *Oecologia* 151: 372–386

Sun ZJ, Livingston NJ, Guy RD, Ethier GJ (1996) Stable carbon isotopes as indicators of increased water use efficiency and productivity in white spruce (*Picea glauca* (Moench) Voss) seedlings. *Plant, Cell & Environment* 19: 887–894

Swamy SL, Mishra A, Puri S (2006) Comparison of growth, biomass and nutrient distribution in five promising clones of *Populus deltoides* under an agrisilviculture system. *Bioresource Technology* 97: 57–68

T

Tanaka-Oda A, Kenzo T, Koretsune S, Sasaki H, Fukuda K (2010) Ontogenetic changes in water-use efficiency ($\Delta^{13}C$) and leaf traits differ among tree species growing in a semiarid region of the Loess Plateau, China. *Forest Ecology and Management* 259: 953–957

Tharakan PJ, Volk TA, Nowak CA, Abrahamson LP (2005) Morphological traits of 30 willow clones and their relationship to biomass production. *Canadian Journal of Forest Research* 35: 421–431

Toillon J, Fichot R, Dallé E, Berthelot A, Brignolas F, Marron N (2013a) Planting density affects growth and water-use efficiency depending on site in *Populus deltoides* × *P. nigra*. *Forest Ecology and Management* 304: 345–354

Toillon J, Rollin B, Dallé E, Feinard-Duranceau M, Bastien JC, Brignolas F, Marron N (2013b) Variability and plasticity of productivity, water-use efficiency, and nitrogen exportation rate in *Salix* short rotation coppice. *Biomass & Bioenergy 56: 392-404*

U - V

Vande Walle I, Van Camp N, Van de Casteele L, Verheyen K, Lemeur R (2007) Short-rotation forestry of birch, maple, poplar and willow in Flanders (Belgium) II. Energy production and CO_2 emission reduction potential. *Biomass & Bioenergy* 31: 276–283

Vanden Broeck A (2003) EUFORGEN Technical Guidelines for genetic conservation and use for European black poplar (*Populus nigra*)

Verwijst T, Lundkvist A, Edelfeldt S, Forkman J, Nordh NE (2012) Effects of clone and cutting traits on shoot emergence and early growth of willow. *Biomass & Bioenergy* 37: 257-264

Vitousek P (1982) Nutrient cycling and nutrient use efficiency. American Naturalist 119: 553–572

Voltas J, Serrano L, Hernández M, Pemán J (2006) Carbon isotope discrimination, gas exchange and stem growth of four euramerican hybrid poplars under different watering regimes. *New Forests* 31: 435–451

W

Walcroft AS, Silvester WB, Grace JC, Carson SD, Waring RH (1996) Effects of branch length on carbon isotope discrimination in *Pinus radiata*. *Tree Physiology* 16: 281–286

Wang HL, Yang SD, Zhang CL (1997) The photosynthetic characteristics of differently shaped leaves in *Populus euphratica* Olivier. *Photosynthetica* 34: 545–553

Warren C, McGrath J, Adams M (2001) Water availability and carbon isotope discrimination in conifers. *Oecologia* 127: 476–486

Warren CR, Adams MA (2004) What determines rates of photosynthesis per unit nitrogen in *Eucalyptus* seedlings? *Functional Plant Biology* 31: 1169–1178

Warren CR, Adams M (2006) Internal conductance does not scale with photosynthetic capacity: implications for carbon isotope discrimination and the economics of water and nitrogen use in photosynthesis. *Plant, Cell & Environment* 29: 192–201

Weih M (2001) Evidence for increased sensitivity to nutrient and water stress in a fast-growing hybrid willow compared with a natural willow clone. *Tree Physiology* 21: 1141–1148

Weih M, Nordh NE (2002) Characterising willows for biomass and phytoremediation: growth, nitrogen and water use of 14 willow clones under different irrigation and fertilisation regimes. *Biomass & Bioenergy* 23: 397–413

Weih M, Nordh NE (2005) Determinants of biomass production in hybrid willows and prediction of field performance from pot studies. *Tree Physiology* 25: 1197–1206

Weih M, Ronnberg-Wastljung AC, Glynn C (2006) Genetic basis of phenotypic correlations among growth traits in hybrid willow (*Salix dasyclados* × *S. viminalis*) grown under two water regimes. *New Phytologist* 170: 467–477

Weih M (2009) Genetic and environmental variation in spring and autumn phenology of biomass willows (*Salix* spp.): effects on shoot growth and nitrogen economy. *Tree Physiology* 29: 1479-1490

