



HAL
open science

Caractéristiques hydrauliques, régulation stomatique et efficience d'utilisation de l'eau de quatre espèces de conifères méditerranéens (*Cedrus atlantica*, *Cupressus sempervirens*, *Pinus halepensis* et *Pinus nigra*)

Fabienne Froux

► **To cite this version:**

Fabienne Froux. Caractéristiques hydrauliques, régulation stomatique et efficience d'utilisation de l'eau de quatre espèces de conifères méditerranéens (*Cedrus atlantica*, *Cupressus sempervirens*, *Pinus halepensis* et *Pinus nigra*). Sciences agricoles. Université Henri Poincaré - Nancy 1, 2002. Français. NNT : 2002NAN10029 . tel-01754428

HAL Id: tel-01754428

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01754428>

Submitted on 30 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

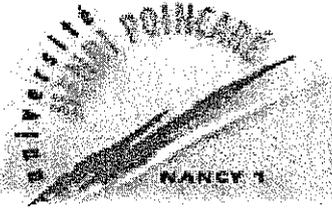
LIENS

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>



S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique - BP 11
54601 VILLERS-LES-NANCY Cédex

FACULTÉ DES SCIENCES & TECHNIQUES

U.F.R. Sciences et Techniques Biologiques
Ecole doctorale : RP2E
Département de Formation Doctorale : Sciences Forestières

Thèse
présentée pour l'obtention du titre de
Docteur de l'Université Henri Poincaré, Nancy I
en Biologie Forestière
par **Fabienne FROUX**

**Caractéristiques hydrauliques, régulation stomatique
et efficience d'utilisation de l'eau de quatre espèces de conifères
méditerranéens (*Cupressus sempervirens*, *Cedrus atlantica*, *Pinus halepensis*
et *Pinus nigra*).**

Soutenue publiquement le 28 juin 2002

Membres du jury :

Président	M. Pierre Dizengremel	Pr, Université Nancy-I
Rapporteurs	M. Hervé Cochard	CR, INRA Clermont-Ferrand
	M. Daniel Laffray	Pr, Université Paris XII
Examineurs:	M. Jean-Louis Durand	CR, INRA Lusignan
	M. Daniel Epron	Pr, Université de Franche-Comté
	M. Erwin Dreyer	DR, INRA Nancy (Directeur de thèse)

UMR INRA-UHP
Ecologie et Ecophysiologie
Forestières
F54280 Champenoux



INRA - Unité de Recherches
Forestières Méditerranéennes
Equipe Ecophysiologie
F84000 Avignon

Remerciements

Je tiens à remercier toutes les personnes qui, d'une manière ou d'une autre, ont contribué au bon déroulement et à l'aboutissement de ce travail :

- Les membres du jury :

P. Dizengremel pour m'avoir fait l'honneur de présider mon jury de thèse et pour sa confiance,

H. Cochard et D. Laffray pour avoir accepté d'être rapporteur et le temps qu'ils y ont consacré,

J. L. Durand et D. Epron pour leur qualité de juge.

- Mes directeurs de thèse, pour leur encadrement et pour m'avoir accueillie dans leur équipe. Merci à Erwin Dreyer pour son enthousiasme, sa vision globale du fonctionnement d'une plante, ses brain-storming et ses encouragements qui m'ont permis de mener à bien cette thèse. Merci à Michel Ducrey pour sa disponibilité et ses conseils.

- Les membres de mon comité de thèse

- Tous les permanents et non permanents de l'Unité de Recherches Forestières Méditerranéennes de l'INRA d'Avignon et de l'équipe Ecophysiologie de l'INRA de Nancy pour leur accueil et leur gentillesse et notamment:

- Roland Huc pour m'avoir laissé pénétrer dans son laboratoire et initié aux joies de l'Hydraulique, et de la programmation SAS, merci pour sa bonne humeur et son calme en toutes circonstances...

- Didier Betored et Arnaud Jouinau qui se sont occupés de mes deux séries de plants pendant mes hibernations Nancéennes, merci pour les coups de mains qui facilitent les manips, pour les broyages, pour leur bonne humeur, les dérapages philosophiques, et les sandwiches tant attendus.

- Michel Pelicier pour la passion de son travail: ses dépannages de la chambre climatisée le dimanche lorsque la situation paraît désespérée, Jacques Thomas pour les cerises de son Papet, Janine Sabatier pour sa présence féminine dans cet univers si masculin, et une mention spéciale pour la caravane de l'équipe écophysiologie.

- Claude Bréchet pour les mesures de composition isotopique.
- L'équipe Ecophysiologie Cellulaire et Moléculaire de l'UHP Nancy-I.
- Gilles Vercambre de l'INRA de Monfavet (Avignon) pour sa patiente initiation à l'analyse d'images et ses macros pour l'utilisation de Scion Image.
- Hervé Cochard, du PIAF de Clermont pour m'avoir initiée au Microscope électronique à balayage, à étage cryogénique et son initiation à l'hydraulique.
- les thésards, compagnons de route à Vivaldi et à Champenoux, Fabrice Sagnard, pour nos "bagarres" qui n'en sont pas mais qui défoulent: sache que je ne suis pas fourbel, Séraphine pour tout..., Natacha pour ses bavardages, Clément Piel pour avoir partagé avec moi pendant ces six derniers mois le bureau, le stress et les plaquettes de chocolat, et aussi à Mehdi Ladjal, Damien Lemoine, Marianne Peiffer, Safia Médiène, Emmanuelle Garrigue, Sofia Cerasoli...et ceux que j'oublie.
- Merci enfin à tous, chercheurs, techniciens, thésards ou stagiaires d'un été, pour m'avoir permis d'expérimenter de nouvelles recettes de gâteaux...

Merci à Tof pour son soutien et bien plus encore

Avant propos

Ce mémoire de thèse en Biologie Forestière de l'Université de Henri Poincaré de Nancy I est rédigé en deux parties. La première correspond à la synthèse et la seconde rassemble 4 annexes correspondant à de futurs articles scientifiques. Le travail expérimental a été effectué au sein de l'Unité de Recherche Forestière Méditerranéenne de l'INRA d'Avignon et également dans l'équipe Bioclimatologie de l'UMR Écophysiologie Écologie Forestière de l'INRA de Nancy.

Dans la synthèse, nous faisons référence à des tableaux ou figures présents dans les articles. Par souci de clarté, nous y faisons seulement référence en citant le numéro de l'annexe précédé d'un A puis le numéro du tableau ou de la figure présent dans l'annexe. Par exemple, le tableau 1 de l'annexe II sera appelé dans la synthèse: *(AII. Tab. 1)*.

Sommaire

1- Introduction	1
2- Concepts et définitions	5
1-Trajet de l'eau dans la plante.....	5
2- Déplacement de l'eau dans la plante	6
2-1 Théorie de tension cohésion.....	6
2-2 Analogie à la loi d'Ohm.....	6
2-3 Controverse concernant la théorie de Tension-Cohésion:.....	7
2-4 Etat hydrique d'une plante.....	7
3- Caractéristiques hydrauliques	8
3-1 L'architecture hydraulique:.....	9
3-2 Dysfonctionnement du transfert d'eau dans le xylème : l'embolie.....	11
3-3 Limitation de l'embolie et régulation des tensions dans le xylème	13
3-4 Efficacité versus intégrité du xylème	14
4- Echanges gazeux et efficacité d'utilisation de l'eau	15
4-1 Les stomates	15
4-2 Estimation de la transpiration.....	15
4-3 Assimilation nette de CO ₂	16
4-4 Efficacité d'utilisation de l'eau.....	16
4-5 Discrimination isotopique du carbone.....	17
5- Notion de contrainte.....	19
5-1 Définition	19
5-2 Notion d'adaptation, d'acclimatation et de réaction.....	19
6- Modèle intégré à l'échelle de la plante entière	21
3- Approches expérimentales	23
1- Matériel végétal	23
1-1 <i>Cedrus atlantica</i> (Manetti) (provenance « Ventoux »)	23
1-2 <i>Cupressus sempervirens</i> L. (provenance « Aude »).....	24
1-3 <i>Pinus halepensis</i> Mill. (provenance « Bouches du Rhône »)	25

1-4 <i>Pinus nigra</i> Arn. ssp. <i>nigricans</i> Host. var. <i>austriaca</i>	26
1-5 Obtention des plants.....	26
2- Approches expérimentales.....	27
3- Protocoles expérimentaux.....	28
3-1 Caractérisation hydraulique des espèces.....	28
3-2 Anatomie du xylème.....	31
3-3 Sensibilité des espèces aux contraintes hydriques.....	31
3-4 Relation efficacité d'utilisation de l'eau et paramètres hydrauliques.....	33
4- Discussion.....	36
1- Caractéristiques hydrauliques.....	36
1-1 Variabilité intraspécifique des caractéristiques hydrauliques.....	37
1-2 Variabilité interspécifique.....	38
2- Risque d'embolie et régulation stomatique.....	41
2-1 Hors contrainte hydrique.....	41
2-2 Contrainte hydrique drastique.....	43
3- Efficacité d'utilisation de l'eau.....	46
3-1 Discrimination isotopique et efficacité d'utilisation de l'eau W_i	46
3-2 Variabilité de W_i	48
3-3 Corrélation entre W_i et caractéristiques hydrauliques.....	49
4- Adaptation des 4 espèces au milieu méditerranéen.....	52
4-1 Adaptation à la sécheresse: modèle intégré.....	52
4-2 Acclimatation?.....	53
Conclusions générales et perspectives.....	56
Références Bibliographiques.....	59
Annexe I.....	71
Annexe II.....	85
Annexe III.....	100
Annexe IV.....	116

Synthèse

1-Introduction

Le climat méditerranéen est caractérisé par son rythme saisonnier : un hiver frais qui coïncide avec la saison des pluies et un été sec pendant lequel les températures sont élevées. Ce climat se différencie d'un climat désertique par le caractère saisonnier de la sécheresse et d'un climat tropical car la chaleur est saisonnière (Quezel, 1976). La hauteur des pluies en milieu méditerranéen est en moyenne toujours inférieure à un mètre. Elle varie fortement en fonction de l'éloignement du tropique ou de l'altitude. En montagne, la condensation de la vapeur d'eau dans l'air est facilitée et les précipitations sont donc plus abondantes. Nous pouvons citer l'exemple de deux stations méditerranéennes, Carpentras (102 m d'altitude) et Ventoux (1912 m) qui reçoivent respectivement 670 et 1300 mm d'eau par an. En montagne, malgré la pluviométrie, le relief accidenté et la faible épaisseur d'humus rendent le prélèvement de l'eau difficile. La sécheresse estivale a pour origine les faibles pluies d'été. Elle est accentuée par un déficit de saturation en eau de l'air, dû aux températures élevées, à l'ensoleillement et au vent. Ce milieu qui semble hostile pour une vie végétale abrite une flore très diversifiée car, lors des périodes défavorables telles que les glaciations, la végétation s'est déplacée de proche en proche vers des zones plus favorables, du nord vers le sud, jusqu'à ce qu'elle soit stoppée par un obstacle physique, mer ou montagne. Pour survivre, les espèces ont dû s'adapter et doivent être capables de s'acclimater à la faible disponibilité en eau saisonnière.

En zone méditerranéenne, des espèces qui ont développé des adaptations différentes à la contrainte hydrique peuvent être en concurrence: ces espèces adoptent, pendant une sécheresse, soit une stratégie d'évitement, soit une stratégie de tolérance à la contrainte toutes deux décrites par Levitt (1980) et Ludlow (1989). Les espèces **tolérantes** sont capables de survivre dans des conditions de faible disponibilité en eau dans le sol en maintenant une assimilation nette significative. La transpiration est maintenue jusqu'à des potentiels faibles et l'eau dans les tissus est difficilement extractible du fait d'une capacité élevée d'ajustement osmotique. Chez les espèces adoptant une stratégie d'**évitement**, la fermeture stomatique se produit avant même que le potentiel hydrique foliaire ne soit affecté par la contrainte (Henson et al, 1989), beaucoup d'énergie est dépensée pour minimiser les pertes en eau notamment par la fermeture des stomates, la chute des feuilles et la réduction de la taille des feuilles. Un enracinement profond permet de maximiser le prélèvement d'eau. Le contrôle du dessèchement des tissus a un coût: la croissance est ainsi rapidement stoppée pendant une sécheresse. Historiquement, deux critères étaient utilisés pour différencier ces deux stratégies développées en réponse à la sécheresse : le potentiel de base critique Ψ_c , potentiel pour lequel la différence entre le potentiel de

base et le potentiel minimum est inférieur à 0.04 MPa (Aussenac et Granier, 1978) et l'ajustement osmotique. (i) L'utilisation de la notion de potentiel critique a permis à Aussenac et Valette (1982) de classer une dizaine d'espèces méditerranéennes. Pour un potentiel critique supérieur à -2 MPa, les espèces sont déclarées évitantes; dans leur étude, c'était le cas de certaines espèces de pins (*P. nigra*, *P. pinaster*, *P. sylvestris*...) à l'exception de *P. halepensis*, où Ψ_c était toujours supérieur à -1.7MPa. Les espèces tolérantes, quant à elles, ont des valeurs de Ψ_c inférieures à -2 MPa (*C. atlantica*, *Quercus ilex*, *Acer opulifolium*...). (ii) D'après Ludlow (1989), les espèces évitantes n'ont aucune capacité d'ajustement osmotique alors que c'est une propriété intrinsèque du protoplasme des espèces tolérantes qui permet de « retenir » l'eau dans les tissus (Vartanian et Lemée, 1984). Cette classification n'est cependant pas si simple, Ritchie et Shula (1984) ont montré que la capacité d'ajustement pouvait varier au cours de l'année avec la phénologie de la plante. Selon eux, les espèces les plus résistantes allieraient les deux stratégies. Ces deux comportements impliquent cependant des caractéristiques écophysologiques différentes telles que les échanges gazeux ou les caractéristiques hydrauliques (vulnérabilité à la cavitation et conductivités hydrauliques). Par exemple, la vulnérabilité à la cavitation de *Populus balsamifera*, espèce évitante (Hacke et Sauter, 1996) est plus importante que celle de *Cedrus atlantica* (Cochard, 1992) ou *Cupressus sempervirens* (Bock, 1997), espèces tolérantes.

D'un point de vue écologique, la disponibilité en eau est, avec le froid, un des facteurs limitant la distribution des espèces. La disponibilité en eau contrôle, entre autres, la productivité de la plupart des végétaux. La circulation de l'eau dans la plante entre le sol et l'atmosphère est assurée, pour une part importante du trajet, par le tissu conducteur de sève brute: le xylème. Ses caractéristiques hydrauliques (la capacité de transfert, la limitation imposée par la vulnérabilité à la cavitation et la régulation stomatique) conditionnent directement l'alimentation en eau des organes. En conditions optimales d'alimentation en eau, l'eau circule dans la plante sous tension et est évaporée par les stomates. Si l'eau devient difficile à puiser dans le sol, les tensions augmentent jusqu'à des potentiels proches du point de dysfonctionnement. Cette augmentation est limitée par la régulation de la conductance stomatique qui diminue les pertes en eau. Mais la fermeture stomatique va également limiter l'entrée de CO₂ dans la feuille. La survie des arbres pendant les périodes de sécheresse tient de l'équilibre entre la minimisation des pertes en eau et le maintien de l'entrée de CO₂ nécessaire à leur croissance et leur survie. C'est pourquoi la compréhension de l'efficacité avec laquelle les feuilles, simultanément, perdent l'eau par transpiration et prélèvent le CO₂ dans l'air, est devenu d'un intérêt grandissant (Ehleringer et Smedley, 1987). Cette efficacité est estimée par l'efficacité d'utilisation de l'eau (WUE), c'est à dire le coût de l'assimilation de CO₂ par rapport à la perte d'eau à l'échelle d'une saison (Cowan, 1986) ou, de manière instantanée, par le rapport entre l'assimilation nette de CO₂ et la conductance stomatique pour la vapeur d'eau. L'efficacité d'utilisation de l'eau est sous le contrôle de facteurs génétiques et environnementaux (Zhang et al, 1993; Guehl et al, 1995) par l'intermédiaire des

variations de l'assimilation nette et de la conductance stomatique (Farquhar 1989; Picon et al, 1996). Quelques études montrent que WUE serait supérieure chez les espèces évitantes par rapport aux espèces plus tolérantes en condition de faible disponibilité en eau : c'est notamment le cas pour *Pinus pinaster* (évitante) où des valeurs plus élevées de WUE ont été mises en évidence par rapport à celles de *Quercus petraea*, espèce tolérante (Picon et al, 1996).

Dans ces conditions, on peut se demander quelle est l'origine de ces différences. En effet, si d'une part, le fonctionnement stomatique est corrélé au fonctionnement hydraulique de la plante et d'autre part, les variations de la conductance stomatiques sont responsables d'une partie des variations de l'efficacité d'utilisation de l'eau, les différences de WUE entre espèces pourraient être partiellement expliquées par les caractéristiques hydrauliques des individus.

L'objectif de la thèse était d'apporter des éléments supplémentaires à la compréhension de la réponse à la sécheresse des arbres qui permettraient d'expliquer l'efficacité d'utilisation de l'eau des espèces. Pour cela, le travail a été structuré en 4 parties répondant à quatre questions:

1- Chez des espèces présentant une large gamme de degrés de résistance à la sécheresse, peut-on mettre en évidence des caractéristiques hydrauliques propres (conductivités hydrauliques et vulnérabilité à la sécheresse) expliquant le comportement de chaque espèce face à la contrainte hydrique ?

2- Une réponse systématique à la sécheresse est la fermeture stomatique. Elle se produit à des potentiels hydriques plus ou moins négatifs. Existe-t-il une corrélation entre les caractéristiques hydrauliques et la régulation stomatique? Et est-elle plus le fait des racines ou des tiges?

3- Au niveau de la plante entière, existe-t-il un équilibre entre les conductances hydrauliques et stomatiques et quelles sont les conséquences sur l'efficacité d'utilisation de l'eau par les 4 espèces?

4- Une sécheresse modérée pendant toute la saison de végétation modifie-t-elle la réponse des espèces à une contrainte drastique? Autrement dit, une acclimatation peut-elle être ajoutée à une adaptation à la sécheresse ?

Pour répondre à ces questions, l'étude d'espèces adoptant des stratégies différentes, c'est à dire de tolérance ou d'évitement en réponse à une sécheresse, est intéressante car ces espèces représentent potentiellement une large gamme de caractéristiques hydrauliques et de régulation stomatique pendant

une sécheresse. Nous nous sommes donc intéressés à quatre espèces de conifères méditerranéens originaires de plaine (*Cupressus sempervirens* et *Pinus halepensis*) ou de montagne (*Pinus nigra* et *Cedrus atlantica*) mais qu'il est possible de rencontrer dans un même site (par exemple la plantation située sur la commune de La Bruguière dans le Gard, 30). Ces espèces ont été décrites dans la littérature comme des espèces évitant (*P. nigra*, Aussenac et Granier, 1978) ou tolérant la contrainte hydrique jusqu'à des niveaux variables.

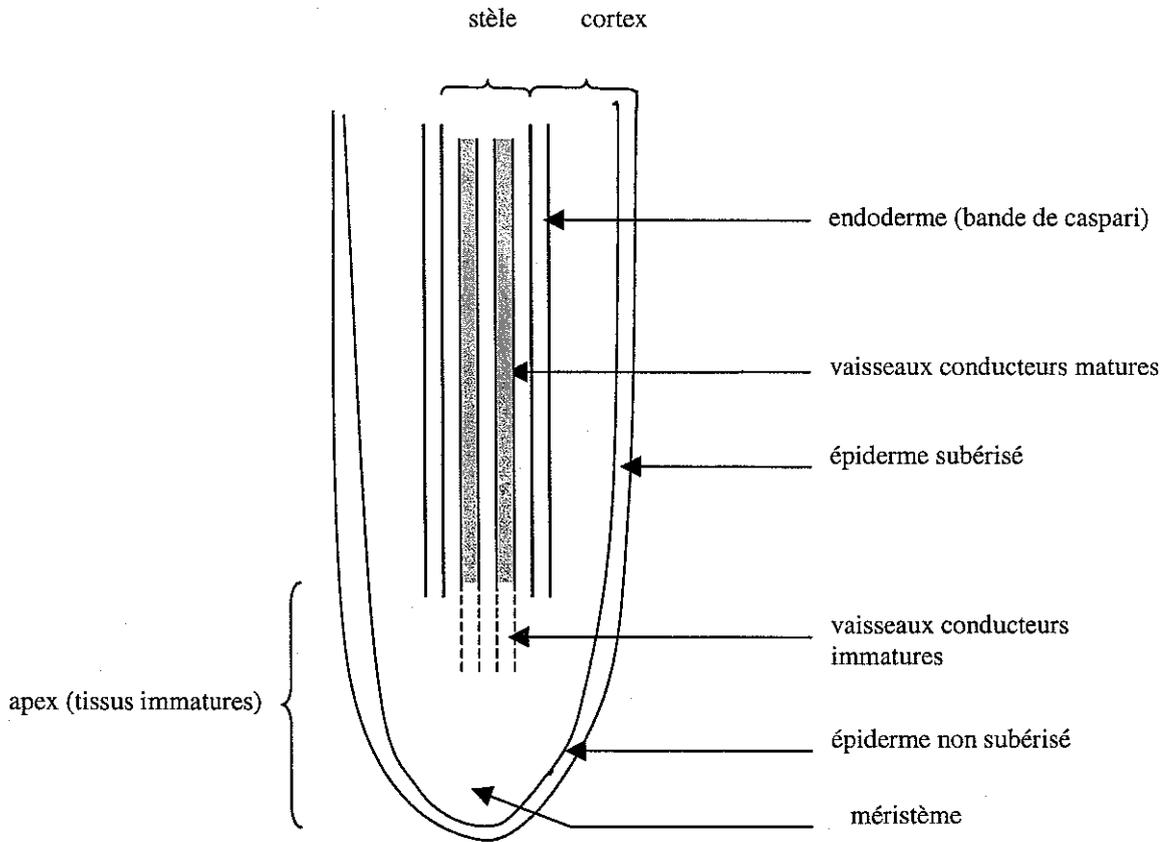


Figure 2-1: Schéma d'une coupe longitudinale de racine: l'eau pénètre dans la racine principalement par l'épiderme non subérisé de la partie terminale. Le trajet est d'abord radial, il comprend le franchissement des cellules du cortex puis de l'endoderme pour atteindre les éléments conducteurs de sève brute. La circulation devient longitudinale à l'intérieur des éléments conducteurs (xylème).

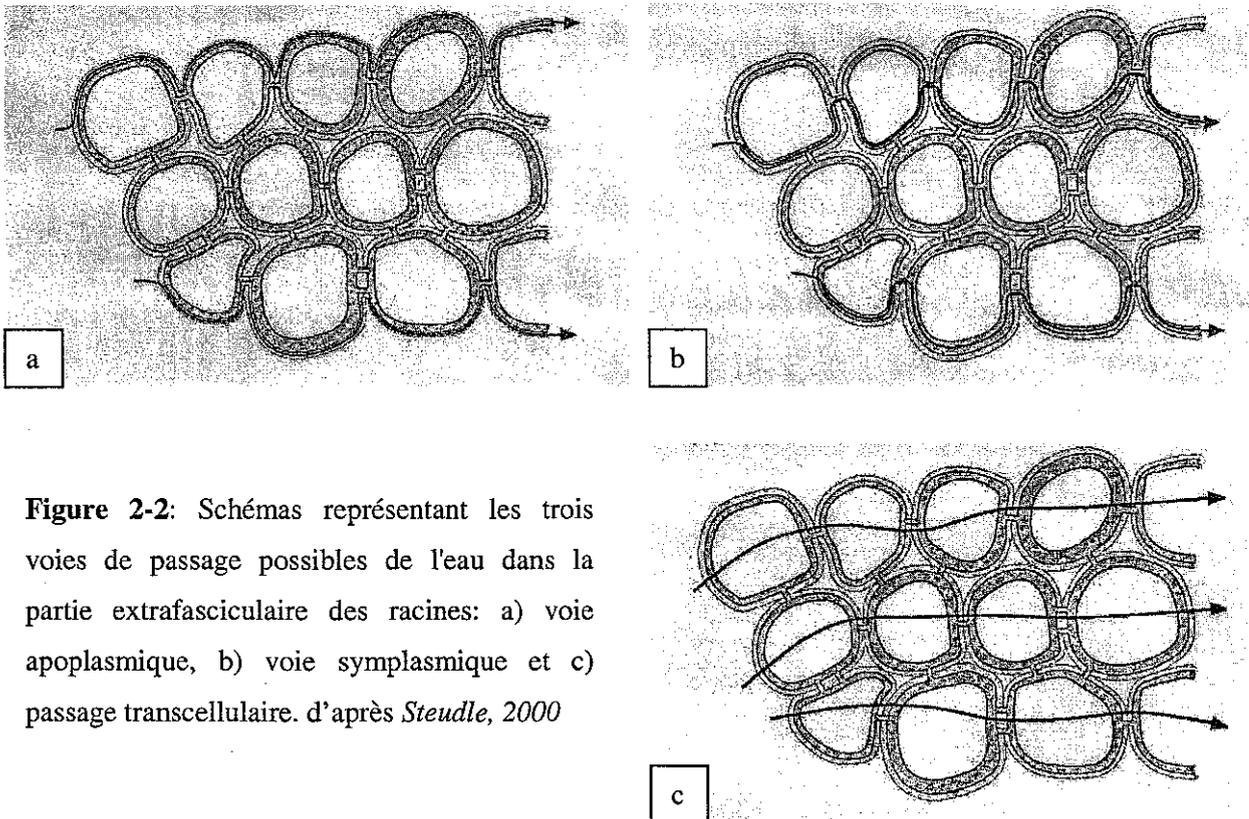


Figure 2-2: Schémas représentant les trois voies de passage possibles de l'eau dans la partie extrafasciculaire des racines: a) voie apoplasmique, b) voie symplasmique et c) passage transcellulaire. d'après *Steudle, 2000*

2- Concepts et définitions

1-Trajet de l'eau dans la plante

La circulation de l'eau, entre le sol et l'atmosphère, se fait des racines vers les feuilles. Le circuit de l'eau dans les racines se divise en plusieurs étapes: l'absorption, la circulation radiale à travers les tissus non vasculaires puis axiale dans le xylème. L'absorption de l'eau du sol se produit au niveau des cellules épidermiques (figure 2-1). Le trajet radial comprend le franchissement du cortex puis de l'endoderme qui constitue une barrière apoplasmique importante (bande de Caspari, lamelle de subérine et paroi secondaire épaisse) (Steudle, 2000 et 2001). Trois voies de passage radiales de l'eau sont possibles (figure 2-2) :

- (i) apoplasmique: à travers les parois cellulaires (voie principale pendant la journée);
- (ii) symplasmique: par l'intermédiaire de plasmodesmes;
- (iii) transcellulaire: à travers les membranes plasmiques des cellules, transport privilégié par les aquaporines, l'eau circule alors à l'intérieur du cytoplasme.

Lorsqu'elle atteint les vaisseaux conducteurs, l'eau circule dans le xylème en direction axiale. L'absorption puis le trajet radial sont considérés comme étapes limitantes dans le transfert de l'eau, les **résistances radiales** étant largement supérieures **aux résistances axiales** dans les racines (Frensch et Steudle, 1989).

La circulation de l'eau dans le xylème se poursuit dans les tiges et jusqu'aux organes foliaires. A ce niveau, le trajet vasculaire est interrompu et comme pour les racines, l'eau doit circuler de manière extra-vasculaire entre les nervures (xylème) et les cavités sous stomatiques (sites d'évaporation) (figure 2-3). Le trajet se fait exclusivement par la voie apoplasmique.

Le xylème est constitué d'éléments conducteurs, cellules mortes issues du faisceau libéro-ligneux, qui ont subi un épaissement de leurs parois en lignine et cellulose et la formation de ponctuations. Ils sont de types différents pour les angiospermes et les gymnospermes (Zimmermann, 1983) (figure 2-4):

- les vaisseaux constitués d'un empilement de cellules mortes (éléments) communiquant entre elles par des perforations, sont présent principalement chez les angiospermes. Leur diamètre est de 10 à 500

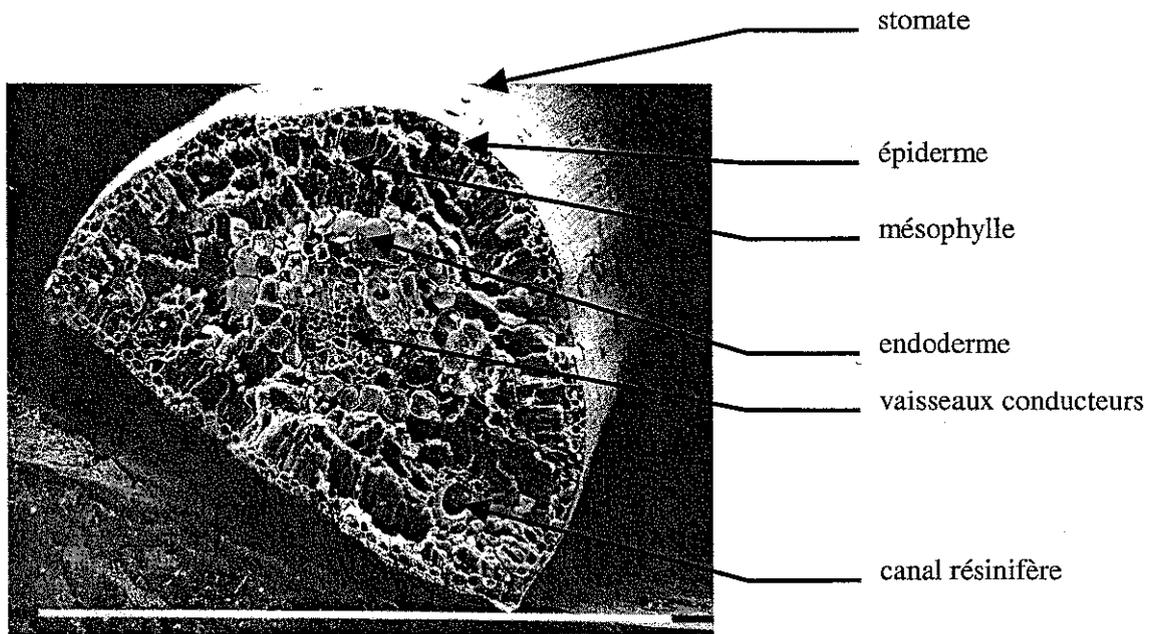


Figure 2-3: Coupe d'une aiguille de *Pinus halepensis* observée au microscope électronique à balayage à étage cryogénique (la ligne horizontale blanche correspond à 1mm). L'aiguille a été congelée puis cassée par cryofracture. L'observation a été effectuée à -80°C .

L'épiderme comprend une cuticule et des parois minces, on y trouve des stomates formés par deux cellules de garde un ostiole et une cavité sous stomatique. Le mésophylle est composé de cellules lobées, avec des espaces intercellulaires importants. Contrairement aux angiospermes, il n'est pas divisé en parenchyme palissadique et lacunaire. Les vaisseaux conducteurs (xylème et phloème) sont encerclés par une couche de cellules différenciées en endoderme. Les parties transversales et radiales des parois des cellules de l'endoderme sont imprégnées de subérine. Cette partie des parois est appelée la bande de Caspari.

La sève brute est apportée au niveau des aiguilles dans la partie xylème des vaisseaux conducteurs. Le trajet est ensuite extravasculaire et doit traverser les différentes couches de cellules vers les stomates où l'eau sera évaporée.

μm et leur longueur de 10 cm à plusieurs mètres. Le passage latéral de la sève entre deux vaisseaux se fait à travers des ponctuations.

- les **trachéides** sont de dimensions plus petites, leur diamètre est de quelques dizaines de microns pour une longueur qui excède rarement 1 millimètre. La communication intertrachéides se fait par des ponctuations caractéristiques dites aréolées. La paroi de la ponctuation est composée de deux parties concentriques, un disque central épaissi et non poreux (tore) et une marge composée de microfibrilles de cellulose et d'hémi-cellulose. Les éléments conducteurs des gymnospermes sont exclusivement composés de trachéides.

Nous détaillerons dans un premier temps le trajet de l'eau sous forme liquide puis sous forme vapeur dans la plante.

2- Déplacement de l'eau dans la plante

2-1 Théorie de la Tension - Cohésion

La quasi-totalité de l'eau, puisée dans le sol, ne fait que traverser la plante avant d'être évaporée au niveau des feuilles. L'énergie solaire arrivant au niveau des feuilles est utilisée pour évaporer l'eau. La transpiration consomme de l'énergie et refroidit les feuilles exposées au rayonnement solaire. L'intensité de ce processus dépend de la différence de pression de vapeur entre l'air ambiant et les surfaces évaporantes (ΔW) :

$$E = g_s \Delta W$$

où E est la transpiration et g_s la conductance stomatique pour la vapeur d'eau.

L'évaporation de l'eau crée des tensions qui se transmettent, de proche en proche, des feuilles vers les racines et provoquant l'absorption racinaire. Ce phénomène est décrit par la théorie de la **Tension-Cohésion** énoncée par Dixon et Joly (1894) et reformulée par Zimmermann (1983) qui repose sur :

(i) l'existence d'une continuité hydraulique entre le sol, la plante et l'atmosphère (SPAC)

(ii) la forte cohésion des molécules d'eau entre elles et avec les parois poreuses des trachéides et des vaisseaux. Cette cohésion des molécules implique que toute tension appliquée à l'une des extrémités du système sera transmise à l'autre extrémité.

2-2 Analogie à la loi d'Ohm

La visualisation et la quantification du déplacement à longue distance de la colonne d'eau est possible grâce à l'analogie ohmique développée par Van den Honert (1948). La conductance

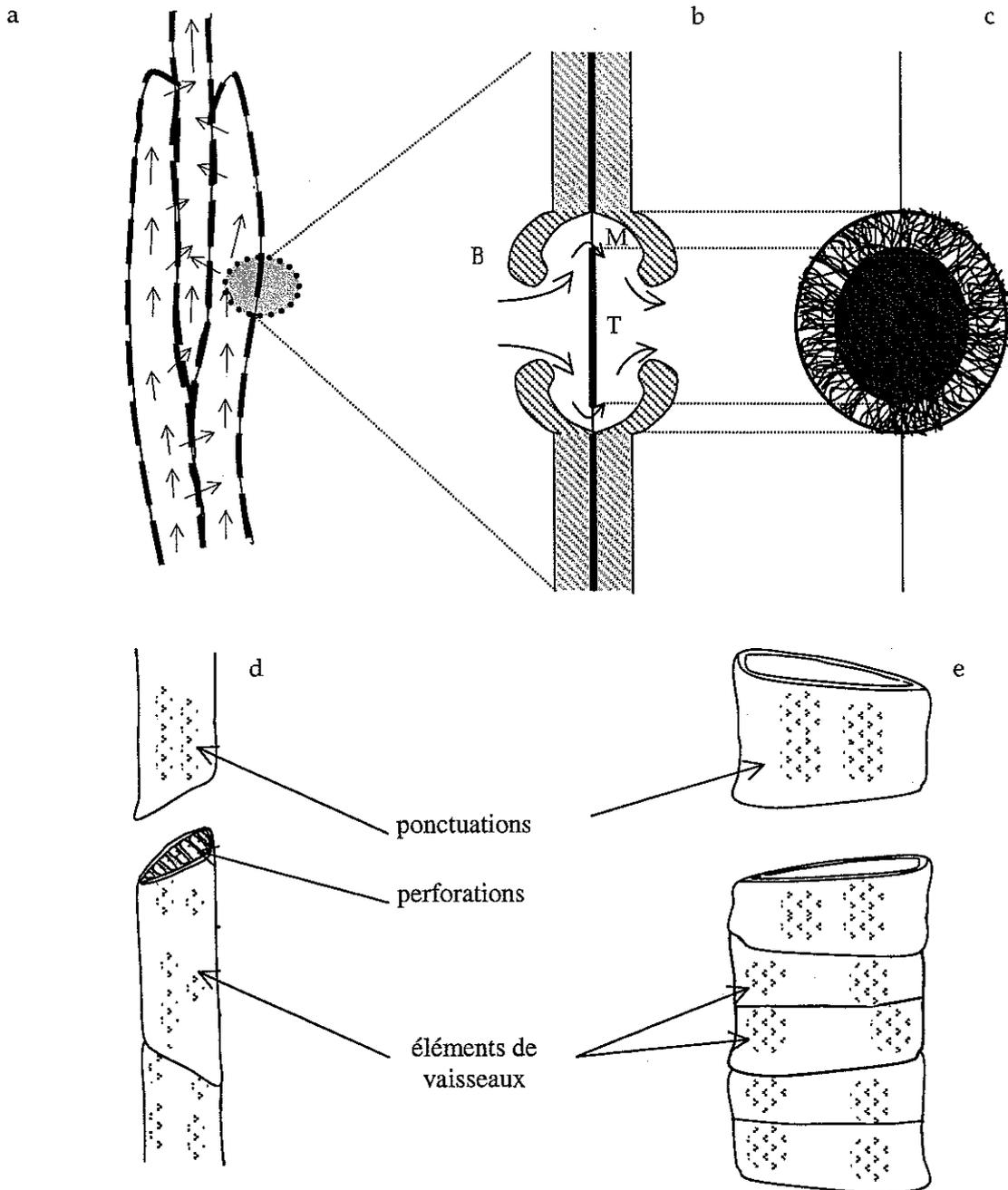


Figure 2-4 : Composition du bois de conifères (a à c) et d'espèces à pores diffus (d) et à zone poreuse (e):

- a) Coupe longitudinale de 3 trachéides. Les flèches représentent la circulation d'eau à l'intérieur d'une trachéide et entre deux trachéides par les ponctuations bordées entre deux éléments.
- b) Détail d'une **ponctuation aréolée**: Elle est formée d'une partie centrale (le tore, T) non poreuse et d'une partie fibrillaire poreuse (marge, M). La paroi secondaire interrompue au niveau de la ponctuation forme un renflement (Bordure, B). Les flèches indiquent la circulation de l'eau dans la ponctuation.
- c) Schéma de la **structure fibrillaire de la paroi primaire** (la marge) formant des pores (coupe tangentielle): le passage de l'eau entre les trachéides se fait par les interstices formés par les fibrilles d'hemicellulose et dont le diamètre est variable.
- d) Vaisseaux de **bois à pores diffus** (bouleau)
- e) Vaisseaux de **bois à zone poreuse** (chêne)

hydraulique totale de l'arbre est la résultante de toutes les conductances en phase liquide dans les racines les tiges et les feuilles, placées en série (figure 2-5). Le potentiel hydrique en tout point du système plante (Ψ_x) peut être calculé par :

$$\Psi_x = \Psi_{\text{sol}} - \frac{E}{g_L}$$

où Ψ_{sol} est le potentiel hydrique dans le sol et g_L la conductance hydraulique spécifique foliaire entre deux points du système et E, la densité de flux de vapeur d'eau. La sève se déplace entre le sol et l'atmosphère grâce à l'existence d'une différence de potentiel hydrique entre les racines et les feuilles. Cette analogie sous cette forme est exact si le flux est conservatif. En flux non conservatif, il faut ajouter des capacitances dans le circuit.

2-3 Controverse concernant la théorie de Tension-Cohésion:

Récemment de nouvelles techniques de mesures des tensions telles que la sonde à pression cellulaire ont été développées. Les différences entre les tensions mesurées par ces techniques et par la chambre à pression ont remis en question la validité de cette dernière et celle de la théorie de Tension-Cohésion (Zimmerman et al, 1994). Les faibles tensions mesurées par la sonde dans le xylème ont poussé Canny (1995) à développer une **théorie dite de Compensation** : une pression s'appliquerait sur le xylème pour diminuer les tensions. Il propose deux origines possibles: la première implique l'existence d'une pression de nature osmotique (présence de solutés dans la sève) qui compenserait les tensions dans le xylème. La seconde impliquerait une pression exercée par les tissus entourant les vaisseaux conducteurs (parenchyme et rayons ligneux).

Un certain nombre d'expériences (pour une revue voir Tyree, 1997) ont cependant confirmé la validité de la théorie de la tension - cohésion; notamment celles de Holbrook et al (1995) et Cochard et al, (2001) qui montrent par la méthode de centrifugation des rameaux que les tensions soutenues dans le xylème sont de l'ordre de celle estimées par la chambre à pression. Compte tenu de ces évolutions, la théorie de Tension Cohésion semble à ce jour la plus à même d'expliquer la montée de la sève dans les plantes. C'est pourquoi nous resterons dans le cadre de cette théorie pour ce travail.

2-4 Etat hydrique d'une plante

L'état hydrique d'un végétal peut être estimé par

- son humidité pondérale (ratio entre la masse d'eau et la masse de matière sèche)
- sa teneur relative en eau

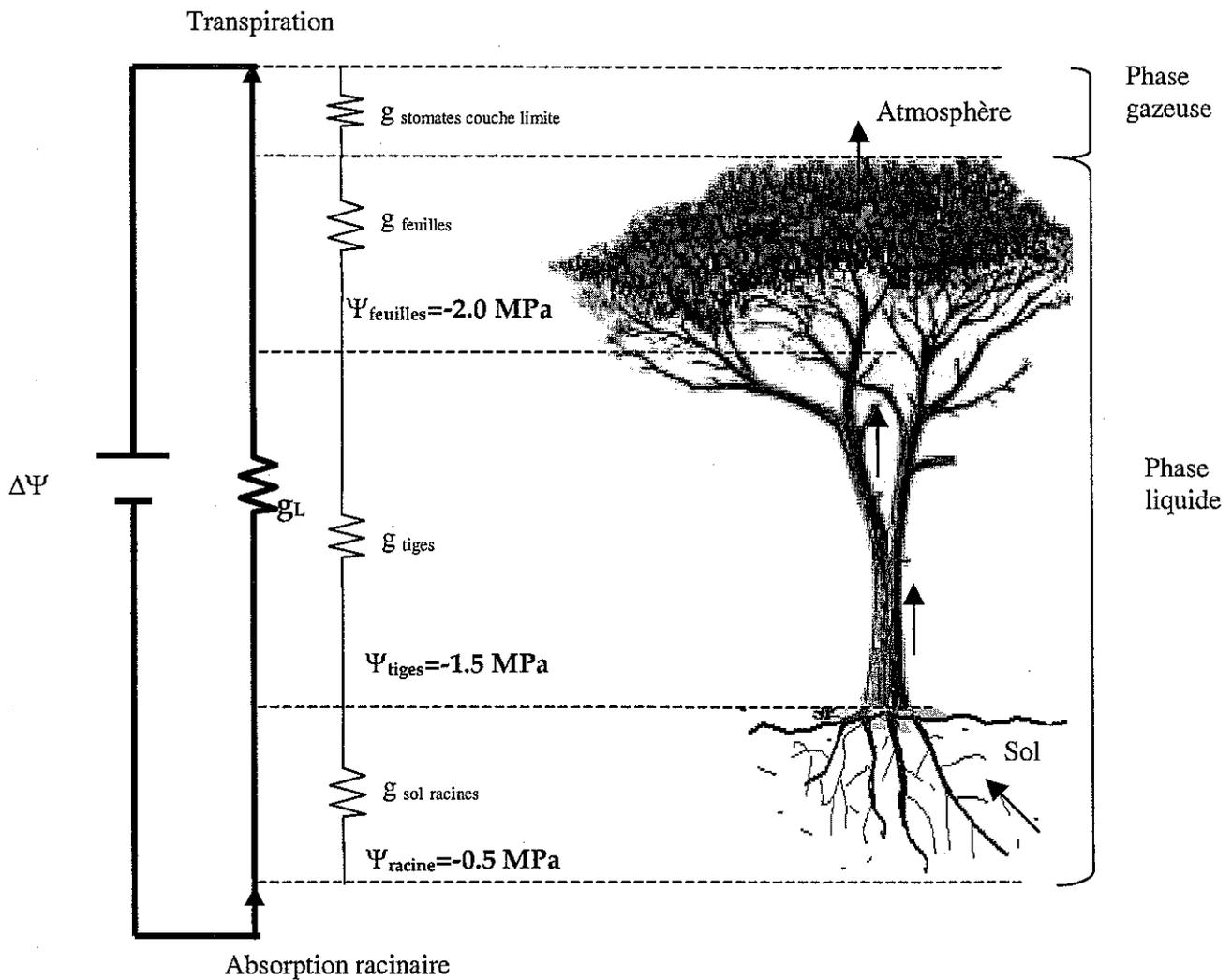


Figure 2-5 : Représentation ohmique (Van den Honert, 1948) de la circulation de la sève dans la plante entre les racines et les aiguilles. La conductance hydraulique totale spécifique foliaire de l'arbre g_L est la résultante des conductances entre les racines et les aiguilles. Le flux d'eau entre deux points du système peut être décrit par la relation (analogie à la loi d'Ohm) :

$$E = \Delta\Psi \times g_L$$

avec E , la transpiration et $\Delta\Psi$ la différence de potentiel entre les aiguilles et les racines. Les transferts hydriques s'effectuent selon un gradient de potentiel décroissant entre le sol et l'atmosphère.

D'après *Ewers et Cruiziat, 1990*.

- le potentiel hydrique qui est défini comme le travail à fournir pour une unité de masse d'eau pour qu'elle passe d'un état liquide à un état de référence: l'eau libre dans les mêmes conditions. En toute rigueur, le potentiel hydrique ne définit pas l'état hydrique du végétal mais l'état énergétique de l'eau dans le plant. Il donne une estimation dynamique puisqu'il conditionne le transfert d'eau dans la plante (théorie de tension cohésion). Le potentiel de l'eau libre est nul par définition, le potentiel hydrique (dans un échantillon) est donc négatif.

Le potentiel hydrique (ψ : MPa) est défini comme la résultante de trois composantes:

$$\Psi = \Psi_p + \Psi_o + \Psi_m$$

où ψ_p est le potentiel de turgescence, il représente la pression positive exercée par la paroi cellulaire sur le contenu vacuolaire, ψ_o le potentiel osmotique, directement lié au contenu vacuolaire en solutés, il est toujours négatif ou nul pour l'eau pure et ψ_m le potentiel matriciel dépendant des interactions entre les molécules au niveau des parois cellulaires. Le potentiel hydrostatique est faible et souvent négligé au niveau de la plante. Dans le xylème, le potentiel de turgescence peut soit être légèrement positif dans des cas rares (pression racinaire) ou le plus souvent négatif sous l'effet de la transpiration.

Le **potentiel hydrique de base** est le potentiel hydrique de la plante, mesuré avant le lever du soleil, lorsque le végétal est considéré en équilibre avec le sol. C'est une estimation du **potentiel hydrique du sol** (Breda, 1995). Cette estimation est correcte si la transpiration nocturne est inexistante et si la plante a eu le temps de se remettre à l'équilibre. Dans des conditions de contraintes hydriques importantes ou de sol hétérogène, le potentiel hydrique de base est un mauvais estimateur la contrainte subie par la plante (Améglio, 1999). L'utilisation d'indicateurs complémentaires tels que le flux de sève ou la transpiration est alors nécessaire.

Le **potentiel hydrique foliaire** est mesuré lorsque la plante transpire et définit l'état hydrique de la plante. Il varie au cours de la journée en fonction de la transpiration. En milieu de journée, il atteint son minimum (**potentiel hydrique minimum**) puis le phénomène s'inverse.

Le **potentiel hydrique du xylème** des tiges est obtenu au cours de la journée, sur des rameaux qui ne transpire pas (maintien à l'obscurité), la différence de potentiel entre les feuilles et le xylème est alors nulle.

3- Caractéristiques hydrauliques

Les caractéristiques hydrauliques d'une espèce sont décrites par (i) la capacité de transfert hydrique c'est à dire les conductances réparties tout au long du trajet (architecture hydraulique) mais également par (ii) la vulnérabilité à la cavitation du xylème qui fixe les limites du fonctionnement hydrique.

3-1 L'architecture hydraulique:

- Définitions

L'architecture hydraulique d'une plante est une description quantitative, définie grâce à un modèle linéaire simple d'éléments conducteurs en utilisant l'analogie à la loi d'Ohm.

La conductance hydraulique (K : mol s⁻¹ MPa⁻¹) d'un segment peut être calculée comme étant le ratio entre le flux à travers ce segment et la différence de potentiel hydrique entre les deux extrémités:

$$K = \frac{E}{\Delta\Psi}$$

Pour standardiser les résultats et s'affranchir de la longueur de l'échantillon, la **conductivité hydraulique** (K_h : mol m s⁻¹ MPa⁻¹) est utilisée:

$$K_h = K \times \text{long} = \frac{E}{(\Delta\Psi / \text{long})}$$

La conductivité hydraulique d'un rameau (Tyree et Ewers, 1991) nous permet d'accéder à :

(i) la **conductivité hydraulique spécifique** (K_s : mol m⁻¹ s⁻¹ MPa⁻¹), estimée par le ratio entre la conductivité hydraulique et la surface conductrice (S_a : m²).

$$K_s = \frac{K_h}{S_a}$$

Intuitivement, on imagine que la taille des vaisseaux conducteurs influe directement sur la conductivité d'un segment. La loi de Hagen Poiseuille prévoit que le flux dans un capillaire parfait augmente avec la puissance 4 de son diamètre (Zimmerman, 1983 ; Tyree et al 1994). Les éléments conducteurs ne sont pas des tubes parfaits et la comparaison entre conductivité théorique et réelle donne une idée de la **porosité du système**.

(ii) la **conductivité hydraulique spécifique foliaire** (K_f : mol m⁻¹ s⁻¹ MPa⁻¹) qui est la conductivité hydraulique rapportée à la surface foliaire (L_a : m²) alimentée par le rameau :

$$K_f = \frac{K_h}{L_a}$$

K_f est une estimation de la capacité du rameau à supporter la transpiration des feuilles qu'il alimente, on peut considérer qu'il s'agit d'un estimateur de l'efficience hydraulique du rameau.

De la même manière que l'on calcule une conductivité hydraulique spécifique foliaire, on peut calculer une conductivité hydraulique spécifique racinaire qui sera rapportée à la surface de racines qui absorbe l'eau en amont et alimente la portion mesurée, ou à la surface foliaire.

- Paramètres influant sur les conductivités

Si un élément conducteur est assimilé à un capillaire cylindrique, sa conductivité hydraulique suit la loi de Hagen-Poiseuille:

$$K = \frac{\pi\rho}{128\eta} \times d^4$$

avec ρ la densité du liquide, η la viscosité cinématique du liquide et d le diamètre de l'élément considéré. La conductivité d'un élément est donc en théorie proportionnelle à la puissance 4 de son diamètre. Les éléments du xylème ne sont cependant pas de capillaires parfaits. Les principales causes de ces divergences par rapport à la théorie sont la résistance des parois, le passage latéral de la sève entre deux éléments dans des ponctuations de faible diamètre, et la dimension finie de ceux-ci (Zimmermann, 1983). Les différences dans l'anatomie des éléments conducteurs de sève conduisent donc à des différences de conductivités hydrauliques au niveau des rameaux. Trois types de bois sont décrits (figure 2-4):

- le bois à zones poreuses est un bois dans lequel les vaisseaux du bois de printemps (environ 300 μm) sont plus larges que les vaisseaux du bois d'été du même cerne. Ce bois est observé chez des genres tels que *Castanea*, *Quercus*, *Ulmus*, *Fraxinus*, etc.