Weih M, Asplund L, Bergkvist G (2011a) Assessment of nutrient use in annual and perennial crops: A functional concept for analyzing nitrogen use efficiency. *Plant & Soil* 339: 513–520

Weih M, Bonosi L, Ghelardini L, Rönnberg-Wästljung AC (2011b) Optimizing nitrogen economy under drought: increased leaf nitrogen is an acclimation to water stress in willow (*Salix* spp.). *Annals of Botany* 108: 1347–1353

Welker JM, Fahnestock JT, Henry GHR, O'Dea KW, Chimner RA (2004) CO_2 exchange in three Canadian High Arctic ecosystems: response to long-term experimental warming. *Global Change Biology* 10: 1981–1995

Wikberg J, Ögren E (2007) Variation in drought resistance, drought acclimation and water conservation in four willow cultivars used for biomass production. *Tree Physiology* 27: 1339–1346

Willebrand E, Ledin S, Verwijst T (1993) Willow coppice systems in short rotation forestry: effects of plant spacing, rotation length and clonal composition on biomass production. *Biomass & Bioenergy* 4: 323-331

Woodruff DR, Bond BJ, Ritchie GA, Scott W (2002) Effects of stand density on the growth of young Douglas-fir trees. *Canadian Journal of Forest Research* 32: 420–427

X

Xu X, Peng G, Wu C, Korpelainen H, Li C (2008) Drought inhibits photosynthetic capacity more in females than in males of *Populus cathayana*. *Tree Physiology* 28: 1751–1759

Y

Yin CY, Wang X, Duan BL, Luo JX, Li CY (2005) Early growth, dry matter allocation and water use efficiency of two sympatric *Populus* species as affected by water stress. *Environmental and Experimental Botany* 53: 315–322

Yin CY, Pang XY, Chen K (2009) The effects of water, nutrient availability and their interaction on the growth, morphology and physiology of two poplar species. *Journal of Environmental and Experimental Botany* 67: 196–203

Z

Zeleznik JD, Skousen JG (1996) Survival of three tree species on old reclaimed surface mines in Ohio. *Journal of Environmental Quality* 25: 1429–1435

Zhang J, Marshall JD, Jaquish BC (1993) Genetic differentiation in carbon isotope discrimination and gas exchange in *Pseudotsuga menziesii*. Oecologia 93: 80–87

Zhang X, Zang R, Li C (2004) Population differences in physiological and morphological adaptations of *Populus davidiana* seedlings in response to progressive drought stress. *Plant Science* 166: 791–797

Zhang X, Wu N, Li C (2005) Physiological and growth responses of *Populus davidiana* ecotypes to different soil water contents. *Journal of Arid Environment* 60: 567–579

Zhang YB, Duan BL, Qiao YZ, Wang KY, Korpelainen H, Li CY (2008) Leaf photosynthesis of *Betula albosinensis* seedlings as affected by elevated CO_2 and planting density. *Forest Ecology and Management* 255: 1937–1944

Zheng SX, Shangguan ZP (2007a) Spatial patterns of foliar stable carbon isotope compositions of C_3 plant species in the Loess Plateau of China. *Ecological Research* 22: 342–353

Zheng SX, Shangguan ZP (2007b) Foliar $\delta^{13}C$ values of nine dominant species in the Loess Plateau of China. *Photosynthetica* 45: 110–119

Zimmerman J, Ehleringer J (1990) Carbon isotope ratios are correlated with irradiance levels in the Panamanian orchid *Catasetum viridiflavum*. *Oecologia* 83: 247–249

VALORISATION DES TRAVAUX SCIENTIFIQUES

1. Articles acceptés dans des revues internationales à comité de lecture

J Toillon, R Fichot, E Dallé, A Berthelot, F Brignolas and N Marron. Planting density affects growth and water-use efficiency depending on site in *Populus deltoides* × *P. nigra*. **(2013)** *Forest Ecology and Magement* 304 : 345–354

J Toillon, B Rollin, E Dallé, M Feinard-Duranceau, J-C Bastien, F Brignolas and N Marron. Variability and plasticity of productivity, water-use efficiency, and nitrogen exportation rate in *Salix* short-rotation coppice **(2013)** *Biomass & Bioenergy* http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2013.05.17.

2. Communications orales internationales. Orateur

J Toillon, B Rollin, E Dallé, J-C Bastien, F Brignolas and N Marron **(2011)** Optimization of wood production in bioenergy plantations: 1. through the use of adequate plant material in terms of resource use efficiencies. Poplar Council of Canada Conference & Annual Meeting '*Poplars and Willows on the Prairies: Traditional Practices meet Innovative Applications*', 18-22 septembre, Edmonton, Canada.