- le bois à pores diffus est un bois dans lequel les vaisseaux sont plus petits (75 μm) et plus courts que les précédents, les vaisseaux du bois de printemps et d'été ont approximativement la même taille. Ce bois se rencontre dans des genres tels que *Fagus* et *Betula*.

- le bois à trachéides est un bois dans lequel les éléments conducteurs sont exclusivement des trachéides, on le trouve chez tous les gymnospermes et les plantes vasculaires inférieures.

Des comparaisons entre le flux mesuré et le flux théorique pour chaque type de bois ont été relevées dans la littérature (in Zimmermann et Brown 1971). L'efficacité de transfert est le pourcentage de conductivité mesurée par rapport à la conductivité calculée. Elle varie d'environ 50% pour *Quercus* à 34-38% pour *Betula*. Les conifères tels que *Abies alba* et *Taxus* ont une efficacité assez élevées si nous considérons que leur système conducteur est uniquement formé de trachéides (de 26 à 43%).

Malgré la faible efficacité des conifères, la conductance hydraulique totale à l'échelle de l'arbre est comparable entre types (Becker, Tyree et Tsuda, 1999). En effet, à l'échelle d'un rameau, les conifères qui ont de faibles diamètres de trachéides, sont moins efficaces que les angiospermes à larges éléments conducteurs. Cependant leur architecture hydraulique et notamment le rapport entre la

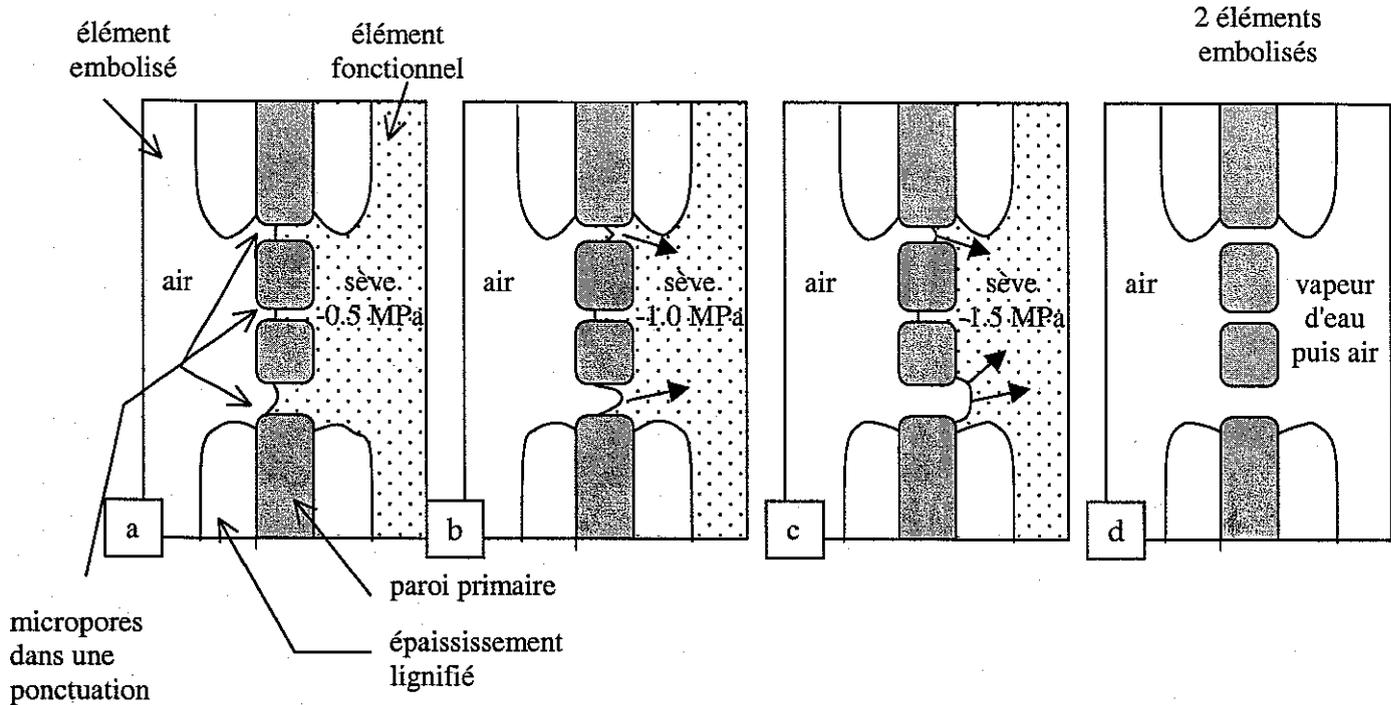


Figure 2-6: Théorie du germe d'air expliquant le mécanisme de propagation de la cavitation entre un élément conducteur embolisé et un élément fonctionnel. A l'état initial (a), le vaisseau embolisé est à pression atmosphérique, la sève circulant dans le vaisseau fonctionnel est à -0.5 MPa. Au niveau des ponctuations, voies de passage entre éléments, des ménisques air/eau se forment. Lorsque le rameau se dessèche, la tension de sève augmente et les ménisques se creusent progressivement (b et c). Lorsque la limite de résistance des ménisques est atteinte, une microbulle apparaît rapidement, enfle et envahit tout l'élément qui devient non fonctionnel (d). La pression dans le vaisseau nouvellement embolisé est rapidement égale à la pression atmosphérique.

La limite de résistance du ménisque est déterminée par le rayon du pore. Il y a rupture du ménisque air/eau lorsque la tension hydrostatique dans le liquide devient supérieure à la pression capillaire maximale du pore $2T/r$ avec r le rayon du pore. La bulle d'air grossit progressivement et embolise le conduit (Cochard et Granier, 1999).

(d'après Cruiziat et Tyree, 1990)

surface conductrice et la surface foliaire conduit à une efficacité équivalente à l'échelle de l'arbre entier. Les conditions de croissance peuvent être à l'origine des variations de propriétés hydrauliques. Le microclimat lumineux, par exemple, influence la taille des vaisseaux (Cochard, 1999). La disponibilité en eau joue également un rôle pendant la formation des vaisseaux mais également dans le maintien de la conductivité (Alder, 1996).

3-2 Dysfonctionnement du transfert d'eau dans le xylème : l'embolie.

- Définition

L'embolie dans le xylème peut avoir deux origines : une succession de gel-dégel en hiver et une sécheresse estivale. La formation d'embolie par le gel résulte de la faible solubilité des gaz dans la glace. Lorsque la sève gèle, l'air dissout forme des bulles. Lors du dégel, ces bulles peuvent s'étendre et envahir tout l'élément conducteur ou se dissoudre à nouveau dans la sève. La taille des conduits est directement liée à la sensibilité du xylème au gel (Wang et al, 1992) et les conifères sont insensibles à l'embolie hivernale. L'embolie estivale qui est un phénomène répandu chez toutes les espèces a pour origine la chute des tensions dans le xylème.

L'eau circule sous tension c'est à dire dans un état métastable. Il peut de ce fait se produire des événements de cavitation par rupture de colonnes d'eau, dus à l'entrée de micro bulles d'air dans la colonne d'eau. La conséquence de la cavitation est l'embolie, l'air envahit tout l'élément conducteur, et empêche le passage de l'eau. Le mécanisme d'apparition d'une bulle d'air dans un élément conducteur a été souvent discuté. Quatre hypothèses sont le plus souvent émises (Tyree, 1999): (i) L'aspiration d'une bulle d'air à travers un pore situé entre un élément conducteur fonctionnel et un élément embolisé. C'est la théorie du **germe d'air** (figure 2-6) (Zimmerman, 1983, Sperry et Tyree, 1988). Le passage de la bulle d'air à travers le pore est possible lorsque la tension de sève dépasse la valeur maximale, supportable par le ménisque air- sève des pores de la paroi. L'air est alors aspiré vers l'élément fonctionnel en un temps très court. (ii) La rupture d'une liaison hydrophobe au niveau de la paroi d'un élément conducteur. La bulle d'air présente dans la paroi peut être aspirée vers le xylème lorsque la tension augmente. (iii) L'apparition spontanée d'une bulle d'air ou la rupture de l'adhésion entre les molécules d'eau et la paroi des éléments conducteurs. L'existence d'une forte cohésion entre les molécules d'eau rend cet événement peu probable, aux tensions que subissent les plantes dans la nature. Les plantes ont toujours parmi leurs éléments conducteurs, des éléments embolisés. En effet, l'embolie est la conséquence naturelle d'une abscission foliaire, de phénomènes mécaniques (attaques d'insectes), thermiques (par la succession de gel-dégel) ou de la présence d'une contrainte hydrique augmentant les tensions dans le xylème. Pour cette raison, la première hypothèse, celle du germe d'air à travers les pores bordés entre deux éléments est la plus probable.

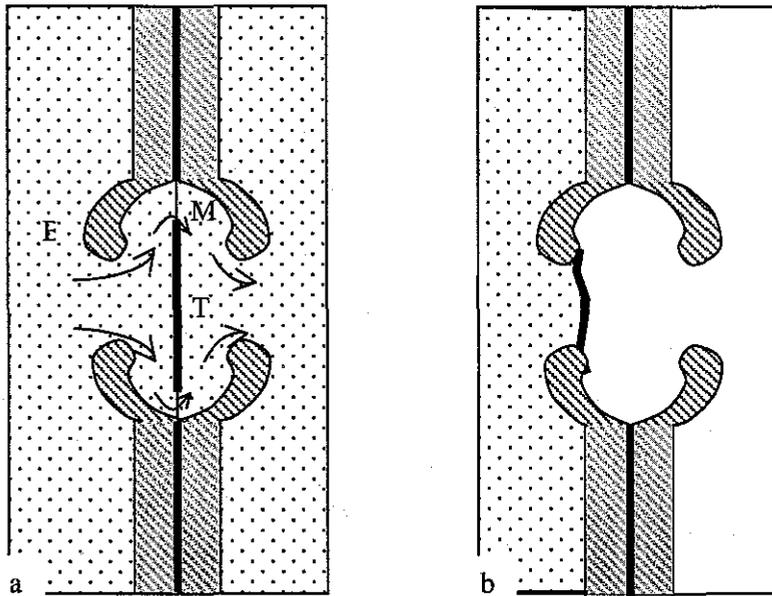


Figure 2-7: Propagation de l'embolie chez les gymnospermes (ponctuations bordées entre deux trachéides):

Lorsque la ponctuation sépare deux trachéides fonctionnelles (a), le tore est en position centrale et le flux d'eau se fait à travers les micropores présents entre les microfibrilles d'hémicellulose (voir figure 4). Si cette ponctuation se situe entre une trachéide embolisée et une trachéide fonctionnelle (b), le tore se plaque sur la ponctuation pour limiter la propagation de l'embolie (Dixon, 1914).

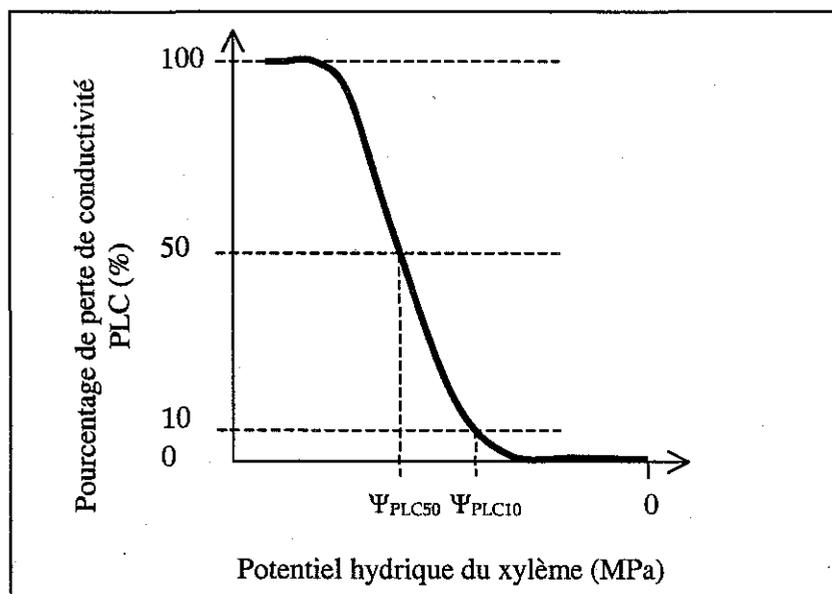


Figure 2-8: Courbe de vulnérabilité schématique. Ψ_{PLC10} représente le potentiel critique du xylème, seuil d'embolie à 10% de perte de conductivité et Ψ_{PLC50} le potentiel hydrique qui induit 50% de perte de conductivité.

- Propagation de l'embolie

Chez les angiospermes, si on admet la théorie du germe d'air, la taille des pores entre deux vaisseaux est directement reliée à la probabilité qu'une bulle d'air se propage dans le xylème et donc à la vulnérabilité à l'embolie (Sperry et al, 1988). Chez les gymnospermes, où les pores dans les trachéides sont protégés par des tores, la manière dont l'embolie se propage d'une trachéide à une autre est moins claire. Lorsqu'une trachéide est embolisée, le tore de l'élément voisin se plaque sur la ponctuation (Dixon, 1894) (figure 2-7): il interdit le passage entre les deux trachéides et provoque ainsi une perte de conductivité. Sperry et Tyree (1990) ont émis l'hypothèse, que la propagation de l'embolie se fait par les pores dans l'enchevêtrement de microfibrilles et que leur rigidité jouerait un rôle important dans la sensibilité à l'embolie : plus les microfibrilles sont rigides, plus les pores sont petits et plus la tension nécessaire pour rompre le ménisque air/eau est négative. Le déplacement du tore à de fortes tensions est également une des hypothèses probables mais elle reste à démontrer (Crombie et al, 1985).

- Estimation du degré d'embolisation du xylème

Deux méthodes ont été utilisées pour détecter des phénomènes de cavitation dans le xylème.

(i) La plus ancienne, développée par Milburn dans les années 60 (Milburn, 1966) se base sur le fait que lorsqu'un élément cavite, les tensions se libèrent produisant une émission acoustique. Ces émissions acoustiques peuvent être détectées dans une large gamme de fréquences dans le domaine audible à ultra sonique. Le nombre d'émissions est corrélé avec le nombre d'éléments conducteurs embolisés. Cette technique est non destructrice mais très qualitative.

(ii) A la fin des années 1980, Sperry et al (1988) ont développé une méthode de détection hydraulique de l'embolie. Lorsqu'un élément conducteur s'embolise, il devient inapte au transfert de l'eau, il en résulte une perte de conductivité hydraulique du rameau que l'on mesure par conductimétrie. Cette technique a été utilisée dans notre étude.

- Résorption de l'embolie

Avec la présence de l'embolie, la question de l'existence d'un phénomène de résorption de l'embolie se pose : un vaisseau embolisé peut-il redevenir fonctionnel ? De manière générale, il a été admis que l'embolie dans un élément conducteur ne pouvait être résorbée que par la dissolution du gaz dans l'eau qui l'entoure. D'après la loi de Henry, la solubilité d'un gaz est proportionnelle à la pression partielle du gaz contigu à l'eau. Un élément embolisé étant à pression atmosphérique, la dissolution du gaz dans l'eau ne peut se faire qu'à une pression supérieure ou égale à la pression atmosphérique. Des expériences sur *Acer saccharum* (Tyree et Yang, 1992) et sur *Thuja occidentalis* (Lewis, 1994) ont permis de valider cette théorie en montrant une dissolution de l'embolie à des pressions supérieures à

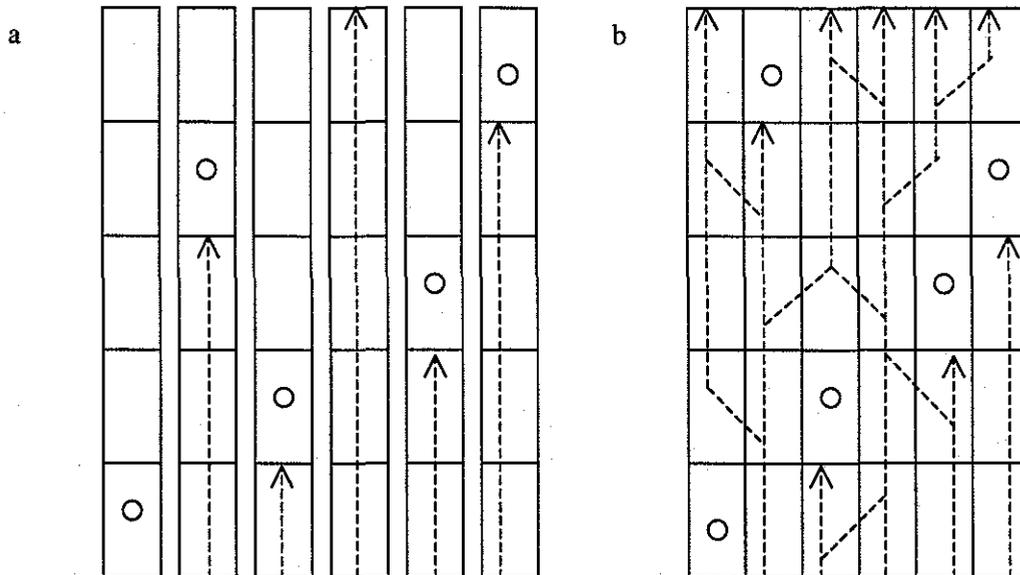


Figure 2-9: Schémas illustrant le **phénomène de redondance des éléments conducteurs:**

- a) il n'existe pas de redondance des éléments conducteurs, les éléments sont connectés bout à bout, la sève ne peut circuler entre les éléments que par leurs extrémités. La présence dans la portion de rameau de 5 vaisseaux embolisés sur 5 des 6 séries d'éléments entraîne une perte de conductivité de 83.3%
- b) Phénomène de redondance des éléments: les éléments sont connectés bout à bout mais également par leurs cotés, la circulation de la sève peut être latérale. La présence de 5 éléments embolisés provoque une perte de conductivité de seulement 16.6%.

Les cercles symbolisent les éléments embolisés, les traits pointillés représentent une partie des voies de circulation possibles pour la sève. D'après *Tyree et al*, 1994.

la pression atmosphérique (6 kPa). Cette situation est favorisée chez les espèces développant une poussée racinaire nocturne (Fisher, 1991) ou en début de printemps (Tyree et Yang, 1992; Sperry et al, 1987). Chez les gymnospermes, le phénomène de poussée racinaire n'a jamais été observé (Milburn et Kallarackal, 1991). Récemment, diverses sources ont montré l'existence d'un remplissage des vaisseaux embolisés à des potentiels hydriques négatifs (Borghetti et al, 1991) qui impliquerait entre autre l'excrétion d'osmotica tels que des sels ou des molécules organiques à partir des cellules entourant les éléments cavités (Salleo et al, 1996). Canny (1995, 1998) a fait l'hypothèse d'une résorption de l'embolie au cours de la journée, rapidement contredit par Cochard et al (2000) qui soupçonnent un artefact d'expérimentation. Plus récemment Holbrook et Zwieniecki (1999) ont impliqué les pressions capillaires dans le remplissage des éléments conducteurs. Ces hypothèses vont à l'encontre des principes de la thermodynamique et sont *a priori* rejetées (Tyree et al, 1999). D'autres hypothèses doivent être envisagées pour comprendre ces mécanismes

Chez les feuillus, une embolie native peut être résorbée en injectant de l'eau sous pression (flush) de 0.03 à 0.06 MPa. Les vaisseaux embolisés se remplissent d'eau et sont à nouveau conducteurs. Ceci est impossible chez les conifères à cause de la présence de tores dans les ponctuations.

- Vulnérabilité à la cavitation du xylème

L'embolie des vaisseaux et la propagation de cette embolie à tout le système se produit à des tensions dans le xylème qui peuvent différer entre espèces. Les potentiels hydriques seuil de cavitation (à 10% de perte de conductivité Ψ_{PLC10}) et à 50% de perte de conductivité (Ψ_{PLC50}) sont déterminés à partir des courbes de vulnérabilité (figure 2-8) et utilisés pour caractériser la vulnérabilité d'un organe à la cavitation.

3-3 Limitation de l'embolie et régulation des tensions dans le xylème

- Redondance

L'existence d'une redondance des éléments conducteurs du xylème limite les effets de l'embolie d'un nombre donné d'éléments sur le transfert hydrique (Figure 2-9). En effet, l'importance de l'embolie n'est pas directement proportionnelle au nombre d'éléments embolisés. La circulation latérale de la sève entre éléments conducteurs par les ponctuations provoque une redondance (Tyree, Davis et Cochard, 1994). La conductivité hydraulique d'un rameau est donc peu affectée par la présence d'un nombre limité d'éléments conducteurs embolisés.

- Marge de sécurité

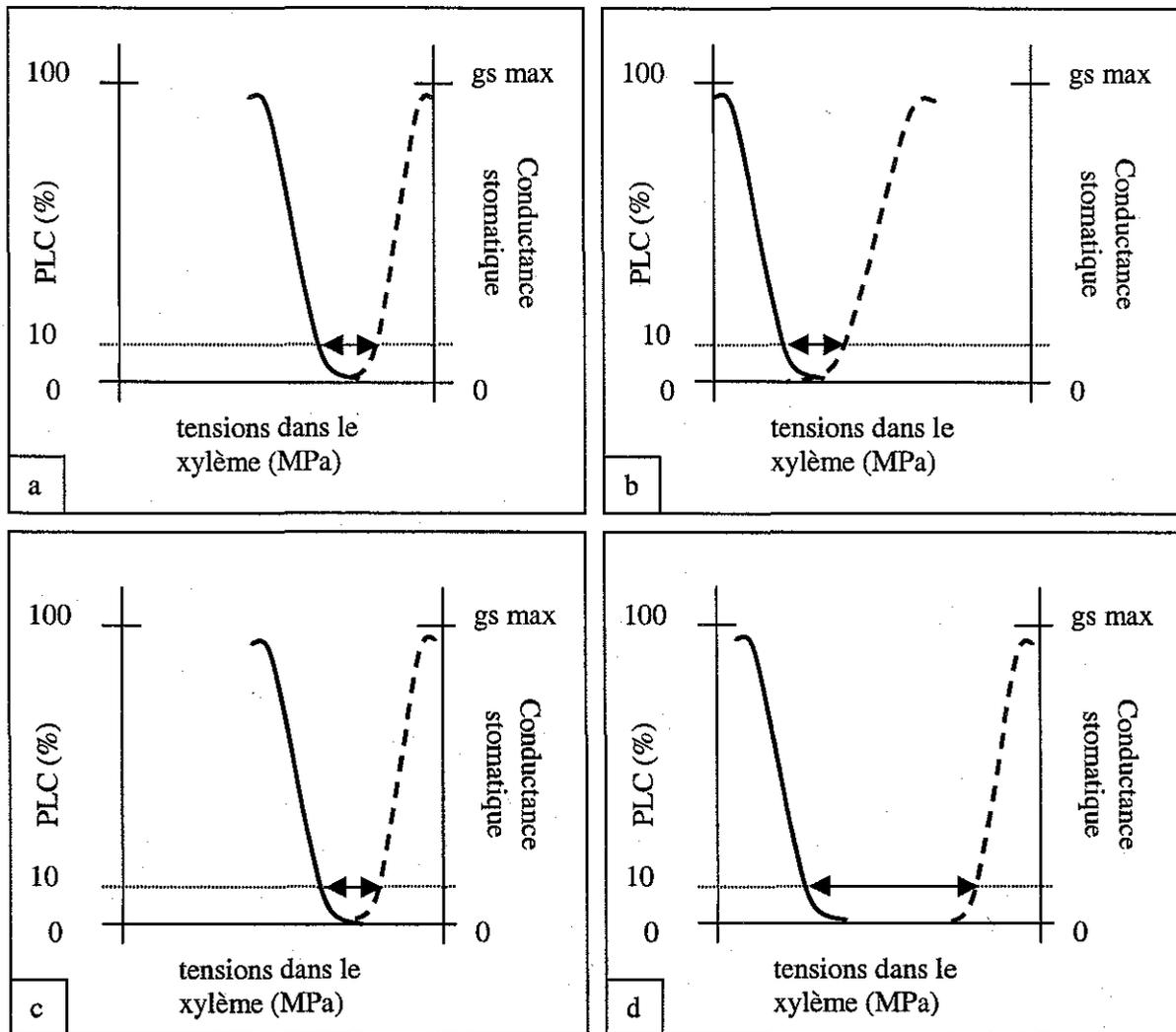


Figure 2-10: Schémas des deux hypothèses possibles concernant la **marge de sécurité** entre le potentiel seuil de cavitation Ψ_{PLC10} et le potentiel provoquant la fermeture totale des stomates. Le trait continu représente la courbe de vulnérabilité et le trait discontinu, la conductance stomatique.

- a) et b) les arbres fonctionnent à des potentiels proches de leur seuil de cavitation. La marge de sécurité est faible pour toutes les espèces.

- c) et d) la régulation stomatique intervient avant l'initiation de l'embolie : l'écart entre le potentiel seuil de régulation stomatique et Ψ_{PLC10} est variable. Il serait réduit pour les espèces évitantes et à une forte vulnérabilité (c) et élevé pour les espèces à régulation précoce et à faible vulnérabilité (d).

Les flèches doubles indiquent la marge de sécurité.

La régulation stomatique joue un rôle central. De manière générale, les plantes se protègent d'un dessèchement catastrophique en limitant la transpiration par la fermeture de leurs stomates (Jones et Sutherland, 1991). De nombreux auteurs ont d'ailleurs montré que la régulation stomatique se produisait à des tensions dans le xylème proche de celles induisant une embolie (Lu *et al.*, 1996 ; Sperry *et al.*, 1993; Nardini et Salleo, 2000). L'écart entre le potentiel seuil de cavitation Ψ_{PLC10} et le potentiel provoquant la fermeture totale des stomates, défini comme une marge de sécurité (Alder *et al.*, 1996), serait en relation avec des types de fonctionnement différents. Deux cas sont possibles (figure 2-10):

i) les arbres fonctionnent à des potentiels proches de leur seuil de cavitation (Tyree et Sperry, 1988). La marge de sécurité est, suivant cette hypothèse, faible pour toutes les espèces.

ii) la régulation stomatique intervient plus ou moins précocement avant l'initiation de l'embolie : l'écart entre le potentiel seuil de régulation stomatique et Ψ_{PLC10} est variable suivant l'espèce. Il serait réduit pour les espèces évitantes et à une forte vulnérabilité et élevé pour les espèces à régulation précoce et à faible vulnérabilité.

Ce double critère de fonctionnement stomatique - structure du xylème est important pour caractériser l'adaptation des espèces à la contrainte hydrique. Il a retenu l'attention de nombreux auteurs (Jones et Sutherland, 1991; Sperry et Pockman 1993; Cochard *et al.*, 1996; Irvine *et al.*, 1998; Kavanagh *et al.*, 1998; Salleo *et al.*, 2000; Cochard 2002).

- Risque d'embolie

Le risque d'embolie, probabilité pour que le potentiel seuil de vulnérabilité soit atteint, tient compte de différents paramètres:

(i) les caractéristiques hydrauliques intrinsèques du xylème (vulnérabilité à la cavitation et conductivités hydrauliques). Les espèces avec des éléments conducteurs de gros diamètres ont une efficacité de flux de sève plus importante mais d'après la loi de Jurin, une probabilité de rupture de la colonne d'eau plus importante que pour des faibles diamètres. Ce compromis entre efficacité et sécurité du xylème (Zimmermann, 1983) est vrai chez certaines espèces (Pinol et Sala, 2000; Pockman et Sperry, 2000). Cependant Tyree, *et al.* (1994) n'ont pu mettre en évidence une telle relation sur une large gamme d'espèces.

(ii) la régulation stomatique.

Si on considère une espèce avec une conductivité hydraulique faible et une vulnérabilité à la cavitation élevée, on peut penser qu'elle fonctionnera à de fortes tensions pendant une contrainte hydrique. Le risque d'embolie sera plus ou moins élevé selon l'efficacité de la régulation stomatique.

3-4 Efficacité versus intégrité du xylème

Des modèles physiques repris par Zimmermann (1983) suggèrent que l'efficacité de transport de l'eau, associée à de larges éléments conducteurs se traduirait par une vulnérabilité élevée à la cavitation. Cette relation pourrait conduire à une uniformisation des risques de cavitation. Cette relation a été validée dans le cadre de la comparaison de deux chênes méditerranéens (*Quercus ilex* et *Q. pubescens*) où *Q. ilex* avait, dans tous les cas, une plus faible conductivité et une plus faible vulnérabilité que *Q. pubescens* (Tognetti et al, 1998). D'autres comparaisons vont dans ce sens, notamment chez des espèces désertiques (Pockman et Sperry, 2000) ou entre pinacées du Pacifique Nord (Piñol et Sala, 2000). Cependant Brodribb et Hill (1999) n'ont trouvé aucune interaction entre K_h et vulnérabilité du xylème chez différentes espèces de conifères. De la même manière, Tyree et al (1994) n'ont mis en évidence aucune relation entre Ψ_{PLC50} et la surface des éléments conducteurs lors d'une comparaison de 13 conifères de différents écotypes. Il est donc intéressant de l'étudier dans un même milieu, sur des espèces cohabitant malgré des différences de caractéristiques hydrauliques.

4 Echanges gazeux et efficience d'utilisation de l'eau

4-1 Les stomates

Dans les espaces intercellulaires proche de la cavité sous-stomatique, l'eau change d'état et passe de liquide à gazeux. La différence de pression de vapeur d'eau entre l'intérieur et l'extérieur des feuilles provoque un flux vers l'atmosphère. L'épiderme des feuilles est imperméable à l'eau, la plus grande partie de l'évaporation se fait par les stomates, qui sont composés d'un pore central appelé ostiole, entouré de cellules spécialisées (cellules de garde) de l'épiderme et de cellules voisines subsidiaires, le tout protégeant un espace sous stomatique. Les stomates ont un rôle important à l'interface entre les feuilles et l'atmosphère: ils contrôlent la sortie de vapeur d'eau mais aussi l'entrée de CO_2 dans la feuille, par diffusion gazeuse, nécessaire à l'assimilation. Les stomates existent sur tous les végétaux supérieurs, leur répartition peut être:

- hypostome: exclusivement sur la face inférieure (*Quercus*, *Fagus*...)
- amphistome: les stomates sont répartis sur les deux faces des feuilles, c'est le cas sur les aiguilles de conifères tels que *Pinus* et *Cedrus atlantica* et chez certains angiospermes tels que *Eucalyptus*).

Le nombre de stomates par millimètre carré de surface foliaire ainsi que leur taille sont très variables (Willmer, 1983), de moins de 100 chez *Larix decidua* à plus de 1000 chez certains chênes, et sont très dépendants de l'espèce et de son habitat. Il est très difficile de relier une conductance stomatique à une densité de stomates à cause de l'agencement particulier que peuvent avoir les stomates, de leurs différences de tailles et de la variabilité de l'ouverture stomatique.

4-2 Estimation de la transpiration

Les flux gazeux au niveau des stomates ne sont possibles que par l'existence d'un gradient de concentration (ou de pression partielle) en vapeur d'eau entre les espaces intercellulaires et l'air. A l'échelle foliaire, la loi de Fick simplifiée décrit la diffusion de la vapeur d'eau au niveau des stomates par l'équation:

$$E = g_s (W_{in} - W_a) \quad (1)$$

où E est la transpiration ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), g_s la conductance stomatique pour l'eau ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) et W_{in} et W_a les fractions molaires de l'eau (mmol mol^{-1}) dans les espaces intercellulaires et dans l'air.

La transpiration foliaire est fortement dépendante de la demande climatique (éclairage, température et vent) et limitée par la conductance stomatique.

4-3 Assimilation nette de CO_2

L'assimilation nette de CO_2 est le processus qui permet aux végétaux chlorophylliens, en transformant l'énergie lumineuse en énergie chimique, de réduire le CO_2 atmosphérique en composés carbonés en libérant du dioxygène (O_2) dans l'atmosphère. Ce processus est primordial puisqu'il est à l'origine de tous les composés organiques.

Une partie de l'énergie lumineuse interceptée par les antennes collectrice du photosystème II est convertie en énergie chimique sous forme d'un flux d'électrons. Cette énergie est utilisée pour les réactions photochimiques. L'efficacité du processus au niveau du photosystème II peut être estimée par la technique de fluorescence de la chlorophylle *a*.

Pour être utilisé, le CO_2 doit diffuser de l'atmosphère vers les sites de carboxylation de la Ribulose Biphosphate Carboxylase-oxygenase (Rubisco) située dans le stroma des chloroplastes et de la Phosphoenol-Pyruvate carboxylase (PEPc) dans le mésophylle. Il rencontre un ensemble de résistances formées par la couche limite autour des feuilles, les stomates, et des résistances à la diffusion intracellulaire de CO_2 en phase gazeuse et liquide. Cette diffusion est possible grâce à l'existence d'un gradient de concentration en CO_2 entre l'air et la cellule. La loi de Fick nous permet ici aussi d'estimer l'assimilation nette ($A : \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$):

$$A = g_{\text{CO}_2} (C_a - C_i) \quad (2)$$

où g_{CO_2} est la conductance pour la diffusion de CO_2 et C_a et C_i les fractions molaire en CO_2 dans l'air et dans les espaces intercellulaires. On admettra ici que la concentration en CO_2 aux sites de

carboxylation est proche de la concentration atmosphérique en CO₂. Les équations (1) et (2) peuvent être reliées si on se base sur la différence de diffusivité du CO₂ et de la vapeur d'eau dans l'air:

$$g_{\text{CO}_2} = \frac{g_{\text{H}_2\text{O}}}{1.6} \quad (3)$$

4-4 Efficience d'utilisation de l'eau

- définition

L'efficience d'utilisation de l'eau (WUE= Water Use Efficiency: $\mu\text{mol mol}^{-1}$) décrit à l'échelle d'un plant, la relation entre la quantité de biomasse produite et l'eau utilisée par transpiration intégrée sur une saison de végétation. A l'échelle foliaire et instantanée nous estimons l'efficience d'utilisation de l'eau comme le rapport entre l'assimilation nette de CO₂ et la transpiration ou la conductance foliaire. Ce sont les efficacités d'utilisation de l'eau instantanées (A/E) ou intrinsèques (A/g_s) (Guehl, 1993). Les équations (1), (2), et (3) nous permettent d'estimer WUE:

$$\frac{A}{E} = \frac{(C_a - C_i)}{1.6 \times (W_{\text{in}} - W_a)} \quad (4)$$

L'efficience d'utilisation de l'eau intrinsèque W_i peut être exprimée par:

$$\frac{A}{g_s} = \frac{(C_a - C_i)}{1.6}$$

Dans la suite de ce mémoire, nous utiliserons W_i.

Depuis les années 80, le développement des techniques isotopiques a permis d'estimer l'efficience d'utilisation de l'eau à l'aide de la discrimination isotopique du carbone (Farquhar, 1982).

- Contrôle de W_i

Le contrôle de l'efficience d'utilisation de l'eau est à la fois génétique et environnemental. Le contrôle génétique mis en évidence sur différentes espèces cultivées, telles que *Triticum sativum* (Farquhar et Richard, 1984) et également sur des espèces d'arbres, telles que *Pinus Pinaster* (Guehl et al, 1995) ou *Pseudotsuga mensiesii* (Zhang et al, 1993). Des tests sur des descendances de conifères tempérés (Zhang et al, 1993; Flanagan et Johnsen, 1995) ont montré une forte héritabilité de W_i. L'approche QTL (Quantitative trait Loci) a permis récemment de mettre en évidence des régions du génome associées à la variabilité de W_i chez le soja (*Glycine max*) (Mian et al, 1998) et plus récemment sur le chêne (Guehl, et al, in press).

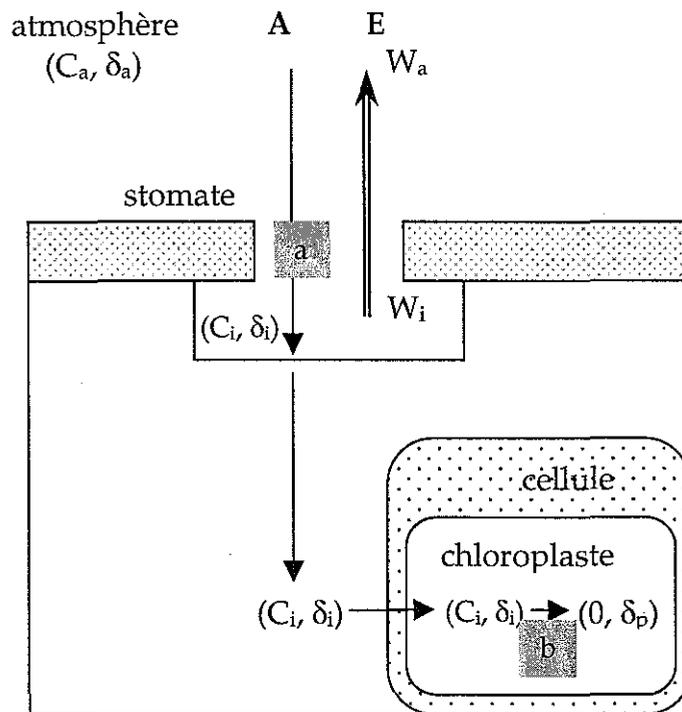
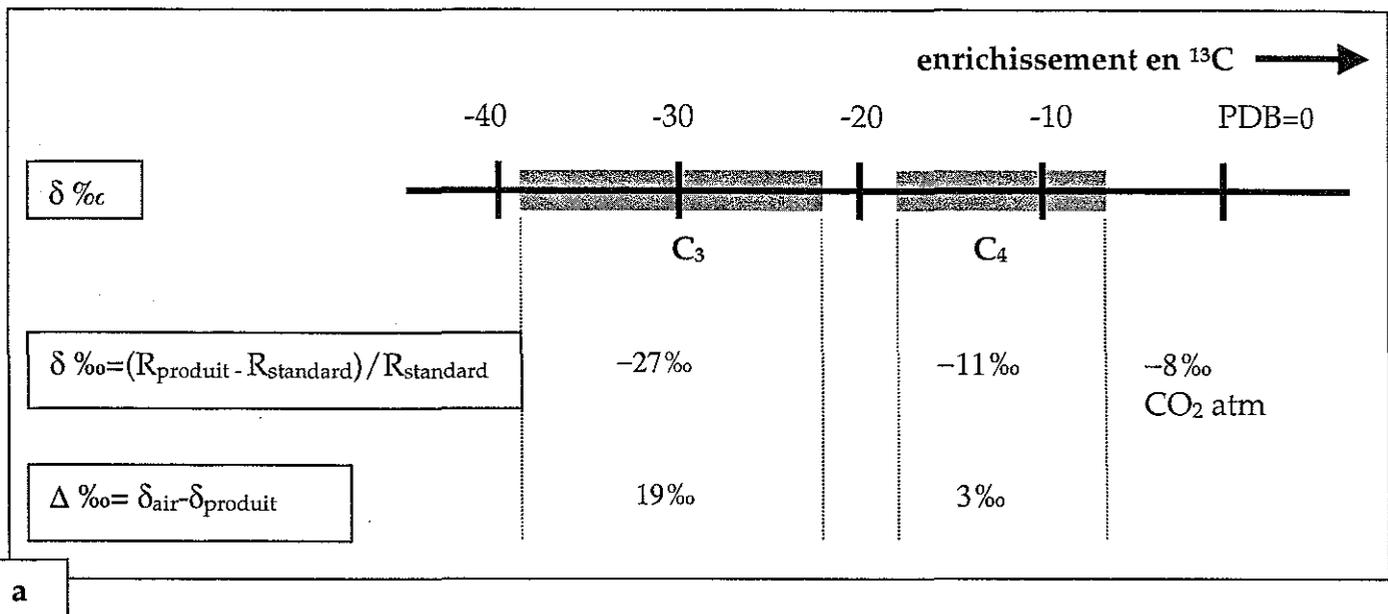


Figure 2-11: a) Caractéristiques isotopiques des végétaux C_3 et C_4 , (d'après Deléens et al, 1995), les végétaux de type C_3 forment un groupe homogène présentant des compositions isotopiques allant de -39‰ à -23‰ , la valeur moyenne étant -27‰ . Les végétaux de type C_4 forment un groupe distinct avec des valeurs allant de -19 à -9‰ .

b) Schéma illustrant les processus élémentaires déterminant la discrimination isotopique du carbone à l'échelle foliaire lors de l'assimilation du CO_2 . Avec C_i et C_a , concentrations en CO_2 dans l'atmosphère et dans la feuille avant la carboxylation; A et E , le taux d'assimilation et de transpiration; W_a et W_i , concentrations en vapeur d'eau dans l'atmosphère et dans les espaces intercellulaires; δ_a , δ_i et δ_p , compositions isotopiques en ^{13}C dans l'atmosphère, la feuille et les produits de la photosynthèse; a et b les coefficients de discrimination contre $^{13}\text{CO}_2$ lors de la diffusion de CO_2 et lors de la carboxylation. D'après Guehl et al (1995).

Les variations des conditions environnementales telles que la disponibilité en eau, la lumière, la salinité du milieu ou la pollution de l'air ont un impact sur l'assimilation nette et/ou g_s et donc sur l'efficacité d'utilisation de l'eau (Farquhar, 1989; Guehl, 1995). Ainsi une diminution de la disponibilité en eau du sol induit une augmentation de W_i (Farquhar et al. 1989, Picon et al. 1996).

4-5 Discrimination isotopique du carbone

- Définitions

Le carbone comme d'autres éléments possède plusieurs formes isotopiques stables (différents par leur nombre de neutrons). Pour 100 atomes de carbone, nous avons ainsi 98.89 atomes de ^{12}C et 1.11 de ^{13}C . La proportion respective des deux éléments est définie par le rapport isotopique R (moles de ^{12}C /moles de ^{13}C). La composition isotopique δ (‰) d'un composé est calculée par rapport à un standard prédéfini (Pee Dee Belemnite:PDB):

$$\delta = \frac{R_{\text{échantillon}} - R_{\text{standard}}}{R_{\text{standard}}} \quad (6)$$

Au cours de l'assimilation, le rapport isotopique entre la source de carbone (atmosphère) et le produit (composé carboné) est modifié. On appelle ce phénomène la discrimination isotopique (‰):

$$\Delta = \frac{\delta_{\text{air}} - \delta_{\text{échantillon}}}{1 + \delta_{\text{échantillon}}}$$

δ_{air} est proche de -8‰ mais elle peut varier selon la proximité des sources d'hydrocarbures. Chez les végétaux, les plantes C_3 se distinguent des plantes C_4 par leur composition isotopique en carbone. Les premières (figure 2-11a) ont des valeurs comprises entre -39 et -23‰ alors que les secondes sont entre -19 et -9‰ (valeurs citées par Deleens et al, 1993).

- Modèle de discrimination isotopique chez les plantes

Ce modèle a été proposé par Farquhar et al (1982). La discrimination isotopique lors de l'entrée du CO_2 dans la plante fait intervenir la diffusion du CO_2 à travers les stomates et ensuite la carboxylation dans les chloroplastes (figure 2-11b). La discrimination isotopique globale résultante à l'échelle de la feuille est:

$$\Delta = a + (b - a) \frac{C_i}{C_a} \quad (8)$$

où "a" est le coefficient de discrimination contre le $^{13}\text{CO}_2$ durant la diffusion à travers les stomates (4.4‰) et "b" le coefficient de discrimination lors de la carboxylation (27.0‰).

- Relation entre discrimination isotopique et W_i

La relation entre discrimination isotopique et W_i est possible grâce au rapport C_i/C_a . La combinaison des équations (5) et (8) nous permet d'obtenir une relation à l'échelle foliaire et instantanée de la forme:

$$W_i = \frac{A}{g_s} = \frac{C_a}{1.6} \times \frac{(b - \Delta)}{(b - a)} \quad (9)$$

Différentes échelles d'intégration du signal sont possibles:

- sur quelques jours en étudiant la composition isotopique en ^{13}C de l'amidon qui a un turn-over dans les feuilles de l'ordre de 2 à 3 jours (Brugnoli et al, 1988)
- sur un temps plus long allant jusqu'à la saison de végétation avec l'étude du ^{13}C des feuilles entières.

5 Notion de contrainte

5-1 Définition

Les plantes sont rarement dans des conditions idéales qui permettraient une croissance maximale. Elles sont soumises à des facteurs limitants (**contraintes**) liés au milieu, qui peuvent avoir différentes origines: hydriques (disponibilité en eau du sol et déficit de saturation de l'air) ou thermiques (températures basses ou élevées) par exemple et être combinées pendant l'été ce qui accentue l'effet individuel.

5-2 Notion d'adaptation, d'acclimatation et de réaction

L'adaptation est un ensemble de modifications héréditaires dans les structures ou les processus qui augmentent la probabilité pour les organismes de survivre dans un environnement donné. Beaucoup des modifications génétiques apportant ces caractères se sont produites au cours de l'évolution et sont le résultat de mutations aléatoires ou de recombinaisons. La plupart sont létales et disparaissent mais quelques-unes permettent à la plante de croître et de se reproduire plus facilement et sont préservées par la sélection naturelle. Ces modifications se produisent sur les plantes de milieux variés et ne sont préservées par la sélection que dans les climats à contraintes. Les plantes soumises à une contrainte hydrique ont accumulé des modifications à caractère adaptatif qui augmentent leur probabilité de

survie (Kramer, 1983). Ces modifications, dans le cadre d'une adaptation à la sécheresse, peuvent être de plusieurs types:

(i) morphologiques avec un rapport entre biomasse racinaire et aérienne élevé, une croissance aérienne lente et une dimension en hauteur souvent réduite.

(ii) anatomiques et conduisent à une économie de l'eau telles que des petites feuilles à cuticule épaisse, une inclinaison des feuilles pour diminuer la quantité de rayonnement intercepté.

(iii) physiologiques tels qu'un potentiel osmotique à pleine turgescence très faible qui permet d'augmenter la capacité de rétention de l'eau dans les tissus (Ducrey, 1988).

(iv) cellulaires et moléculaires par la modification de l'expression ou de la régulation de certains gènes (Bray, 1997).

L'acclimatation se réfère à des modifications phénotypiques produites par des variations de facteurs environnementaux. Une meilleure résistance à la contrainte hydrique chez les plants exposés régulièrement à des sécheresses modérées est une forme d'acclimatation, elle se matérialise entre autre par un ajustement osmotique, une diminution de la surface foliaire, des stomates plus sensibles, certains paramètres étant des effets incidents de la contrainte et d'autres permettent l'augmentation de la résistance.

La **réaction** à une contrainte est la réponse immédiate ou à court terme à une contrainte. Cette réponse est induite par la libération ou la synthèse des composés chimiques ou par un signal physique. La fermeture stomatique en réponse à l'augmentation de la concentration en acide abscissique dans la feuille est une réaction de la plante, permettant une régulation efficace des flux d'eau.

Les caractéristiques adaptatives des espèces influencent leurs réponses à la sécheresse. En effet nous ne pouvons pas traiter séparément l'adaptation d'une espèce à la contrainte hydrique et l'ensemble des réponses de la plante à cette contrainte. Lorsqu'une plante subit une contrainte hydrique, elle est soumise à une forte tension. Par analogie aux lois de la physique concernant un objet soumis à une tensions, les végétaux sous la contrainte vont se déformer. Il existe ainsi les végétaux qui échappent à la contrainte et ceux qui l'acceptent. Parmi ces derniers, certains évitent la déformation engendrée par la contrainte et d'autre la tolèrent. Sur la base de ces trois comportements, Levitt (1980) puis Ludlow (1989) ont définis des groupes d'espèces développant les stratégies d'échappement, d'évitement et de tolérance à la sécheresse:

- l'**échappement** (Ludlow, 1989) que l'on trouve chez des espèces de milieu désertique ou à courte saison des pluies. Dès que les conditions sont favorables, la germination, la croissance, le développement, la floraison et la production de graines se font rapidement avant que la disponibilité en eau soit limitée. Ces espèces évitent ensuite la période sèche sous une forme tolérante à une forte déshydratation telles que les graines ou d'autres formes de survie.

- la **tolérance**: les plantes tolérantes sont capables de survivre dans des conditions de faible disponibilité en eau dans le sol. La transpiration est maintenue jusqu'à des niveaux de potentiels hydriques faibles, l'eau dans les tissus est difficilement extractible du fait de leur capacité d'ajustement osmotique.

- l'**évitement**: chez ces espèces, beaucoup d'énergie est dépensée pour minimiser les pertes en eau notamment par la fermeture stomatique, la perte des feuilles, la réduction de la taille des feuilles. Un enracinement profond permet de maximiser le prélèvement d'eau. Le contrôle du dessèchement des tissus a un coût: la croissance est rapidement stoppée.

Une hypothèse forte est que ce sont les caractéristiques hydrauliques qui sont responsables du comportement évitant ou tolérant des espèces. Si cette hypothèse est vérifiée, l'étude de la vulnérabilité à la cavitation et des conductivités hydrauliques pourraient permettre de connaître le comportement des espèces pendant une contrainte hydrique.

6- Modèle intégré de fonctionnement à l'échelle de la plante entière

Les espèces évitantes ou tolérantes ont un fonctionnement écophysio-écologique différent et notamment, comme nous venons de le décrire, une régulation stomatique plus ou moins tardive au cours de la sécheresse. Nos hypothèses sont que (i) ces différences de comportement pendant une sécheresse sont dues à des caractéristiques hydrauliques différentes : vulnérabilité à la cavitation et conductivités hydrauliques et que (ii) il existe une coordination entre la régulation stomatique et le potentiel induisant une perte de conductivité dans le xylème. Par conséquent, les propriétés hydrauliques auraient un impact d'une part sur l'efficacité d'utilisation de l'eau avec une plus faible W_i pour les espèces tolérantes que pour les évitantes. Si la relation $W_i / \delta^{13}C$ établie en intra spécifique reste vraie en interspécifique, d'après notre hypothèse nous attendons une plus forte discrimination chez les espèces tolérantes. D'autre part les propriétés hydrauliques auront des impacts sur le fonctionnement en conditions non limitantes (les conductivités hydrauliques conditionnent le potentiel hydrique dans le xylème) et limitante en eau (la vulnérabilité à la cavitation fixe les limites du fonctionnement de la plante).

Une contrainte hydrique à long terme peut modifier le diamètre des éléments conducteurs du xylème et le rapport entre la surface transpirante et la surface conductrice ce qui va affecter les propriétés hydrauliques et certainement le fonctionnement global de la plante.