G Pilate, **J Toillon**, C Pugieux, N Millet, P Poursat, A Déjardin, S Augustin, D Cornu, L Jouanin, C Lapierre, J-C Leplé **(2011)** Twenty years of field experiments with GM hybrid poplars at INRA-Orléans. 3rd Working Group/3rd Management Committee Meeting and the Second Biosafety Workshop "20 years of GMT field trials in Europe" *Scientific, practical, biosafety and societal aspects* of the COST Action FP0905: "Biosafety of forest transgenic trees: improving the scientific basis for safe tree development and implementation of EU policy directives", 7 septembre, Orléans, France.

3. Communications orales nationales. Orateur

J Toillon, F Brignolas et N Marron **(2011)** Variabilité et plasticité de l'efficience d'utilisation de l'eau (WUE) et relations avec la productivité chez les saules. 5ème journée jeune chercheur, Société Française des isotopes stables (SFIS), 12-14 octobre, Brest, France.

J Toillon, F Brignolas et N Marron **(2011)** Variabilité génétique et liens entre productivité, WUE et NUE chez le peuplier, le saule et le robinier en réponse à l'environnement. Séminaire des doctorants du département EFPA, 10-12 janvier, Lyon, France.

J Toillon, F Brignolas et N Marron **(2010)**. Lien entre productivité, efficience d'utilisation de l'eau (WUE) et des nutriments (NUE) dans les plantations ligneuses à fins bioénergétiques. Journée des doctorants/post-doctorants de l'UMR 1137 EEF, 17 juin, Champenoux, France.

4. Communications par affiches. Présentateur de l'affiche

J Toillon, B Rollin, E Dallé, L Roux, L BesDeBerc, R Leray and N Marron **(2012)** Optimization of wood production in bioenergy plantations. 4th WoodWisdom-Net Research Programme Seminar and Final Seminar of the ERA-NET Bioenergy call on Short Rotation Coppice, 7-8 février, Helsinki, Finlande.

J Toillon, E Kartner, B Rollin, E Dallé, J-C Bastien, F Brignolas and N Marron **(2011)** Optimization of wood production in bioenergy plantations: 2. through the use of adequate plantation design and management. Poplar Council of Canada Conference & Annual Meeting '*Poplars and Willows on the Prairies: Traditional Practices meet Innovative Applications*', 18-22 septembre, Edmonton, Canada.

J Toillon, E. Kartner, B. Rollin, E. Dallé, L. Roux, L. BesDeBerc, R. Leray and N. Marron **(2011)** Optimization of wood production in bioenergy plantations. 26th New Phytologist Symposium: Bioenergy Trees, 17-19 mai, Nancy, France.

J Toillon, B Rollin, E Dallé, L Roux, F. Brignolas and N Marron **(2010)** Optimization of wood production in bioenergy plantations. Fifth International Poplar and Willow Symposium (IPS). 20-25 septembre, Orvieto, Italie.

J Toillon, F Brignolas et N Marron **(2010)** Productivité, efficiences d'utilisation de l'eau et des nutriments chez le peuplier, le saule et le robinier en fonction du système de culture et du contexte pédoclimatique. Séminaire 2010 de l'Ecole Doctorale RP2E « Ingénierie des Ressources, Procédés, Produits et Environnement », 28 janvier, Nancy, France

J Toillon, F Brignolas et N Marron **(2010)** Productivité, efficiences d'utilisation de l'eau et des nutriments chez le peuplier, le saule et le robinier en fonction du système de culture et du contexte pédoclimatique. Forum PNRB ADEME, 21-22 janvier, Paris, France.

Julien TOILLON

Variabilité génétique et plasticité de l'efficience d'utilisation des ressources (eau et azote) chez les Salicacées cultivées en taillis à courte et très courte rotations

Cette thèse visait à *(i)* caractériser l'impact de la densité de plantation et des conditions pédoclimatiques sur la physiologie des peupliers et des saules dédiés à la production de biomasse, *(ii)* évaluer la variabilité génétique de caractères liés à la productivité, l'efficience d'utilisation de l'eau (WUE) et l'efficience d'utilisation de l'azote (NUE) dans une perspective appliquée de sélection variétale, et *(iii)* à juger des relations entre ces caractères. Quatre dispositifs expérimentaux ont été installés dans le nord de la France. WUE a été estimée indirectement à l'échelle foliaire *via* la discrimination isotopique vis-à-vis du carbone 13 ($\Delta^{13}C$) et NUE a été estimée à l'échelle de la plante entière *via* le rapport entre la biomasse aérienne et la quantité d'azote présente dans les tiges. Nos résultats montrent clairement que l'effet d'une augmentation de la densité de plantation affecte la production de biomasse et WUE de façon site-dépendante. Lorsque les conditions environnementales étaient favorables à la croissance, une augmentation de la densité de plantation impliquait une augmentation de la hauteur des arbres et une diminution de leur circonférence et de leur WUE, ce qui reflétait une compétition accentuée pour la lumière. En revanche, lorsque les conditions environnementales étaient moins favorables à la croissance en termes de disponibilité en eau et de fertilité du sol, une augmentation de la densité de plantation se traduisait notablement par une augmentation de WUE et par une diminution de la circonférence des arbres, ce qui reflétait une compétition accentuée pour l'acquisition de la ressource hydrique. Une relation positive entre production de biomasse et WUE a été détectée pour les saules et les peupliers uniquement dans les conditions environnementales où toute source de compétition était réduite. Une canopée plus développée est inévitablement associée à des pertes en eau par transpiration potentiellement plus importantes. Ces pertes en eau plus importantes à l'échelle de l'arbre pourraient alors être compensées à l'échelle de la feuille par une meilleure régulation stomatique. Les interactions Génotype × Site indiquent qu'il est difficile d'envisager l'identification de génotypes performants sur une large gamme de conditions pédoclimatiques. La sélection des génotypes devrait donc être réalisée de façon site-dépendante. Enfin, l'absence d'antagonisme entre WUE, NUE et la production de biomasse suggère la possibilité de sélectionner des génotypes sur les trois caractères indépendamment.

Mots clés : biomasse, discrimination isotopique vis-à-vis du carbone 13, efficience d'utilisation de l'azote, efficience d'utilisation de l'eau, peuplier, plantation bioénergétique, plasticité phénotypique, productivité, saule

Genetic variability and plasticity of resource-use efficiency (water and nitrogen) in *Salicaceae* grown under short-rotation forestry and short-rotation coppice

This work aimed *(i)* at characterizing the impact of planting density and pedoclimatic conditions on the physiology of poplar and willow dedicated to biomass production, *(ii)* at evaluating the genetic variability of productivity-related traits, water-use efficiency (WUE) and nitrogen-use efficiency (NUE) in a perspective of plant breeding, and *(iii)* at assessing the relationships among these traits. Four experimental plantations were established in northern France. Water-use efficiency was indirectly estimated at leaf level through bulk leaf carbon isotope discrimination ($\Delta^{13}C$) and NUE was calculated at plant level as the ratio between the aerial biomass and the stem nitrogen content. Our results clearly show that increasing planting density affects biomass production and WUE depending on site characteristics. At the most favorable site for growth, trees grown at higher density displayed taller stems, lower stem circumference, and higher $\Delta^{13}C$, than trees grown at lower density indicating that increased tree density mainly accentuated competition for light. Under less favorable conditions in terms of water availability and fertility, an increase of planting density involved higher WUE and lower stem circumference, likely because of an increased competition for water. Positive relationships between biomass production and WUE were detected for poplar and willow only under environmental conditions where competition for any resources was reduced. A large canopy is inevitably associated to potentially more important transpiration water losses. These higher water losses at plant level could be compensated at leaf level through a better stomatal regulation. The Genotype × Site interactions indicated that it is difficult to identify good genotypes for a large set of pedoclimatic conditions. The selection of genotypes has to be realized depending on the site conditions. Finally, the absence of antagonism between biomass production, WUE, and NUE suggests the possibility to select genotypes for these three traits independently.

Key-words: biomass, bioenergy plantations, bulk leaf carbon isotope discrimination, nitrogen-use efficiency, phenotypic plasticity, poplar, productivity, water-use efficiency, willow.