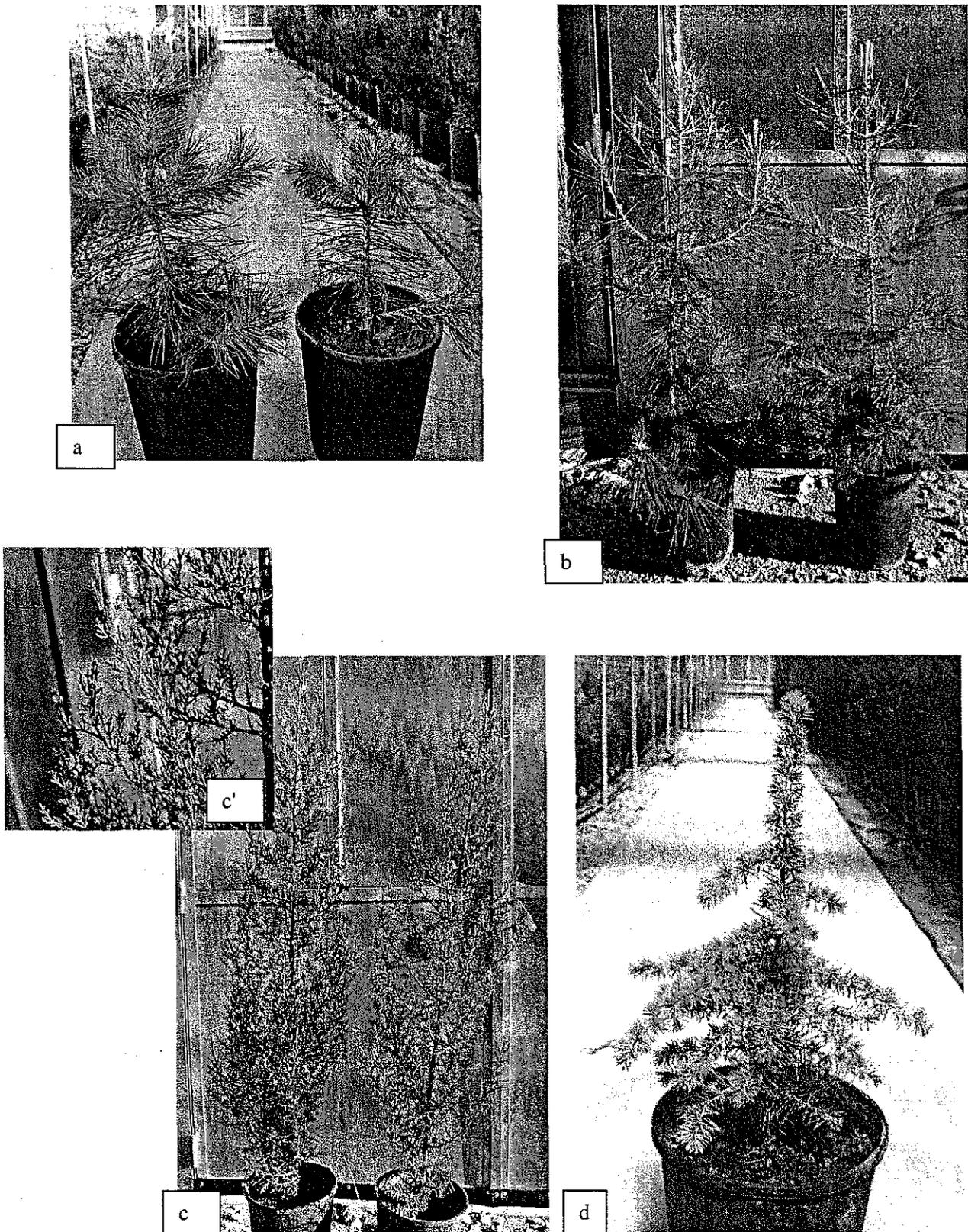


Figure 3-1: Plants de *Pinus nigra* (a), *Pinus halepensis* (b), *Cupressus sempervirens* (c) et *Cedrus atlantica* (d) âgés de 3 ans, cultivés en serre à Avignon. L'encart (c') est un détail des rameaux de *C. sempervirens*. Photographies prises en avril 2000.

3- Approches expérimentales

Nous allons dans cette partie présenter les espèces utilisées et décrire les principaux protocoles mis en œuvre. Cette partie reprend brièvement les Matériels Méthodes cités dans les annexes.

1-Matériel végétal

Les quatre espèces testées sont des conifères méditerranéens (fig. 4-1) et ont été choisies pour la large gamme de résistance à la sécheresse qu'elles représentent (stratégies d'évitement ou de tolérance) et également pour le bioclimat dans lequel elles existent naturellement (plaine ou moyenne montagne méditerranéenne).

1-1 *Cedrus atlantica* (Manetti) (provenance « Ventoux »)

Le cèdre de l'Atlas est un conifère de la famille des Pinacées qui peut atteindre 40 m de haut, sa longévité est de plusieurs siècles. Les branches sont composées de rameaux longs portant des aiguilles isolées et de rameaux courts terminés par un bouquet d'aiguilles nombreuses et serrées. Les aiguilles sont de section losangique et persistent 2 à 3 ans. Son enracinement est puissant et pivotant avec des racines traçantes lui permettant de prélever l'eau dans les sols où elle est difficilement accessible (Debazac, 1964). Le cèdre a une croissance monocyclique (une seule pousse par an) dite longue c'est à dire fortement modulée par les conditions climatiques.

Le cèdre de l'Atlas est originaire des montagnes du Rif et de l'Atlas marocain et algérien (Seigue, 1985). En France, cette espèce a été introduite en zone méditerranéenne à partir de 1860 comme essence de reboisement de basse et moyenne montagne, entre 600 et 1100m dans le Ventoux, le Lubéron et dans l'Aude. Il tolère la neige et les basses températures jusqu'à -20°C. Sa faible combustibilité, sa résistance à la sécheresse et sa tolérance aux sols calcaires font de lui une espèce de milieu méditerranéen ; mais sa capacité d'acclimatation à des conditions différentes de son aire d'origine lui permet de s'étendre à d'autres régions en France, notamment le Jura. Il occupe de manière prépondérante 20000 ha en France (source IFN, 2000) dont 70% sont dans la zone méditerranéenne.

Aussenac et Finkelstein (1983) ont étudié des plants de cèdre de l'Atlas âgés de 5 ans en milieu méditerranéen. Ils ont mis en évidence pendant une sécheresse des potentiels seuils limitant la croissance et la photosynthèse. La croissance en hauteur est ralentie dès que le potentiel hydrique de base descend à -1.3 MPa et stoppée à -2.1 MPa. L'assimilation nette chute rapidement dès l'installation de la sécheresse (-1 MPa) mais se poursuit jusqu'à des potentiels hydriques de base de l'ordre de -5 MPa. L'étude des caractéristiques hydrauliques de cette espèce a montré sa faible vulnérabilité à la cavitation, il perd seulement 50% de conductivité dans les tiges à -5 MPa (Cochard, 1992).

1-2 *Cupressus sempervirens* L. (provenance « Aude »)

Le cyprès vert est un conifère de la famille des Cupressacées qui peut atteindre une hauteur maximale de 25 mètres. On le trouve sous deux formes d'aspect très différent : la forme *horizontalis* à branches étalées et d'aspect conique et la forme *fastigiata* à branches dressées ou très courtes et d'aspect en pinceau. Les feuilles sont des écailles opposées, vertes, aplaties, appliquées sur le rameau. Elles sont persistantes et brunes sur les rameaux de plus de 2 ans. Le système racinaire est très développé avec des racines secondaires horizontales et superficielles qui ancrent l'arbre dans le sol alors que la racine principale avorte tôt (Seigue, 1985). Le cyprès vit très vieux et sa croissance en longueur est rapide. Dans de bonnes conditions, il n'y a pas d'arrêt de croissance (croissance continue).

Cupressus sempervirens est originaire de l'Est de la Méditerranée (Proche et Moyen Orient). Il aurait été introduit à Chypre et en Crète par les Phéniciens puis dans l'Ouest de la Méditerranée (France, Espagne, Italie). Cette espèce est typique des paysages du pourtour méditerranéen et surtout du paysage rural provençal où il est utilisé comme haie coupe vent et en ornement. Il n'occupe que 500 ha en plantation et boisement (source IFN, 2000). En France, on le trouve entre le niveau de la mer et 900 mètres. Il est peu exigeant quant à la nature du sol : il tolère aussi bien des sols calcaires et acides s'ils sont profonds. Il est utilisé pour le reboisement des terrains secs car il est très résistant à la sécheresse (250 mm d'eau par an) et peu sensible aux incendies. Son port étalé élimine les sous bois et fait de lui un excellent pare-feu. Depuis une quinzaine d'années, la culture du cyprès est rendue difficile par des attaques d'un champignon, le chancre cortical (*Seiridium cardinale*). Il provoque d'abord un brunissement des rameaux, des branches ou de la cime des arbres. Le chancre évolue depuis une blessure de l'écorce et ceinture le tronc entraînant le dessèchement des branches puis la mort de l'arbre (Tourret, 1999).

Le cyprès vert est bien adapté à la région méditerranéenne de par sa grande tolérance à la sécheresse. Des études sur différentes espèces de cyprès ont montré que la conductance stomatique diminuait à partir de -2 MPa, qu'elle est proche de zéro au potentiel provoquant l'induction de

l'embolie, c'est à dire -5 MPa (Rapport final du projet Cypress, 1997), et que la perte de conductivité provoquée par pressurisation du xylème est de 50% à des potentiels proches de -6 MPa (Bock, 1997). Dans ces études la diminution de la pression de turgescence, avec la chute du potentiel hydrique foliaire, était limitée par l'importante élasticité des parois cellulaires.

1-3 *Pinus halepensis* Mill. (provenance « Bouches du Rhône »)

Le pin d'Alep est un conifère de la famille des Pinacées qui peut atteindre 30 mètres en 150 ans. Son tronc est sinueux et ses aiguilles de 6 à 10 cm de longueur sont regroupées par deux sur un brachyblaste, elles peuvent persister jusqu'à 3 ans. L'enracinement est puissant et efficace, il pénètre dans les fissures rocheuses et s'adapte au terrain. La croissance du pin d'Alep est polycyclique (jusqu'à 5 pousses dans l'année dans de bonnes conditions).

Pinus halepensis est originaire de l'Ouest de la Méditerranée (France, Italie et Espagne). Il ne faut pas le confondre avec son homologue de l'Est méditerranéen : *Pinus brutia* Ten. Dans le Maghreb, on le retrouve sur la plupart des versants méditerranéens des massifs montagneux. En France des données polliniques montrent que le pin d'Alep est présent depuis environ 5 millions d'années dans les Bouches du Rhône (Triat-Laval, 1979). Sa fructification abondante, la bonne dissémination de ses graines et sa capacité à pousser sur des sols pauvres lui confèrent un profil de colonisateur des espaces laissés vides à la suite d'un incendie ou d'une exploitation forestière et surtout des zones abandonnées par l'agriculture (Seigue, 1965). Aujourd'hui il occupe une superficie totale d'environ 250000 hectares dont plus de 75% sont en zone méditerranéenne (Source IFN, 2000). Dans toute la zone méditerranéenne mais surtout à l'est de la vallée du Rhône, il est assez fréquent en basse altitude, jusqu'à 800m, car il craint le gel hivernal. On trouve le pin d'Alep sur des sols marneux à calcaro-marneux, des sols profonds et facilement accessibles pour son système racinaire. Il est cependant capable de pousser sur un sol calcaire compact notamment en Provence. Cette espèce supporte très bien la sécheresse et est exigeante en chaleur et en lumière, sa sensibilité au gel l'empêche d'envahir des zones plus au nord de la Provence. Le pin d'Alep secrète beaucoup de résine, ce qui le rend très sensible aux incendies, cependant il a une grande capacité de survie après le passage du feu (Ducrey et al, 1996).

De nombreuses études montrent que *P. halepensis* se comporte typiquement comme une espèce méditerranéenne en profitant des périodes de bonne disponibilité en eau pour être physiologiquement très actif. Il réduit drastiquement sa transpiration lorsque l'eau est plus difficilement extractible (Schiller, 2000). Ceci est rendu possible par une hypersensibilité des stomates à la contrainte hydrique; ils régulent le flux d'eau dès les potentiels de -0.8 MPa, contrôlant ainsi efficacement les pertes d'eau (Melzack et al, 1985). Il est considéré comme le plus résistant à la sécheresse du genre *Pinus*: il est capable de supporter des potentiels hydriques foliaires inférieurs à -3.7 MPa pendant une sécheresse

(Aussenac et Valette, 1982) alors que *P. pinaster* ou *P. nigra* ont des potentiels minima compris entre -1 et -2 MPa. Plusieurs facteurs peuvent participer à cette tolérance, le premier est sa capacité d'ajustement osmotique (Calamassi et al, 2001), le second, est sa faible vulnérabilité à la cavitation (Borghetti et al, 1998).

1-4 *Pinus nigra* Arn. ssp. *nigricans* Host. var. *austriaca*

Le pin noir d'Autriche est une espèce de conifère de la famille des Pinacées. Il peut atteindre 40 mètres et ses aiguilles, longues de 8 à 14 cm, sont groupées par 2 sur un brachyblaste. Elles peuvent persister jusqu'à 5 ans. L'enracinement est solide et pénétrant même sur des roches superficielles (Debazac, 1964).

L'aire naturelle du pin noir se situe en Autriche et surtout en Yougoslavie (Alpes Dinariques) en basse montagne (250 à 800m) sous un climat chaud et sec en été, froid en hiver. En France, sa résistance au calcaire, à la sécheresse et au froid en a fait une excellente espèce de reboisement en conditions difficiles : il a été utilisé en moyenne montagne notamment sur les plateaux calcaires de Lorraine, des Causses et de Bourgogne et en moyenne montagne méridionale dans les Alpes du Sud (Côté nord du Ventoux, Aude) et les Cévennes où il améliore les sols forestiers. L'espèce *P. nigra* occupe en France presque 20000 hectares dont 30% sont en zone méditerranéenne. La croissance de *P. nigra* est monocyclique courte, la pousse de l'année est fortement conditionnée par la phase d'initiation des entrenœuds, l'année précédente (Guyon, 1986).

Des études sur le pin noir montrent qu'en réponse à une sécheresse, il développe une stratégie d'évitement ; en effet dès le début de la contrainte hydrique, il ferme ses stomates empêchant toute perte d'eau mais en même temps limitant l'entrée de CO₂ pour l'assimilation. Le potentiel hydrique minimum mesuré chez le pin noir est de -2 MPa (Aussenac et Granier, 1978), comparable à celui mesuré par Aussenac et Valette (1982).

1-5 Obtention des plants

Des graines des 4 espèces ont été collectées dans des populations naturelles en région méditerranéenne française. Elles ont été semées en 1998 dans des pots « WM » de 0.4 litres à la pépinière des Milles (près d'Aix en Provence). Ils ont été repotés à la fin de mars 1999 dans des pots de 7 litres contenant un mélange sable/ tourbe/ terre (1/2/3 ; v/v/v) et placés dans une serre climatisée à Avignon (France). Cette série de plants a été utilisée pour les expérimentations menées en 1999 au cours de leur deuxième année de végétation et en 2000 au cours de leur troisième année de végétation.

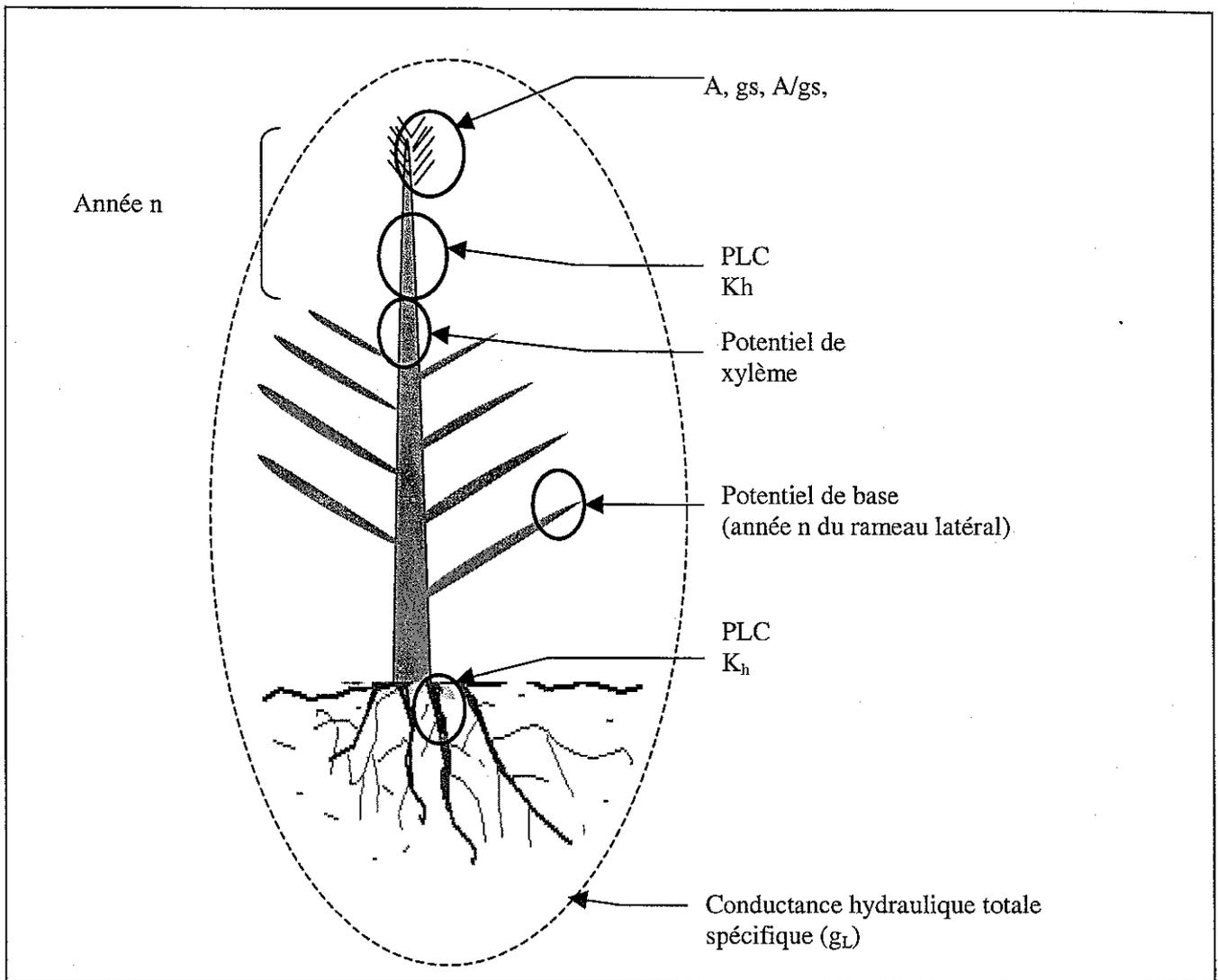


Figure 3-2 : Schéma représentant pour chaque paramètre mesuré la partie du plant concernée. Les potentiels hydrique foliaire et de base ont été mesuré sur des rameaux de l'année en cours (année n) en position latérale. Abréviations: A: assimilation nette de CO_2 , g_s conductance stomatique pour la vapeur d'eau, PLC courbe de vulnérabilité, K_h conductivité hydrauliques.

Les plants ont été cultivés sous 85% du rayonnement solaire. Les températures minimales en hiver étaient maintenues par chauffage au-dessus de 2 °C. En été la température maximale était maintenue entre 25 et 32°C par ventilation et cooling. L'arrosage se faisait au moyen d'irrigouttes (2 par pot) avec un déclenchement de l'arrosage manuel en été et automatique en hiver.

- En 1999, les plants ont reçu une quantité d'eau considérée comme optimale représentant 500 ml une à deux fois par semaine selon les conditions climatiques. La fertilisation (Fertiligène NPK 9/9/9, 90 g/l pour chaque élément) était apportée sous forme liquide à l'eau d'arrosage une fois par semaine avec une dilution de 1/100.

- A partir de mars 2000, les plants des 4 espèces sont maintenus en serre mais soumis à deux traitements hydriques. Une partie des plants a reçu une alimentation optimale en eau dans les mêmes conditions qu'en 1999, le potentiel hydrique de base est maintenu au dessus de -1 MPa. Ce traitement est appelé « T » dans la suite du texte. Le second traitement consiste en un pré-conditionnement à une sécheresse modérée du sol (le potentiel de base est maintenu entre -1.5 et -2 MPa). Pour cela les plants ne reçoivent que 1/2 à 1/3 de la quantité d'eau apportée au premier traitement. La quantité de fertilisant dans les deux traitements est la même. Ce traitement hydrique est appliqué jusqu'en octobre 2000, il est appelé « SM ».

Les différents modes de croissance de nos espèces, monocyclique chez *P. nigra* et *C. atlantica*, polycyclique chez *P. halepensis* et continue chez *C. sempervirens* sont à l'origine de différences de taille de nos plants. La consommation en eau était donc très variable et le contrôle de l'irrigation d'autant plus difficile. Le traitement hydrique SM n'a donc pas pu être équivalent pour chaque espèce. *C. sempervirens* et *P. halepensis* avaient une fréquence d'arrosage plus élevée, les cycles de sécheresse ont donc été plus nombreux et plus rapides que pour *P. nigra* et *C. atlantica* tout en restant dans la même gamme de potentiels hydriques du sol.

En 2000, *C. atlantica* a eu une croissance faible voir nulle, des feuilles jaunissantes et une capacité photosynthétique faible et a dû être écarté de l'étude. Le cèdre est en effet difficile à cultiver en serre, il ne supporte pas l'excès d'eau et notre substrat sable/ tourbe/ terre n'était peut être pas assez drainant pour cette espèce mais convenait très bien aux 3 autres. De précédents travaux sur cette espèce (notamment la thèse de Ladjal, 2001) nous permettront malgré tout de l'intégrer à nos discussions.

Une deuxième série de plants a été semée en 1999, repotée en 2000 et maintenue dans les mêmes conditions que la première série de plants pour des expérimentations faites en 2001. Les plants étaient dans leur 3^{ème} année de végétation lors des expérimentations.

2- Approches expérimentales

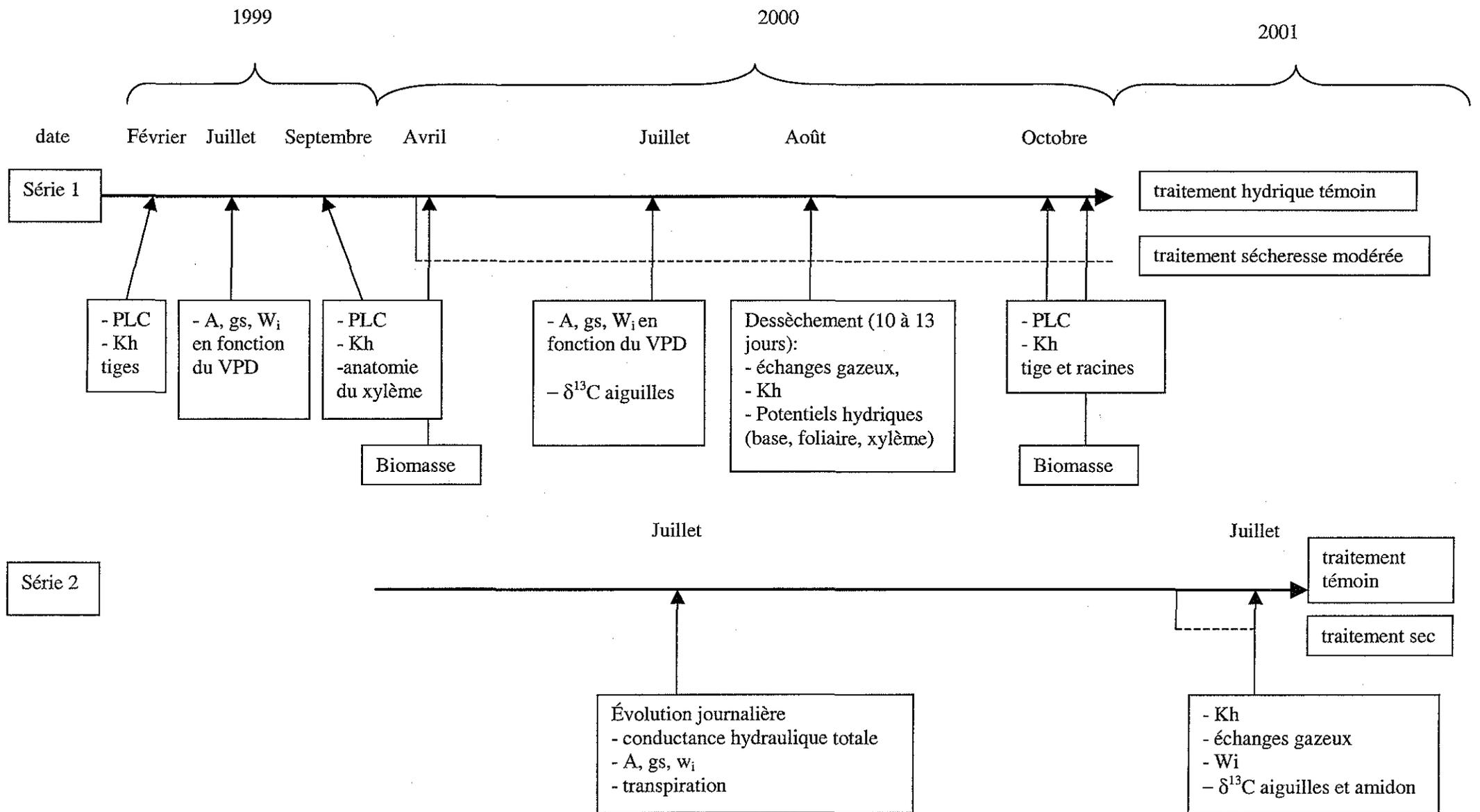


Figure 3-3: Schéma récapitulatif des différentes expérimentations et des données disponibles. Les plants de la série 1 sont les plants qui avaient 1 an en 1999, ceux de la série 2 avaient 1 an en 2000. PLC: courbes de vulnérabilité, K_h conductivités hydrauliques, A: assimilation nette de CO_2 , g_s : conductance stomatique pour la vapeur d'eau, W_i : efficacité intrinsèque d'utilisation de l'eau.

La première partie de notre travail a consisté en la caractérisation hydraulique des espèces à différents niveaux: nous avons ainsi déterminé la vulnérabilité à la cavitation et les conductivités hydrauliques de chacune des espèces. Notre hypothèse étant que les caractéristiques des espèces influent sur le fonctionnement stomatique en conditions optimales comme pendant une contrainte hydrique drastique nous avons :

- corréler la variation de la conductance stomatique à une variation de conductance hydraulique totale des plants en conditions d'alimentation optimales ou limitantes. L'efficacité d'utilisation de l'eau étant dépendante de g_s , nous avons recherché les conséquences d'une variation de g_L sur W_i .

- suivi, pendant un dessèchement, de la conductance stomatique afin de la relier à la courbe de perte de vulnérabilité.

L'installation de la sécheresse est graduelle en milieu méditerranéen. Nous avons testé les modifications apportées au fonctionnement de la plante par une acclimatation à une sécheresse modérée de plusieurs mois à différents niveaux (caractéristiques hydrauliques, réponse à une contrainte hydrique atmosphérique ou édaphique, assimilation nette...).

Une dernière partie a été consacrée à la comparaison de la thermotolérance et de l'acclimatation aux températures élevées chez les 4 espèces. Vu l'importance prise par la réaction à une contrainte hydrique dans ce travail, la réaction aux températures élevées a été moins étudiée.

3-Protocoles expérimentaux

Les différentes mesures effectuées pendant les trois saisons de végétation sont résumées dans la figure 3-2. Les parties des plants concernées par les différentes mesures sont schématisées figure 3-3.

3-1 Caractérisation hydraulique des espèces

En avril et en septembre 1999, la caractérisation hydraulique des espèces a été réalisée sur des plants dans leur deuxième année de végétation. Pour cela la conductivité hydraulique et la vulnérabilité à la cavitation des tiges ont été mesurées sur des plants bien alimentés en eau. La tige étudiée en avril 1999 a été produite au cours de la saison de végétation 1998. Elle est donc composée de bois de printemps et d'été. Quant à la tige étudiée en septembre, elle a été produite pendant la saison de végétation 1999 et seul le bois de printemps est présent, le bois d'été étant peu visible sur les rameaux.

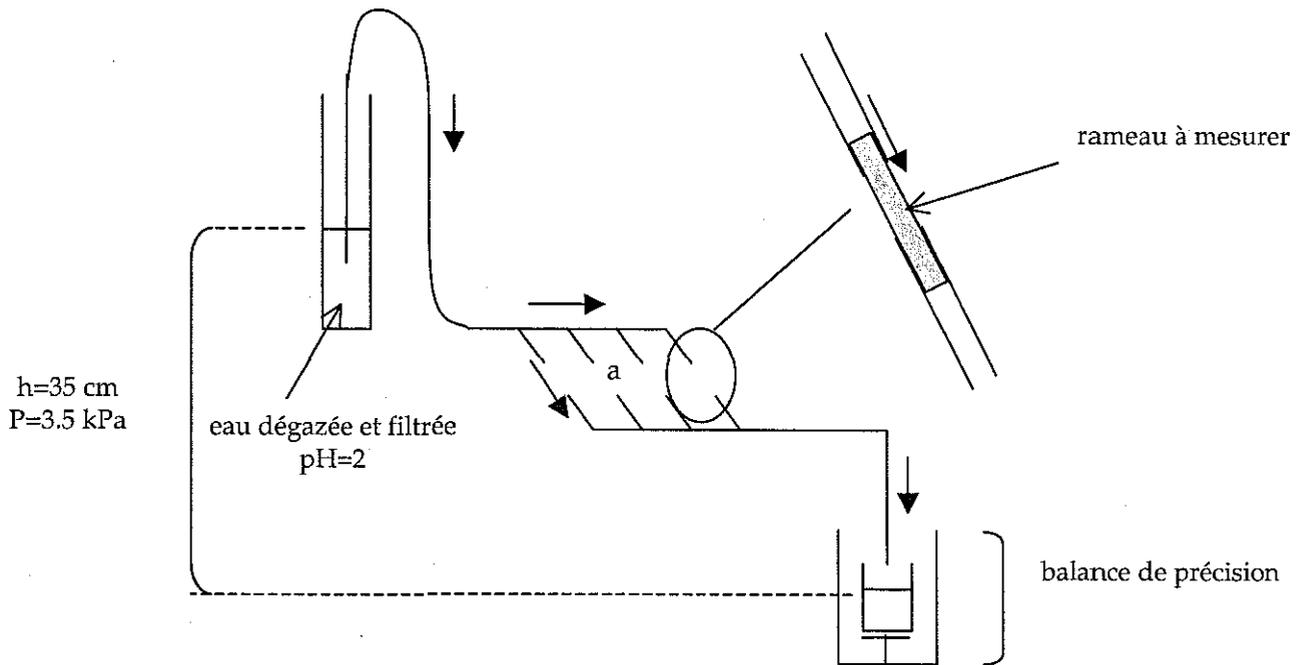


Figure 3-4: Schéma de fonctionnement d'un conductimètre:

Les échantillons de rameau à mesurer sont placés dans des rampes en plastique (a), elles-mêmes placées dans un bac rempli d'eau pour que les échantillons soient immergés pendant la mesure. Chaque échantillon est raccordé en amont à une colonne d'eau placée en hauteur, servant de réservoir, et en aval à une balance de précision. On connaît ainsi la pression hydrostatique P à laquelle est soumis le rameau (le différentiel de pression est établi entre le ménisque du réservoir et le niveau de l'eau du réservoir placé sur la balance) et on peut mesurer le flux d'eau F à travers le rameau par unité de temps par pesée. On peut ainsi calculer la conductance hydraulique: $K=F/P$.

Les flèches indiquent le sens de circulation de l'eau dans les tubulures..

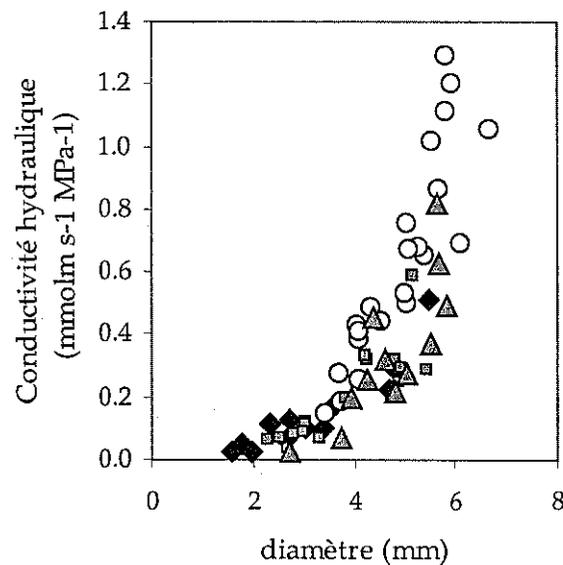


Figure 3-5:: Relation entre le diamètre de section et la conductivité hydraulique des rameaux de *C. sempervirens* (cercles), *C. atlantica* (losange), *P. halepensis* (carré) et *P. nigra* (triangle). La relation exponentielle nous permet de considérer que l'embolie native est faible.

311 Mesure de la conductivité hydraulique des tiges

La conductivité a été mesurée par conductimétrie (Sperry et al, 1988) en estimant le flux d'eau, à travers un segment de rameau, provoqué par une différence de pression (figure 3-4). Ce protocole est décrit en détail dans l'annexe I. Des plants à capacité au champ ont été coupés au niveau du collet. La tige de l'année a été prélevée sous l'eau. Des segments de tige de 2 cm de long ont été coupés et écorcés sous l'eau. Les segments ont été perfusés avec une eau à pH acide (HCl, pH=2) et pour laquelle les particules supérieures à 0.1 μm ont été filtrées. Cette eau est injectée à une pression P de 3.5 kPa. Le flux F qui traverse l'échantillon a été mesuré à l'aide d'une balance analytique (Mettler, 10⁻⁶ g). La conductance hydraulique K est obtenue par le rapport:

$$K = \frac{F}{P}$$

La surface de la section et la surface projetée des aiguilles directement alimentées en sève par cette portion nous ont permis de calculer respectivement la conductivité hydraulique spécifique (K_s) et spécifique foliaire (K_f) de chacun des segments.

312 Vulnérabilité à la cavitation du xylème par pressurisation

La vulnérabilité à la cavitation est estimée par le suivi de la perte de conductivité en fonction du potentiel hydrique dans le xylème. Plusieurs méthodes nous étaient proposées pour obtenir ces courbes.

- La perte de conductivité due à un **dessèchement total** des plants ou d'un rameau : la conductivité hydraulique de rameaux est suivie pendant le dessèchement jusqu'à une conductivité quasi nulle. Cette méthode donne des résultats proches de la pressurisation (Sperry et Tyree, 1990) mais est très longue, et destructive (des rameaux sont prélevés à intervalles réguliers de temps au cours du dessèchement). La mesure de conductivité sur des rameaux différents induit une variabilité intraspécifique qui rend approximative la détermination des paramètres décrivant les courbes de vulnérabilité. Nous avons choisi pour ces raisons de ne pas l'utiliser.

- **La centrifugation** (Holbrook, 1995, Alder et al, 1997) est récente. C'est une méthode efficace qui permet l'induction d'une embolie à des tensions connues. La tension dans le xylème d'un rameau est imposée par la force centrifuge et permet d'établir après mesure de la conductivité du rameau, des courbes de vulnérabilité à partir d'un nombre d'échantillons restreint. Nous avons testé cette méthode sur des racines et des tiges de *P. nigra*. Les résultats nous ont permis de valider ceux obtenus par pressurisation. Cependant la tension maximale applicable est définie par le diamètre du rotor de la centrifugeuse et la vitesse maximale de rotation. Dans notre cas, la tension maximale induite par notre centrifugeuse (Sigma, Bioblock) était de -5 MPa et à ces valeurs, *C. sempervirens* et *P. halepensis*

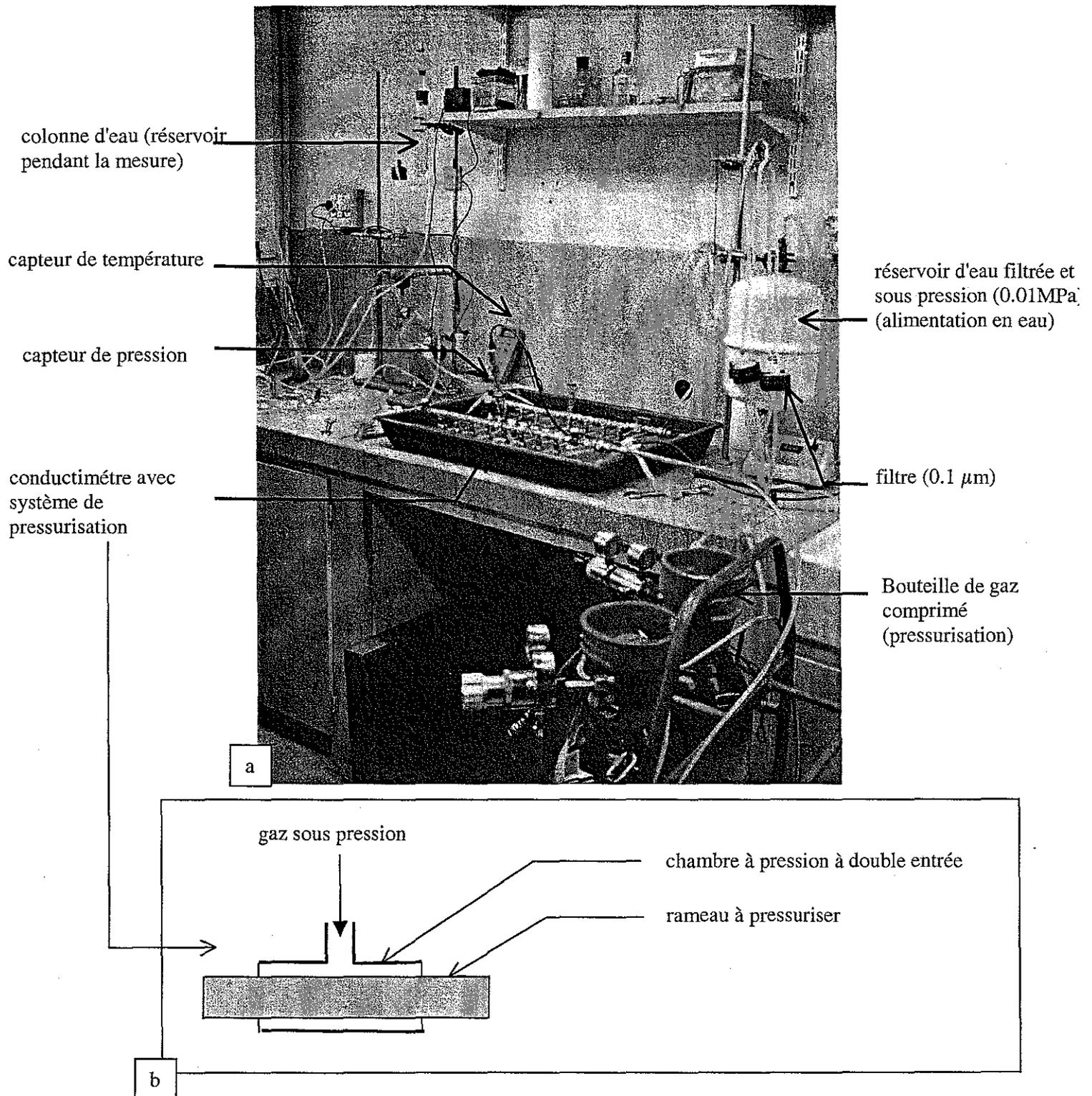


Figure 3-6 : Photo du dispositif de pressurisation et de mesure de perte de conductivité (a):

Le rameau à pressuriser est placé dans une chambre à pression à double entrée (b), les extrémités dépassant de part et d'autre pour permettre une mesure de conductivité sans démontage. Du gaz sous pression est injecté par la partie supérieure de la chambre pendant 10 minutes suivies par 30 minutes de relaxation à pression atmosphérique. Le rameau est ensuite branché au conductimètre et mesuré à 3.5 kPa. Pour éviter les fuites d'eau par les cicatrices foliaires, les mesures se font avec une pression dans la chambre de 0.05 MPa. Les pressions appliquées vont de 0.8 à 80MPa par intervalles réguliers de 0.8MPa.

n'ont pas perdu toute la conductivité de leur xylème. Nous ne pouvions donc pas utiliser cette méthode en routine sur nos espèces.

- **La technique de pressurisation** décrite par Sperry et Saliendra (1994) a été utilisée pour créer une embolie dans le xylème. Des segments de tige d'environ 10 cm prélevés selon la méthode décrite pour la conductivité sont placés dans une chambre à pression à double entrée (figure 3-6). Les extrémités de la tige dépassent de cette chambre pour permettre la mesure directe de la conductivité. L'entrée d'air dans les rameaux se fait par les cicatrices foliaires, pour éviter les "fuites" d'air, le flux d'eau a été mesuré à une pression d'air de 0.05MPa.

En début d'expérimentation, les tiges doivent être dépourvues d'embolie ou à un niveau minimum. Chez les conifères que nous étudions, lorsqu'une trachéide est embolisée, les tores sont plaqués sur la membrane des punctuations pour limiter la propagation de l'embolie. La circulation de l'eau n'a pu être rétablie même sous l'effet d'un flush d'eau à 0.06 MPa. Nous avons considéré dans notre cas que l'embolie native était négligeable car les plants ont été bien alimentés en eau pendant la période de végétation. Nous avons vérifié ce faible taux d'embolie par coloration des éléments fonctionnels (safranine). Pour les plants issus du traitement SM, les conductivités hydrauliques étaient peu ou pas différentes de celles du traitement témoin, nous avons également négligé l'embolie résiduelle. La conductivité mesurée avant induction de l'embolie était, dans notre cas, la conductivité hydraulique maximale (K_{max}).

Il existe une relation exponentielle entre le diamètre de la section et la conductivité hydraulique du rameau (fig. 3-5) (Cochard, 1992) lié à la loi de Hagen Poiseuille:

$$K_h = \frac{\pi \rho}{128 \eta} \times d^4$$

où η est la viscosité du liquide, ρ sa densité et d le diamètre de la section.

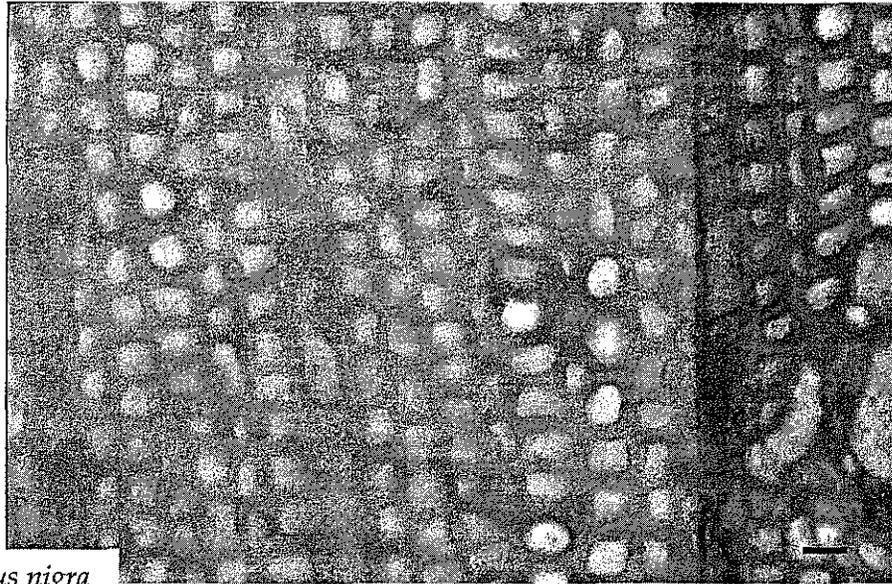
La cavitation est provoquée dans les tiges par des paliers de pressurisation de 10 minutes allant de 0.8 à 8 MPa par intervalles réguliers de 0.8 MPa. Chaque pressurisation est suivie d'une période de relaxation de 30 minutes à pression atmosphérique avant la mesure de conductivité. Le pourcentage de perte de conductivité (PLC; %) est estimé par la relation:

$$PLC = 100 \times \frac{(K_{max} - K_h)}{K_{max}}$$

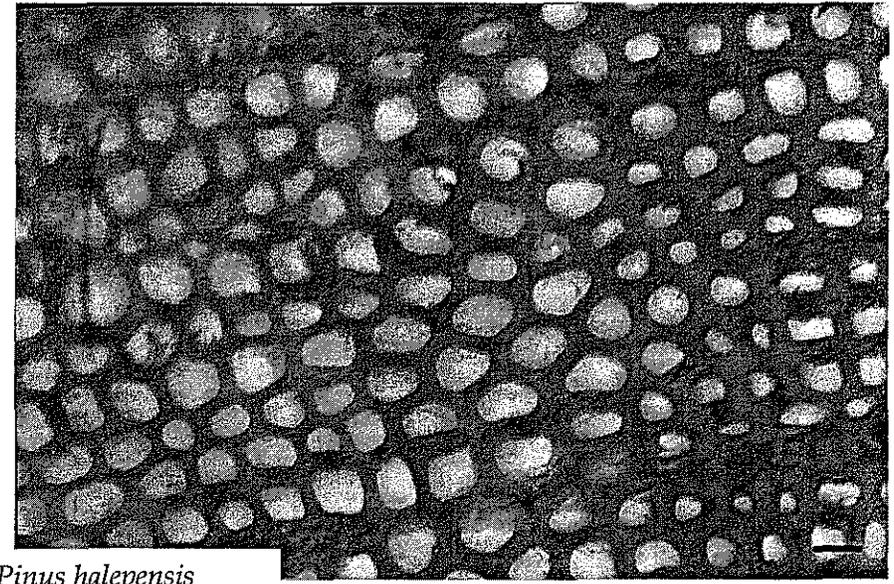
Les courbes de formes sigmoïdes peuvent être décrites par trois paramètres (figure 2-8):

- Ψ_{PLC10} : potentiel pour lequel la perte de conductivité est de 10%, il est considéré comme le seuil de cavitation.

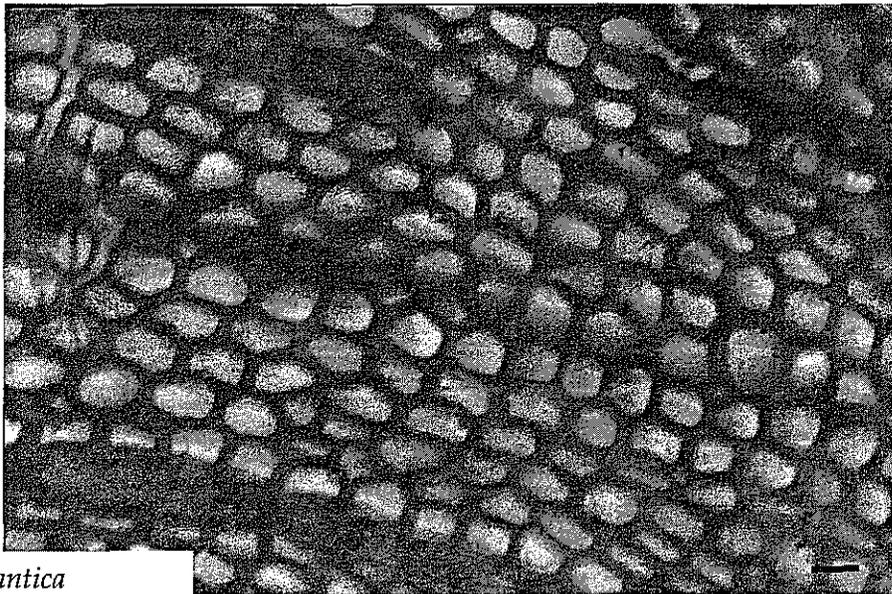
- Ψ_{PLC50} : potentiel pour lequel la conductivité a diminué de 50%.



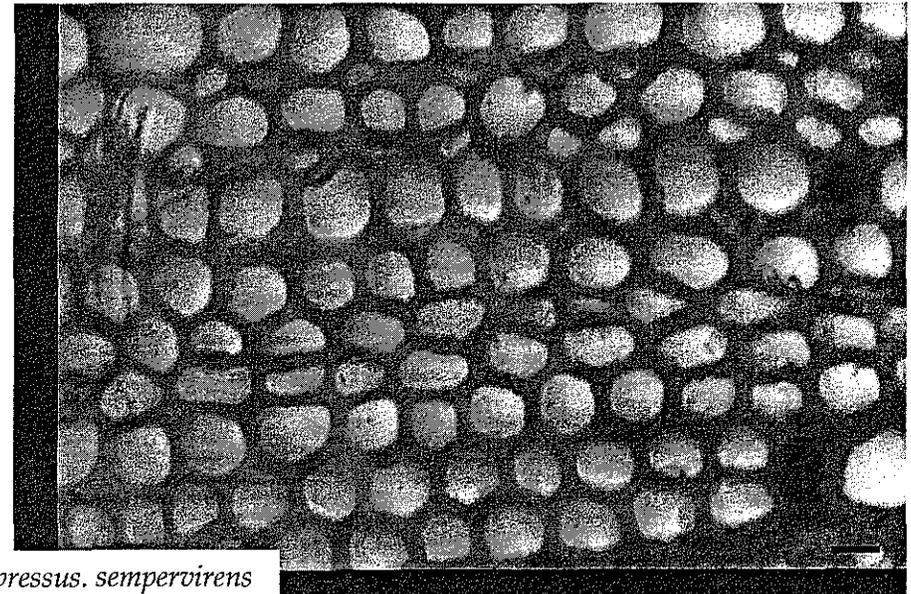
Pinus nigra



Pinus halepensis



C. atlantica



Cupressus. sempervirens

Figure 3-7 : Coupes transversales de tiges observées au microscope optique, coloration: safranine, grossissement: X100, la longueur du trait représente 10 μ m

- a : pente de la partie linéaire de la courbe sigmoïde.

Les mesures de perte de conductivité sur les racines ont été effectuées selon le même protocole que les tiges. Des grosses racines (de 1 à 4 mm de diamètre et environ 8 cm de long) ont été extraites du système racinaire dans l'eau, puis écorcées et recoupées, avant d'être placées dans la chambre à pression à double entrée. De la même manière que pour les tiges, on ne peut pas éliminer, en injectant de l'eau sous pression, l'embolie native qui existe dans les racines au début de l'expérimentation. Nous avons donc considéré l'embolie résiduelle négligeable et K_{max} est la conductivité hydraulique avant préssurisation.

3-2 Anatomie du xylème

Afin d'expliquer les différences de conductivités hydrauliques entre espèces, la taille des trachéides a été mesurée en septembre 2000 sur les tiges dont les caractéristiques hydrauliques ont été définies (figure 3-7):

- la longueur : les trachéides ont été individualisées par macération dans une solution de Jeffrey (10% acide chromique, 10% acide nitrique, eau) qui dénature la lignine. La longueur a été déterminée par observation au microscope optique.

- le diamètre interne des trachéides: des coupes transversales de tige, colorées à la safranine ont été observées au microscope et photographiées. Après digitalisation, l'analyse des images (NIH-Image Software, Scion Corp) a permis de déterminer le diamètre interne du lumen des trachéides.

L'estimation de la longueur des trachéides n'a pu être faite directement sur des coupes longitudinales des tiges car selon le plan de coupe choisi, elles ne donnent pas toujours accès à la longueur totale des trachéides.

3-3 Sensibilité des espèces aux contraintes hydriques

331 Dessèchement du sol

Afin de suivre la conductance stomatique pendant une contrainte hydrique, l'arrosage de plants placés en conditions contrôlées a été arrêté en août 2000. Nous avons suivi chaque jour les échanges gazeux, les potentiels hydriques du sol, des feuilles et du xylème et la conductivité hydraulique des rameaux latéraux pendant le dessèchement progressif du sol. Lorsque l'assimilation nette et les échanges gazeux étaient nuls ou proches de 0 pendant 2 jours, les plants étaient réhydratés et suivis pendant 2 jours pour préciser leur capacité de récupération après une sécheresse drastique. Les plants en traitement hydrique "SM" ont été inclus dans cette expérimentation pour estimer les effets d'une acclimatation à une sécheresse modérée pendant une sécheresse drastique. Pour cela, le traitement

"SM" a été stoppé une semaine avant le début de l'expérimentation et les plants correctement alimentés en eau pendant cette période.