UMR 1137 Ecologie et Ecophysiologie Forestières –
UPRES-EA 1207 Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures –
INRA USC1328 Arbres et Réponses aux Contraintes Hydriques et Environnementales

Julien TOILLON

Variabilité génétique et plasticité de l'efficience d'utilisation des ressources (eau et azote) chez les Salicacées cultivées en taillis à courte et très courte rotations

Cette thèse visait à *(i)* caractériser l'impact de la densité de plantation et des conditions pédoclimatiques sur la physiologie des peupliers et des saules dédiés à la production de biomasse, *(ii)* évaluer la variabilité génétique de caractères liés à la productivité, l'efficience d'utilisation de l'eau (WUE) et l'efficience d'utilisation de l'azote (NUE) dans une perspective appliquée de sélection variétale, et *(iii)* à juger des relations entre ces caractères. Quatre dispositifs expérimentaux ont été installés dans le nord de la France. WUE a été estimée indirectement à l'échelle foliaire *via* la discrimination isotopique vis-à-vis du carbone 13 ($\Delta^{13}C$) et NUE a été estimée à l'échelle de la plante entière *via* le rapport entre la biomasse aérienne et la quantité d'azote présente dans les tiges. Nos résultats montrent clairement que l'effet d'une augmentation de la densité de plantation affecte la production de biomasse et WUE de façon site-dépendante. Lorsque les conditions environnementales étaient favorables à la croissance, une augmentation de la densité de plantation impliquait une augmentation de la hauteur des arbres et une diminution de leur circonférence et de leur WUE, ce qui reflétait une compétition accentuée pour la lumière. En revanche, lorsque les conditions environnementales étaient moins favorables à la croissance en termes de disponibilité en eau et de fertilité du sol, une augmentation de la densité de plantation se traduisait notablement par une augmentation de WUE et par une diminution de la circonférence des arbres, ce qui reflétait une compétition accentuée pour l'acquisition de la ressource hydrique. Une relation positive entre production de biomasse et WUE a été détectée pour les saules et les peupliers uniquement dans les conditions environnementales où toute source de compétition était réduite. Une canopée plus développée est inévitablement associée à des pertes en eau par transpiration potentiellement plus importantes. Ces pertes en eau plus importantes à l'échelle de l'arbre pourraient alors être compensées à l'échelle de la feuille par une meilleure régulation stomatique. Les interactions Génotype × Site indiquent qu'il est difficile d'envisager l'identification de génotypes performants sur une large gamme de conditions pédoclimatiques. La sélection des génotypes devrait donc être réalisée de façon site-dépendante. Enfin, l'absence d'antagonisme entre WUE, NUE et la production de biomasse suggère la possibilité de sélectionner des génotypes sur les trois caractères indépendamment.

Mots clés : biomasse, discrimination isotopique vis-à-vis du carbone 13, efficience d'utilisation de l'azote, efficience d'utilisation de l'eau, peuplier, plantation bioénergétique, plasticité phénotypique, productivité, saule

Genetic variability and plasticity of resource-use efficiency (water and nitrogen) in *Salicaceae* grown under short-rotation forestry and short-rotation coppice

This work aimed *(i)* at characterizing the impact of planting density and pedoclimatic conditions on the physiology of poplar and willow dedicated to biomass production, *(ii)* at evaluating the genetic variability of productivity-related traits, water-use efficiency (WUE) and nitrogen-use efficiency (NUE) in a perspective of plant breeding, and *(iii)* at assessing the relationships among these traits. Four experimental plantations were established in northern France. Water-use efficiency was indirectly estimated at leaf level through bulk leaf carbon isotope discrimination ($\Delta^{13}C$) and NUE was calculated at plant level as the ratio between the aerial biomass and the stem nitrogen content. Our results clearly show that increasing planting density affects biomass production and WUE depending on site characteristics. At the most favorable site for growth, trees grown at higher density displayed taller stems, lower stem circumference, and higher $\Delta^{13}C$, than trees grown at lower density indicating that increased tree density mainly accentuated competition for light. Under less favorable conditions in terms of water availability and fertility, an increase of planting density involved higher WUE and lower stem circumference, likely because of an increased competition for water. Positive relationships between biomass production and WUE were detected for poplar and willow only under environmental conditions where competition for any resources was reduced. A large canopy is inevitably associated to potentially more important transpiration water losses. These higher water losses at plant level could be compensated at leaf level through a better stomatal regulation. The Genotype × Site interactions indicated that it is difficult to identify good genotypes for a large set of pedoclimatic conditions. The selection of genotypes has to be realized depending on the site conditions. Finally, the absence of antagonism between biomass production, WUE, and NUE suggests the possibility to select genotypes for these three traits independently.

Key-words: biomass, bioenergy plantations, bulk leaf carbon isotope discrimination, nitrogen-use efficiency, phenotypic plasticity, poplar, productivity, water-use efficiency, willow.

UMR 1137 Ecologie et Ecophysiologie Forestières –
UPRES-EA 1207 Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures –
INRA USC1328 Arbres et Réponses aux Contraintes Hydriques et Environnementales