Le suivi du dessèchement est facilité en conditions contrôlées car les conditions "climatiques" sont stables et les variations observées ne peuvent avoir pour origine que la diminution de la disponibilité en eau.

En septembre 2000, les caractéristiques hydrauliques (courbes de vulnérabilité dans les tiges et les racines et conductivités hydrauliques) sur les plants issus des traitements hydriques "T" et "SM" ont permis de relier la fermeture des stomates et la perte de conductivité au potentiel de xylème.

L'embolie a lieu dans le xylème. La conductance stomatique a donc été suivi en fonction du potentiel hydrique dans le xylème pendant le dessèchement du sol. Cette mesure est obtenue en plaçant un rameau *in situ* dans des conditions où il ne transpire pas. Nous avons choisi d'isoler les rameaux en les enfermant dans un papier aluminium. Les résultats montrent de faibles différences entre le potentiel hydrique foliaire et de xylème. Il est donc possible que les rameaux enfermés aient transpiré. Plusieurs hypothèses peuvent être émises notamment l'échauffement du plastique à la lumière et donc de l'air environnant le rameau. Il est important de noter que lorsque les stomates sont fermés, la transpiration est nulle et que les potentiels hydriques des feuilles et du xylème sont proches.

332 Sécheresse atmosphérique

La sensibilité des stomates à une sécheresse atmosphérique a été étudiée en conditions contrôlées en juillet 2000, sur des plants à capacité au champ de *P. nigra*, *P. halepensis*, et *C. sempervirens* des deux traitements hydriques pour tester l'effet de l'acclimatation à la disponibilité en eau. Pour faire varier la pression de vapeur dans la chambre climatisée, seule l'humidité relative dans la chambre est modifiée, à température constante (25°C) et sous un éclaircissement proche de $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Une variation de l'humidité relative dans la chambre de 90 à 30% par paliers de 20% induit de cette manière des déficits de pression de vapeur de 12.5, 18.0, 22.5 et 26.0 hPa. A chaque palier, les échanges gazeux ont été mesurés après stabilisation de la réponse des stomates au changement d'humidité (20 minutes).

333 Mesure des échanges gazeux

Les échanges gazeux ont été mesurés avec un système fermé portable LI-6200 (LI-Cor Inc., Lincoln, NE) permettant une mesure *in situ* instantanée (45 secondes). Ce système permet de déterminer l'assimilation nette de CO_2 (A ; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la conductance stomatique pour la vapeur d'eau (g_s ; $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) et la concentration interne en CO_2 (C_i ; mol l^{-1}) à partir de la consommation de CO_2 , du déficit de pression de vapeur et des équations de Von Caemmerer et Farquhar (1981). Ces

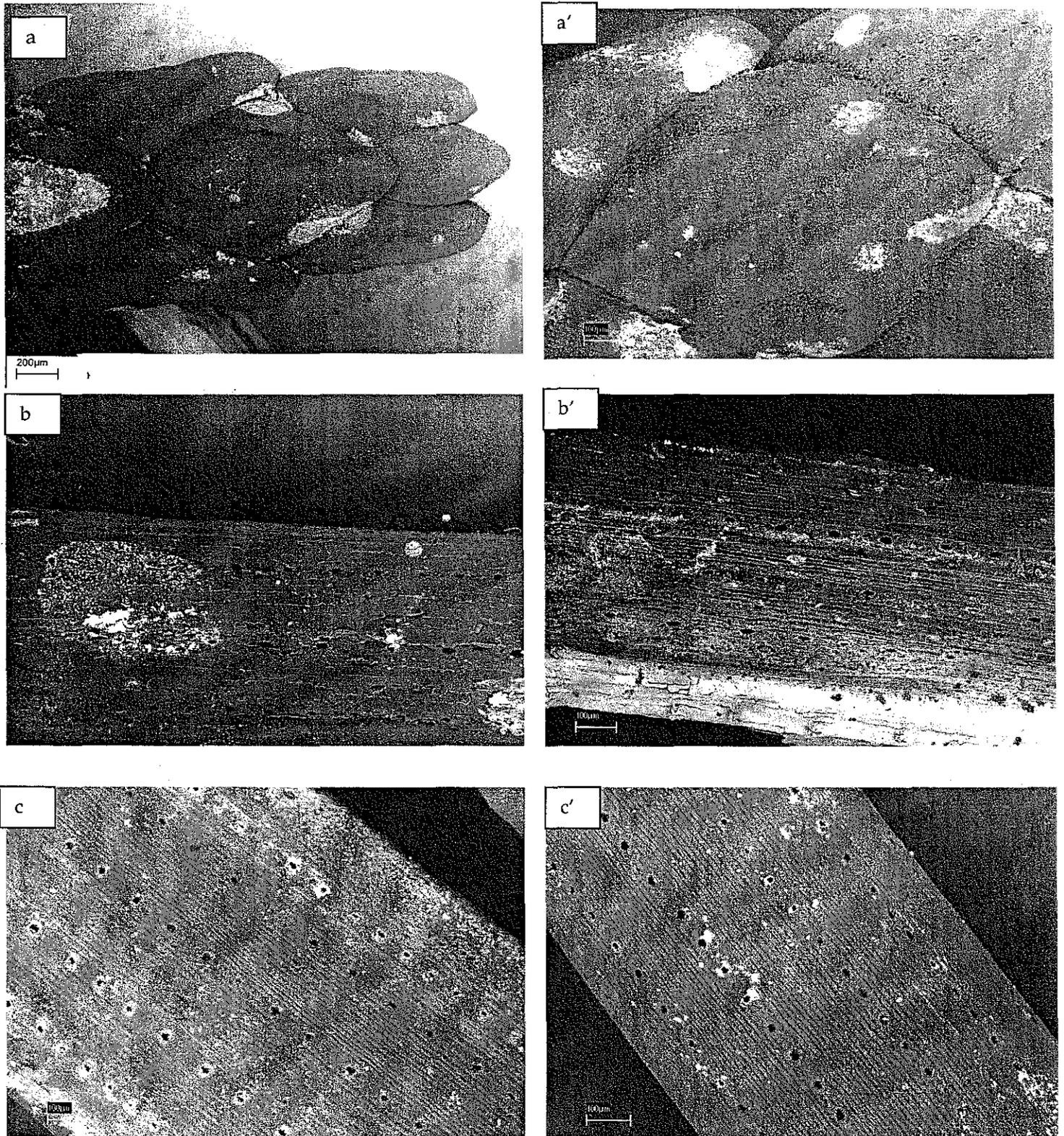


Figure 3-8: Observation en microscopie environnementale:
a et a': Partie terminale d'une tige de *C. sempervirens* et détail d'une écaille.
b et b': Face interne et externe d'une aiguille de *P. halepensis*.
c et c': Face interne et externe d'une aiguille de *P. nigra*.

mesures ont été réalisées en enfermant un rameau latéral d'environ 10 cm de long dans une chambre de mesure de 4 litres. Pour les 4 espèces, nous avons considéré que les stomates étaient uniformément répartis à la surface des aiguilles des pins et du cèdre et des rameaux à écailles des cyprès. Les photos prises au microscope environnemental (figure 3-8) ainsi que des empreintes stomatiques faites avec du vernis nous ont permis de connaître leur répartition:

- chez les pins, les stomates sont organisés en ligne sur toute la longueur des aiguilles. Le nombre de lignes est variable mais en moyenne il y a le même nombre sur chaque face malgré le fait que les aiguilles soit des demi-cylindres.

- chez les cèdres, l'organisation est la même c'est à dire en ligne. Les aiguilles forment un triangle isocèle: deux cotés de petites tailles avec chacune deux lignes de stomates et le troisième coté plus long qui en possède 4. Nous pouvons considérer, ici aussi, que la répartition est similaire en dessus (petits cotés) et en dessous de l'aiguille.

- la partie terminale des rameaux de cyprès est composée d'écailles imbriquées les stomates sont répartis sur la partie gauche et droite de chaque écaille.

Les échanges gazeux ont été rapportés dans tous les cas à la surface projetée totale des aiguilles. Pour ce faire nous avons placé les aiguilles à plat sur la table lumineuse du planimètre. Pour le cyprès, les rameaux se présentent en trois dimensions, ils ont donc été découpés pour n'avoir que deux dimensions. La respiration des tiges est considérée négligeable.

L'efficacité d'utilisation de l'eau (W_i) a été calculée de manière instantanée comme le ratio entre l'assimilation nette de CO_2 et la conductance stomatique (A/g_s ; $\mu\text{mol mol}^{-1}$) obtenus par mesure avec un système portable de photosynthèse Li Cor 6200.

3-4 Relation efficacité d'utilisation de l'eau et paramètres hydrauliques

341 Composition isotopique en ^{13}C

Des mesures de compositions isotopiques en ^{13}C ont été réalisées sur les 4 espèces dans trois conditions de cultures:

- des aiguilles de l'année prélevées fin juillet 2000 sur des arbres de 25 ans en plantation située sur la commune de la Bruguière (Gard, 30).

- des aiguilles de l'année prélevées en 2000 sur les plants de 3 ans en serre dans le traitement humide "T".

- des aiguilles de l'année prélevées en 2000 sur les plants de 3 ans en serre, en traitement de sécheresse modérée "SM".

- des aiguilles de l'année prélevées en 2001 sur les plants de 3 ans bien alimentés en eau, élevés en serre.

Les analyses isotopiques ont été réalisées sur des broyats d'aiguilles séchées et également dans le dernier cas sur l'amidon extrait des aiguilles:

- Aiguilles entières

Les aiguilles prélevées ont été séchées à 65°C pendant 3 jours et broyées finement à l'aide d'un broyeur à hélices (0.2 mm, Mesh). La poudre a été conservée dans des flacons hermétiques. Environ 1 mg de poudre, libre d'eau, a été pesé et analysé au spectromètre de masse (Finnigan Delta S mass spectrometer, Finnigan-Mat) (Claude Bréchet, Pôle analytique de l'UMR EEF, INRA de Nancy). La composition isotopique du carbone ($\delta^{13}\text{C}$) de l'échantillon d'aiguille entière a été rapportée à celui du standard PDB.

- Amidon

Les aiguilles ont été prélevées sur les rameaux et rapidement congelées dans l'azote liquide avant d'être lyophilisées et broyées au broyeur à bille (MM2000, Retsch®). La méthode d'extraction de l'amidon est celle décrite par Deléens et Garnier-Dardart (1977), adaptée par P. Maillard et décrite dans le paragraphe Matériel Méthode de l'annexe 4.

En fin d'extraction, l'amidon obtenu est séché, pesé et analysé au spectromètre de masse comme les aiguilles entières.

342 Corrélations entre conductance hydraulique totale des plants, régulation stomatique et efficacité d'utilisation de l'eau.

(i) Effet disponibilité en eau

En conditions contrôlées, en août 2001, la conductance hydraulique totale a été calculée en utilisant la méthode des flux à partir du potentiel hydrique de base et foliaire et de la transpiration d'après l'analogie à la loi d'ohm :

$$E = (\Psi_{\text{base}} - \Psi_{\text{feuille}}) \times g_L$$

La **méthode des flux** permet de manière non destructrice d'estimer l'importance des résistances entre le sol et l'atmosphère. Elle présente le désavantage d'être moins précise que la mesure par flux mètre à haute pression (HPFM) (Tsuda et Tyree, 2000).

Pour le calcul de g_L , la transpiration a été estimée à l'échelle du plant entier par pesée des pots. Deux pesées sont effectuées dans un intervalle de 1/2 à 1 heure sur des plants dont le pot est hermétiquement protégé par un sac plastique pour éviter l'évaporation dans le substrat. On estime la transpiration constante dans cet intervalle de temps. La transpiration (E ; $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) est la perte d'eau rapportée à la surface totale projetée des feuilles transpirantes. La conductance stomatique a été mesurée par Licor 6200. Ainsi les paramètres ont été suivis de manières indépendantes. La valeur de g_L a été confrontée à la conductance stomatique et l'efficacité d'utilisation de l'eau intrinsèque.

Pour élargir la gamme de mesure, elles ont été faites dans deux conditions hydriques:

- bonne disponibilité en eau (potentiel de base proche de -0.5 MPa),
- disponibilité limitée en eau (potentiel de base entre -1 et -1.5 MPa).

La composition isotopique en ^{13}C des aiguilles et de l'amidon contenu dans les aiguilles et synthétisé dans les conditions contrôlées nous permettent de corréler ce paramètre aux deux précédents. Les aiguilles de *C. sempervirens* sont très différentes de celle des pins et de *C. atlantica*. Cette différence peut notamment s'exprimer par la synthèse de composés secondaires (composés phénoliques et résines) post photosynthèse que l'on intègre lorsqu'on étudie la composition isotopique en ^{13}C des aiguilles entières. Nous avons choisi d'extraire l'amidon contenu dans les aiguilles, qui est un des premiers composés de la photosynthèse pour n'avoir que l'effet photosynthèse sur la composition isotopique en ^{13}C . Le second intérêt de l'étude de l'amidon est qu'il a une durée de vie faible (Brugnoli et al, 1988), il est rapidement remobilisé pour d'autres composés. Nous pouvons ainsi connaître le $\delta^{13}\text{C}$ des composés synthétisés dans les conditions contrôlées et compléter les informations que nous avons collectées dans les mêmes conditions (échanges gazeux et conductance hydraulique totale).

(ii) Variation au cours d'une journée

En serre, la conductance stomatique et la conductance hydraulique totale ont été suivies toutes les 2 heures entre le lever du jour et le midi solaire (14h). Cette expérimentation a été réalisée pour mettre en évidence les ajustements à l'échelle d'une journée entre la conductance stomatique et la conductance hydraulique totale.

4- Discussion

Cette synthèse est composée de 4 parties. La première est consacrée à la caractérisation hydraulique comparée de 4 espèces : *Cupressus sempervirens*, *Cedrus atlantica*, *Pinus nigra* et *Pinus halepensis*. Dans la seconde partie nous mettrons en évidence une corrélation entre le fonctionnement stomatique et les caractéristiques hydrauliques autant en conditions de bonne disponibilité en eau que de sécheresse, ce qui nous permettra dans une troisième partie d'estimer les corrélations qui peuvent exister entre les caractéristiques hydrauliques et l'efficacité d'utilisation de l'eau. Dans une quatrième partie, nous comparerons le fonctionnement des 4 espèces et leur adaptation à la sécheresse.

1- Caractéristiques hydrauliques

Le flux d'eau entre le sol et l'atmosphère se fait en majorité par le xylème, l'évaporation directe du sol étant faible. La capacité de transfert du xylème est définie par sa résistance au flux et sa vulnérabilité à la cavitation, qui imposent des limites à son fonctionnement. Une large gamme de vulnérabilité existe entre espèces. Tyree et al (1994) ont donné une idée de son importance en collectant dans la littérature les valeurs pour une cinquantaine d'espèces provenant de différents climats. Ces différences pourraient expliquer en partie la distribution des espèces (Cochard, 1992). En effet il est souvent constaté que les espèces peu vulnérables sont présentes dans un large domaine climatique allant de zones humides à des zones sèches alors que des espèces vulnérables ont un domaine restreint à des zones humides (Tyree et Ewers, 1991; Sperry, et al, 1988). Cependant la conjugaison des connaissances sur l'architecture hydraulique d'une espèce (répartition des résistances) et sa vulnérabilité à la cavitation apporte une compréhension plus complète des limitations imposées par l'environnement (Tyree et Ewers, 1991; Brodribb et Hill, 1999). La variabilité des caractéristiques hydrauliques existe également au sein d'une même espèce. Différentes études ont montré que ces caractéristiques pouvaient varier entre organes (Sperry et Ikeda, 1997), et que des différences de conditions hydriques dans le milieu (Lemoine et al, 2001) ou d'éclairement (Cochard et al, 1999) par

Tableau 4-1 : Conductivité spécifique (K_S ; mol m⁻¹ s⁻¹ MPa⁻¹), conductivité spécifique foliaire (K_L ; mol m⁻¹ s⁻¹ MPa⁻¹) et potentiel pour lequel la perte de conductivité est de 50% (ψ_{PLC50} ;MPa) pour les tiges de l'année prélevées sur des plants de *C. atlantica*, *C. sempervirens*, *P. halepensis* et *P. nigra* dans leur 2^{ème} ou 3^{ème} année de végétation. Les valeurs sont la moyenne (SEM) de 6 à 12 mesures sur des plants différents. S et NS soulignent des différences significatives ou non dues à l'âge du plant (P=0.05; test de Duncan).

		plants de 2 ans	plants de 3 ans	effet age du plant
K_S	<i>C. atlantica</i>	16.26 (1.62) ^b	.	.
	<i>C. sempervirens</i>	30.76 (1.78) ^a	19.82 (2.58) ^b	S
	<i>P. halepensis</i>	15.88 (1.35) ^b	32.38 (7.04) ^a	S
	<i>P. nigra</i>	17.61 (2.47) ^b	20.98 (3.09) ^b	NS
K_L	<i>C. atlantica</i>	11.09 (1.68) ^b	.	.
	<i>C. sempervirens</i>	33.09 (2.64) ^a	37.06 (5.79) ^b	NS
	<i>P. halepensis</i>	7.11 (0.47) ^b	80.65 (7.04) ^a	S
	<i>P. nigra</i>	28.05 (6.95) ^a	27.18 (8.02) ^b	NS
ψ_{PLC50}	<i>C. atlantica</i>	-3.8 (0.2) ^b	.	.
	<i>C. sempervirens</i>	-4.8 (0.2) ^c	-5.8 (0.9) ^b	NS
	<i>P. halepensis</i>	-4.9 (0.6) ^c	-5.2 (0.6) ^b	NS
	<i>P. nigra</i>	-2.8 (0.1) ^a	-2.6 (0.1) ^a	NS

exemple pouvaient influencer sur celles-ci. Avant d'étudier la variabilité entre espèces, il est important d'avoir une idée de la variabilité qui peut exister au sein d'une même espèce.

1-1 Variabilité intraspécifique des caractéristiques hydrauliques

111 Variabilité spatiale dans l'arbre

La répartition des résistances est inégale dans l'arbre entre le sol et l'atmosphère. La résistance racinaire représente entre 30 et 70% de la résistance totale d'un plant (Huang, 2000; Nardini et Tyree, 1999) et est elle-même composée de résistances d'importances décroissantes entre l'interface sol-racine, le trajet radial et enfin axial (Passioura, 1988; North et Nobel, 1997). Quelle que soit l'espèce, les conductivités spécifiques mesurées ($K_s=1/R_s$) sur la tige principale et les grosses racines (AII, Tab.2) montrent que K_s dans les tiges est deux à trois fois plus faible que dans les racines. Sperry et Ikeda (1997) ont montré sur *Pseudotsuga menziesii* et *Abies concolor* que les trachéides des grosses racines (>2 mm) avaient des diamètres supérieurs à celles des tiges.

La vulnérabilité à la cavitation était systématiquement plus élevée dans les racines que dans les tiges (AII, Tab.2). Cette forte vulnérabilité confirme de précédentes études sur différentes espèces de feuillus (Sperry et Saliendra, 1994; Alder et al, 1996; Hacke et Sauter, 1996...) et de conifères. L'écart de vulnérabilité entre les deux organes varie de 1 MPa pour *P. nigra* à 3 MPa pour *P. halepensis* et *C. sempervirens*. Ceci va dans le sens d'un compromis intraspécifique entre efficacité de conduction de la sève et sécurité du xylème (efficiency versus safety).

112 Variation temporelle

Les mesures ont été effectuées en 1999 sur des plants dans leur deuxième année de végétation: en avril, avant le débourrement et en septembre avant la formation du bois d'été (AI, tab.1 et AI, tab.2). La position du rameau sur le plant était dans les deux cas la même: la partie terminale de l'axe principal. Les valeurs de conductivité hydraulique spécifique K_s et spécifique foliaire K_L ont augmenté sensiblement entre avril et septembre sauf pour *C. atlantica*. Cette augmentation peut être expliquée par la différence de conductivité des bois d'été et de printemps. La tige prélevée et mesurée en avril a été développée en 1998, elle était composée de bois de printemps et d'été alors que la tige de septembre s'est développée pendant la saison de végétation 1999 et est formée essentiellement de bois de printemps. Le diamètre interne des éléments conducteurs est plus grand dans le bois de printemps que dans le bois d'été, il est donc plus efficace pour le transport de l'eau (Kavanagh et al, 1999; Zimmermann et al, 1983). De plus, les cellules du bois d'été auraient des structures plus rigides au

niveau des pores leur conférant une faible vulnérabilité à la cavitation (Petty et Purich, 1970), cela va dans le sens de nos résultats puisque les vulnérabilités ont été plus élevées en septembre qu'en avril, exception faite de *C. atlantica*.

A la variation saisonnière s'ajoute une variation due à l'âge du plant. Les conductivités mesurées en septembre, sur des rameaux développés pendant la saison de végétation et prélevés sur des plants de 2 et 3 ans ne sont pas significativement différentes chez *P. nigra*. Par contre elles varient pour *C. sempervirens* et *P. halepensis* (tableau 4-1). Ces différences ne sont pas reliées à des différences de vulnérabilité à la cavitation. Les conductivités hydrauliques sont augmentées de 2 et 10 fois respectivement. Ces modifications pourraient être dues à la proportion de bois juvénile par rapport au bois mature. En effet ces deux types de bois ont des caractéristiques qualitatives et quantitatives différentes, le bois juvénile étant composé de fibres courtes et de peu de cellulose (Dickison, 2000). L'existence de cette variabilité intraspécifique implique de travailler dans des conditions standard (même âge des plants). La forte variation de la conductivité hydraulique chez *P. halepensis* reste cependant inexpiquée et surprenante. Nous pouvons penser qu'elle vient d'un échantillonnage différent: les rameaux choisis pour la mesures étaient issus du dernier flush entièrement développé. L'âge du rameau et donc l'état de maturité des tissus peut être différent.

113 Variabilité phénotypique

La disponibilité en eau peut à moyen terme affecter les caractéristiques hydrauliques des espèces en diminuant la croissance cellulaire (diamètre des éléments conducteurs) et le rapport entre la surface foliaire et le diamètre de section conductrice. En effet, en réponse à une sécheresse modérée de 5 mois, nous avons constaté (AIV, tab. 2) d'une part chez *P. nigra*, une diminution de K_s , qui pourrait être expliquée par l'apparition de trachéides embolisées avec le traitement hydrique modéré à long terme ou, selon la loi de Hagen Poiseuille, par une diminution du diamètre des trachéides (Lovisol et Schubert, 1998). Par contre la vulnérabilité à la cavitation n'est pas modifiée par une sécheresse modérée à long terme (AIV, tab. 3). Ces différentes réponses à la contrainte peuvent être le résultat d'un fonctionnement écophysologique différent, que nous développerons dans la quatrième partie.

Il existe une importante sensibilité des caractéristiques hydrauliques aux facteurs extérieurs (disponibilité en eau) ou spécifiques de la plante tels que l'âge ou l'organe. De plus l'amplitude des réponses diffère entre espèces.

1-2 Variabilité interspécifique

121 Conductivité hydraulique et anatomie du xylème

En septembre 1999, la conductivité hydraulique spécifique mesurée chez *C. sempervirens* était significativement supérieure à celle des trois autres espèces étudiées (30.8 contre environ 16.2 mol m⁻¹ s⁻¹ MPa⁻¹). Elle a pu être corrélée à un diamètre moyen de trachéides également plus élevé; le diamètre moyen est environ de 10 µm pour toutes les espèces excepté pour *C. sempervirens* (13 µm) (A1 tab. 3). Les longueurs, quant à elles, variaient de 1 mm (*P. nigra* et *C. sempervirens*) à 1.3 mm pour *P. halepensis* et *C. atlantica*, et n'ont pas été corrélées avec K_s . Les trachéides ne sont cependant pas des capillaires parfaits et le ratio entre la conductivité mesurée et la conductivité estimée par l'application de la loi de Hagen Poiseuille variait de 30 à 50% selon les espèces. Cette différence peut être expliquée les résistances imposées au passage de l'eau par les connexions entre deux trachéides (Siau, 1984).

En septembre 2000 (tab. 4-1), les différences entre espèces ont changé, K_s de *P. halepensis* est la plus élevée (30% en plus). A transpiration équivalente, d'après l'analogie à la loi d'Ohm, une conductivité hydraulique faible induit une différence de potentiel plus importante entre deux points du xylème et donc des tensions plus négatives dans le xylème qu'une conductivité élevée. (Tyree et Ewers, 1991). Dans notre cas, *P. halepensis* fonctionne à des potentiels hydriques plus élevés que les autres espèces étudiées, dans des conditions similaires.

122 Efficacité versus sécurité

Nous avons retenu deux paramètres pour décrire les courbes de vulnérabilité obtenues par pressurisation: Ψ_{PLC50} , potentiel à 50% de perte de conductivité et Ψ_{PLC10} , potentiel pour lequel on observe une induction de l'embolie. Malgré les variations dues aux effets date et âge des plants, nous avons obtenu à partir des 4 espèces étudiées une large gamme de vulnérabilité. Cependant le classement des espèces a sensiblement varié. *P. nigra* est systématiquement l'espèce la plus vulnérable avec Ψ_{PLC50} proche de -2.8 MPa. En septembre 1999 (AII, Tab. 2), les espèces les moins vulnérables sont *P. halepensis* et *C. sempervirens* (-4.8 MPa). *C. atlantica* est intermédiaire (-3.8 MPa). Cette séparation entre espèces vulnérable (*P. nigra*) et peu vulnérable est accentuée en septembre 2000 avec une vulnérabilité de *C. sempervirens* encore plus faible (-5.8 MPa).

La large gamme de vulnérabilité à la cavitation et l'importance des variations de conductivités hydrauliques à l'échelle foliaire et d'une section de tige, mesurée chez les quatre espèces étudiées nous permet de tester l'existence d'une relation potentielle entre ces deux caractères. L'hypothèse d'un compromis entre sécurité et efficacité de Zimmermann (1983) est très controversée. D'une part, de nombreuses études valident cette hypothèse en montrant que les espèces les plus vulnérables sont aussi les moins efficaces pour la conduction de la sève. Ceci est vrai pour certaines espèces de végétation désertique (Pockman et Sperry, 2000), de pinèdes du Pacifique Nord (Piñol et Sala, 2000) et

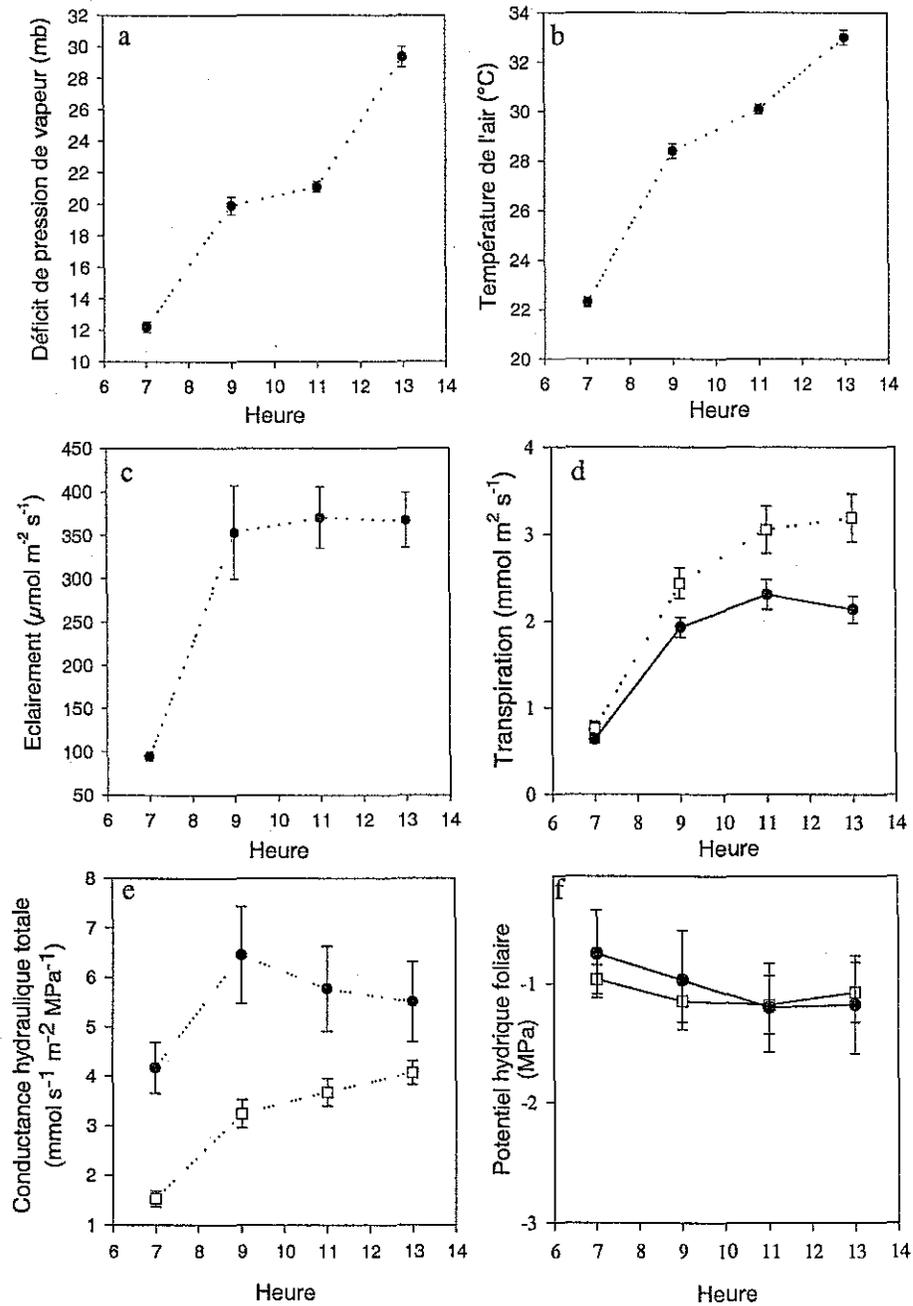
également de la zone méditerranéenne (LoGullo et Salleo, 1993; Tognetti et al, 1998). Mais d'autre part, cette relation n'a pu être mise en évidence pour de nombreuses autres espèces (Sperry et al, 1994; Brodrigg et Hill, 1999). D'ailleurs, une synthèse des données de différents auteurs faite par Tyree et al (1994) montre sur un large éventail d'espèces que l'on ne peut pas relier la vulnérabilité au diamètre des éléments conducteurs. Nous sommes en accord avec cette conclusion car nos résultats ne montrent aucun compromis (AI, fig.4). D'ailleurs, un compromis entre l'efficacité et le maintien de l'intégrité du xylème conduirait à une uniformisation du risque de cavitation.

La répartition des diamètres des pores sur les trachéides semble aléatoire. En théorie donc, une trachéide à large diamètre, qui a une surface plus importante, aura une probabilité plus élevée d'avoir des pores de gros diamètre et sera donc plus vulnérable à la cavitation (Hargrave et al, 1994). Cela n'a pu être montré dans notre cas car le cyprès, qui est l'espèce la moins vulnérable, a également les trachéides de plus gros diamètre moyen. En fait, d'après Sperry et Tyree (1990), nous devons tenir compte de l'hétérogénéité qui existe entre espèces au niveau de la membrane des pores. La différence de flexibilité, due aux fibres d'hémicellulose pourrait expliquer une partie des différences de vulnérabilité entre espèces.

Chez les conifères, le faible diamètre des trachéides et le nombre élevé de jonctions intertrachéides est à l'origine d'une forte redondance (Tyree et al, 1994). Ce caractère peut contribuer à une plus lente propagation de l'embolie: lorsque les diamètres moyens sont les plus élevés, la redondance sera plus faible car il y aura moins de trachéides par diamètre de section conductrice. En effet, chez *C. sempervirens*, la vitesse de propagation, estimée par $\Psi_{PLC50} - \Psi_{PLC10}$ est élevée alors que *C. atlantica* qui a des trachéides de plus faible diamètre a une propagation plus lente de l'embolie.

*Les quatre espèces étudiées présentent une large gamme de caractéristiques hydrauliques aussi bien de vulnérabilité que de conductivités hydrauliques (tab. 4-1). Un classement de vulnérabilité, basé sur Ψ_{PLC50} , a pu être établi : *P. nigra* > *C. atlantica* > *C. sempervirens* et *P. halepensis*. Cette gamme nous a permis de confirmer qu'il existait une relation entre diamètre de trachéide et conductivité des rameaux mais aucune relation entre la vulnérabilité à la cavitation et la conductivité n'a pu être mise en évidence, ce qui contredit l'hypothèse d'une compensation entre sécurité et efficacité.*

Figure 4-1 : Evolution des paramètres ambiants de déficit de pression de vapeur (a), température de l'air (b), et éclairage dans la serre entre 7h et 13h, mesuré par Licor 6200, et dans le même intervalle de temps, de la transpiration (d) de la conductance hydraulique totale (e) et du potentiel hydrique foliaire (f) de *P. halepensis* (cercle plein) et *C. sempervirens* (carré vide).



2- Risque d'embolie et régulation stomatique

Nous avons montré, dans la première partie, que les quatre espèces que nous étudions présentent une large gamme de vulnérabilité à la cavitation et de conductivités hydrauliques. Ces différences de caractéristiques hydrauliques impliquent des comportements différents notamment au niveau du contrôle de la transpiration chez ces espèces que l'on peut rencontrer dans un même milieu.

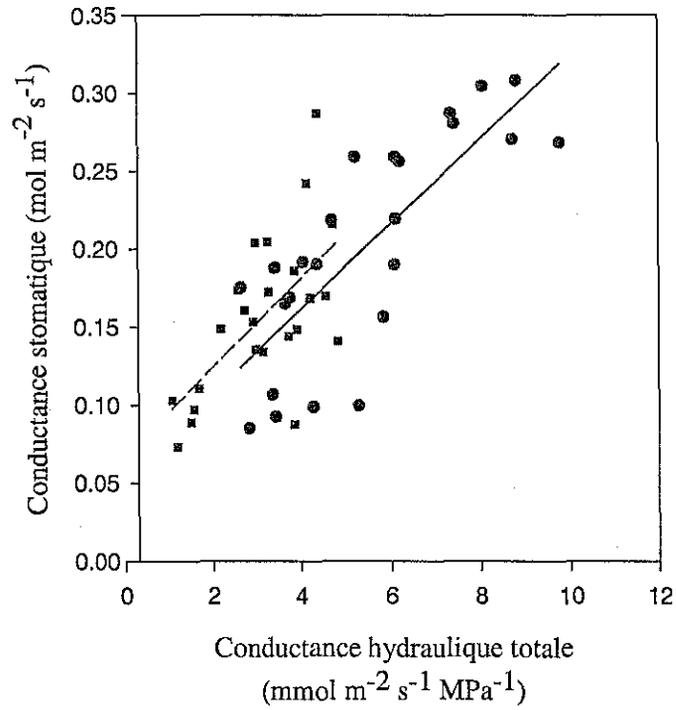
2-1 Hors contrainte hydrique

Le maintien d'un potentiel hydrique élevé dans les feuilles est nécessaire à la plante pour assurer la photosynthèse. Mais pour un flux de transpiration donné, le potentiel hydrique dans la feuille sera supérieur pour les plantes ayant une conductance hydraulique élevée. Le modèle de Van Den Honert, (1948), dans lequel nous nous plaçons, le décrit très bien : il doit exister une coordination entre la régulation stomatique et la conductance hydraulique totale pour limiter l'apparition de tensions dans le xylème.

211 Contraintes climatiques

Sur un pas de temps court tel qu'une demi-journée, la conductance hydraulique spécifique totale g_L est stable. Les variations de transpiration et g_L observées chez *P. halepensis* et *C. sempervirens* sont dues à des variations de la température (+10°C) et du VPD (+18 mb) (fig. 4-1). Comme Tsuda et Tyree, (2000), nous montrons que la conductance hydraulique totale varie de la même manière que la transpiration et nous obtenons une relation linéaire, identique pour les deux espèces, entre g_L et la conductance stomatique (fig. 4-2), signifiant un équilibre entre la capacité de transport de la sève par la plante entière et la perte d'eau contrôlée par les stomates à l'échelle de quelques heures. Cet équilibre pourrait expliquer la faible variation observée pour le potentiel hydrique foliaire. L'augmentation de g_L au cours de la journée est essentiellement due à l'augmentation de la demande climatique (radiation, température et VPD). Cela est d'autant plus vrai que nous sommes en régime de flux hydrique stable, que toute l'eau transpirée provient du flux passant dans le tronc et qu'il y a très peu de diminution du potentiel hydrique foliaire. Le changement rapide de g_L peut être un effet du changement de viscosité de l'eau lié à l'augmentation de température. Nos calculs de g_L par la méthode des flux ne tiennent pas compte de la température, or la température augmente la conductance de 2.25% par degré Celsius (Tyree et al, 1995). La variation maximale de température que nous avons mesuré est de 10°C. Le

Figure 4-2 : Corrélation entre la conductance stomatique ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) mesurée par Licor 6200 et la conductance hydraulique totale calculée par la méthode des flux chez *C. sempervirens* (symboles rond, $r^2=0.61$) et *P. halepensis* (symboles carré, $r^2=0.39$). Chaque point représente une mesure, 6 individus différents ont été mesurés à intervalle régulier de temps pendant une demi-journée.



changement de viscosité peut ainsi expliquer, une augmentation de 22.5% de la conductance. L'augmentation de g_L étant de plus de 50% pour les deux espèces, l'augmentation de température ne peut donc expliquer totalement la variation de g_L . La présence d'aquaporine régulant le flux hydrique en réponse à des modifications de flux d'eau ou de température peut également contribuer à la variation de g_L (Tsuda et Tyree, 2000; Steudle et Hensler, 1995). Des mesures de HPFM (Flux Mètre à Haute Pression) sont nécessaires pour confirmer ou infirmer ces interprétations.

212 Effet immédiat d'une sécheresse modérée du sol

La conductance hydraulique totale est très sensible à la fluctuation sur quelques jours de la disponibilité en eau du sol. Lorsque des plants ont été maintenus 10 jours à un potentiel hydrique de base situé entre -1.5 et -2.0 MPa, ils ont perdu plus de 50% de g_L (AIII, Tab. 3). Cette diminution peut avoir plusieurs origines. La perte de conductivité au niveau des racines des plants en sécheresse peut en être une. Nous avons vu que la vulnérabilité des racines est importante, la chute du potentiel hydrique peut avoir entraîné une perte de conductivité par embolie. L'augmentation des résistances à l'interface sol-racine est également très probable. Les résistances racinaires non vasculaires sont très sensibles à la diminution de la disponibilité en eau, cela peut se manifester par un dessèchement des racines fines (LoGullo et al, 1995) et une subérisation de l'endoderme et de l'exoderme des racines (Frensh et Steudle, 1989).

Comme g_L , la conductance stomatique a été affectée par la diminution du potentiel hydrique, de 20 à plus de 50% de diminution ont été notées (AIII, tab. 3). Une relation linéaire unique a été observée pour les 4 espèces entre conductance hydraulique totale et conductance stomatique (AIII, fig. 3). Il faut rappeler ici que g_L et g_s ont été calculées de manière indépendante. Dans la gamme de disponibilité en eau étudiée, la conductance stomatique est coordonnée à la conductance hydraulique spécifique totale. Cette relation linéaire a confirmé celle trouvée en intraspécifique chez *Pinus ponderosa* et plusieurs espèces de chênes (Kolb et Stone, 2000) et chez *Picea abies* sous différents éclaircissements (Sellin, 2001) mais également entre espèces pour plusieurs espèces ligneuses de la savane brésilienne (Meinzer, 1999) et pour des espèces tempérées telles que *Populus trichocarpa* et *Tsuga heterophylla* ayant des comportements stomatiques différents (Bond et Kavanagh, 1999); elle a confirmé l'hypothèse de Whitehead et al (1984) et Tyree et Ewers (1991) de l'existence d'une relation homéostatique entre la transpiration, le potentiel hydrique dans la plante et les résistances hydrauliques.

Lorsque la disponibilité en eau n'impose pas une contrainte importante à la plante, la régulation stomatique est corrélée aux variations de résistances au flux d'eau: la transpiration, flux d'eau sortant

est en équilibre avec la capacité du plant à apporter l'eau au niveau des feuilles. La relation est la même pour les 4 espèces.

2-2 Contrainte hydrique drastique

221 Risque d'embolie des parties aériennes

Pendant une sécheresse, la vulnérabilité à la cavitation fixe les limites que le potentiel hydrique dans le xylème ne peut franchir sous peine d'induire l'emballement de l'embolie et un dysfonctionnement catastrophique dans le xylème. L'évolution du potentiel hydrique est conditionnée par la conductance hydraulique mais contrôlée par la régulation stomatique. De nombreux auteurs ont montré que la fermeture stomatique intervenait pour maintenir le potentiel hydrique au-dessus du seuil de cavitation chez différentes espèces (Cochard et al, 1996; Irvine et al, 1998). Cette corrélation apparente entre g_s a été modélisée par Jones et Sutherland (1991) qui supposent que deux situations sont possibles:

- dans le premier cas, la plante évite toute perte de conductivité pour maintenir le système conducteur efficace, pour cela, elle doit réguler les pertes en eau pour ne pas atteindre le potentiel hydrique induisant une embolie. Elle a besoin d'une régulation stomatique efficace et/ou de modifier son système conducteur.

- dans le second cas, le système conducteur peut supporter la présence d'éléments embolisés. Mais lorsque le potentiel hydrique du xylème atteint le potentiel critique, l'apparition de trachéides embolisées provoque la diminution de la conductivité hydraulique du xylème. A transpiration constante, le potentiel hydrique du xylème va donc diminuer induisant une perte de conductivité plus importante, c'est le phénomène d'emballement de l'embolie qui peut être limité par la fermeture stomatique.

Ces deux hypothèses peuvent être résumées par la notion de marge de sécurité, écart entre le potentiel provoquant la fermeture totale des stomates et le potentiel de xylème seuil de cavitation (Alder et al, 1996). Dans le premier cas, la marge de sécurité est élevée alors que dans le second, elle est nulle ou très faible.

Dans notre étude, le dessèchement de plants par arrêt d'arrosage en conditions contrôlées a provoqué une diminution de la conductance stomatique. La fermeture des stomates était quasi-totale (entre 0 et 10% résiduelle) à des potentiels hydriques dans le xylème dépendant des espèces: -1.7 MPa, -3.0 MPa et -4.0 MPa respectivement chez *P. nigra*, *P. halepensis* et *C. sempervirens*, ce potentiel sera appelé par la suite $\Psi_{g_s=0}$. De la même manière que les stomates, l'assimilation nette a été affectée aux mêmes potentiels. C'est donc *C. sempervirens* qui a maintenu une activité photosynthétique le plus longtemps pendant le dessèchement.

Lorsqu'on a exprimé la diminution de la conductance stomatique en diminution relative par rapport à un niveau maximum initial, (obtenu avant le début du dessèchement) et qu'on l'a comparée à la courbe de perte de conductivité hydraulique dans le xylème (AII, fig. 4), on a noté systématiquement un ajustement de la fermeture stomatique au potentiel d'induction de l'embolie. Chez *P. nigra* et *P. halepensis*, $\Psi_{gs=0}$ était très proche de Ψ_{PLC10} (marge de sécurité nulle) que ce soit pour l'espèce la plus vulnérable (*P. nigra*) ou tolérante (*P. halepensis*), ce qui implique que la régulation stomatique ne protège pas le xylème de tout dysfonctionnement, mais elle limite tout de même le phénomène d'emballement de l'embolie (Sperry et Pockman, 1993). Cette fermeture tardive des stomates permet de maintenir une assimilation nette de CO_2 pendant le dessèchement malgré une vulnérabilité importante (*P. nigra*). Chez *C. sempervirens*, il existe une marge de sécurité de plus de 1 MPa entre $\Psi_{gs=0}$ et Ψ_{PLC10} . Le xylème de cette espèce est très résistant à l'embolie. On peut parler d'un évitement de l'embolie dans le xylème des parties aériennes. Chez cette espèce, un suivi de la conductivité hydraulique pendant une saison sèche en milieu naturel, a permis à Borghetti et al (1998) de montrer que le potentiel provoquant l'emballement de l'embolie n'était jamais atteint, et qu'il ne se produisait aucun dysfonctionnement irréversible grâce à la limitation de la transpiration par la régulation stomatique.

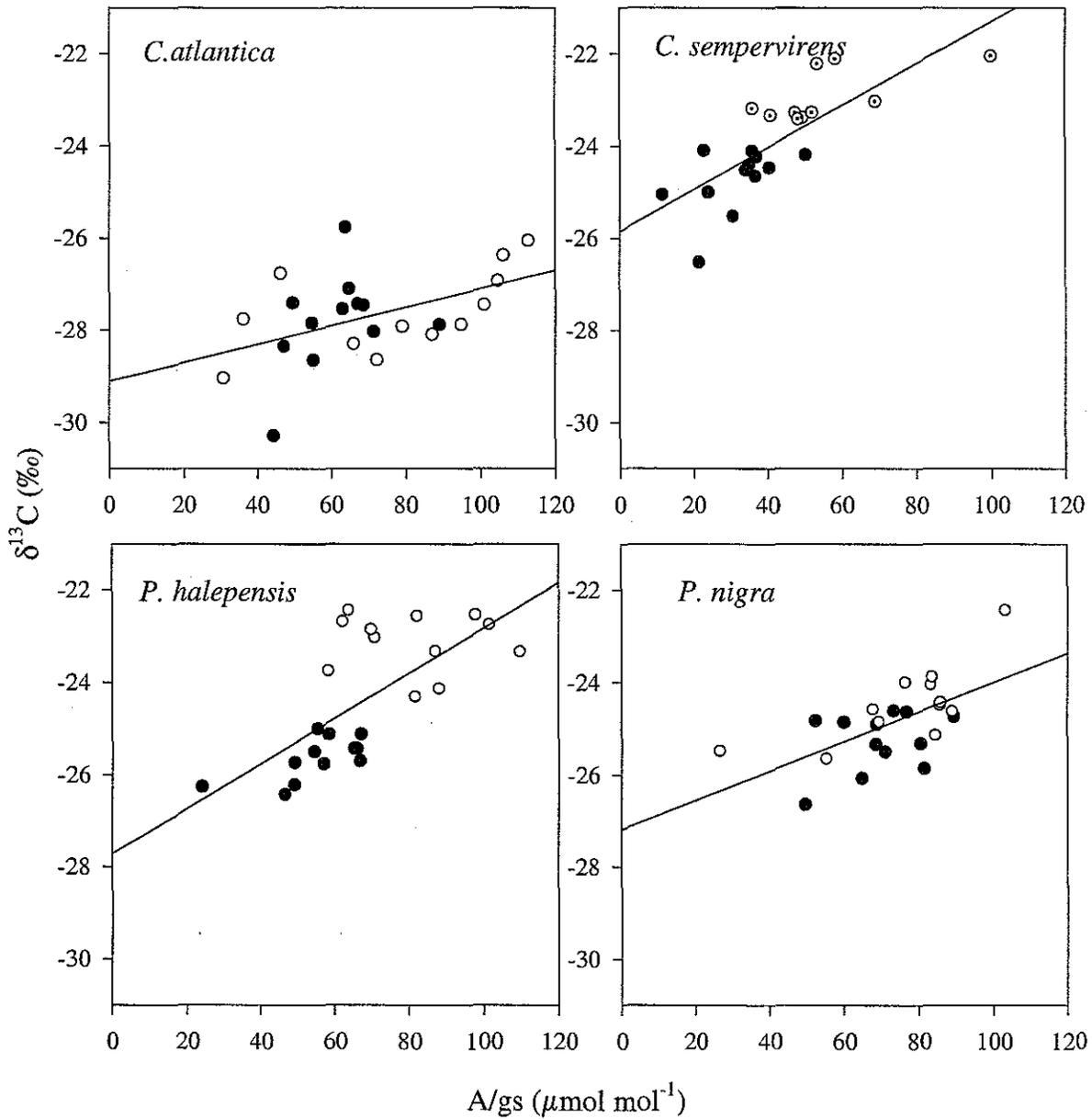
222 Importance des parties racinaires

Le xylème des parties racinaires est plus vulnérable à la cavitation que celui des parties aériennes (AII, tab.2). Cela a été montré sur des feuillus (Alder et al, 1996; Hacke et Sauter, 1996; Sperry et Saliendra, 1994) et des conifères (Sperry et Ikeda, 1997). Dans notre étude, la perte de conductivité hydraulique coïncidait quelque soit l'espèce avec la diminution de conductance stomatique (AII, fig. 5): $\Psi_{gs=0}$ est égal à Ψ_{PLC50} soit environ -1.5, -2.9 et -3.0 MPa respectivement chez *P. nigra*, *P. halepensis* et *C. sempervirens*. En condition de transpiration même faible, le gradient de potentiel qui existe à l'intérieur du plant, entre les racines et les tiges, n'est pas suffisant pour supposer que le phénomène de cavitation apparaît au même potentiel hydrique dans le sol dans les deux organes. La régulation stomatique est donc efficace pour la protection du xylème des tiges mais pas des racines. La perte de 50% de conductance hydraulique dans les grosses racines signifie l'augmentation de la résistance seulement d'un facteur 2. Or il a été montré que la majeure partie des résistances résidait en amont (interface sol-racine et trajet radial), (Passioura et al, 1988) et qu'elles étaient très sensibles à toute modification de la teneur en eau du sol (Steudle, 2000). On peut se demander quel impact peut avoir cette perte de conductivité sur le fonctionnement global de la plante. Nous avons vu, dans les conditions de bonne alimentation en eau, que l'ouverture stomatique est coordonnée à la conductance totale du plant. L'embolie racinaire contribue à l'augmentation de g_L , la fermeture des stomates limite la transpiration et l'augmentation des tensions dans le xylème des parties aériennes; ainsi le point de dysfonctionnement du xylème des tiges ne sera pas atteint. Il faut rappeler que dans la tige, la

"déseMBOLISATION" d'une trachéide non fonctionnelle n'a pas été mise en évidence de manière systématique alors que dans les racines, plusieurs études montrent son existence. Le remplissage d'éléments conducteurs peut se faire grâce à l'existence de pressions racinaires nocturnes (Tyree, 1992). Mais la restauration (North et Nobel, 1996; Ewers et al, 1992) de la conductivité passe surtout par la synthèse de nouvelles racines latérales et de nouvelles connexions dès le retour à des conditions favorables. L'embolie racinaire peut permettre d'économiser l'eau du sol car le prélèvement est moindre (Sperry et Saliendra, 1994) mais également de protéger la plante d'une déshydratation par le sol (Ewers et al, 1992; Passioura, 1988): lorsque la transpiration est nulle, le potentiel hydrique des racines est égal à celui des feuilles, le sol autour des racines continue à se dessécher. La circulation de l'eau se faisant vers les potentiels les plus négatifs, la sortie de l'eau par les racines serait possible mais elle est limitée par les résistances radiales et l'embolie du xylème.

Pendant une contrainte hydrique, l'intégrité ou la quasi-intégrité du xylème est maintenue par la limitation de la transpiration. La vulnérabilité à la cavitation pour chaque espèce est corrélée à la régulation stomatique pendant la chute du potentiel hydrique: la marge de sécurité est nulle chez P. nigra et P. halepensis et de 1.3 MPa chez C. sempervirens . Dans le cas d'une sécheresse drastique, la régulation stomatique semble corrélée à la vulnérabilité et dépendante de la variation de la conductance hydraulique racinaire.

Figure 4-3 : Relation entre composition isotopique en ^{13}C des aiguilles entières et WUE instantanée (A/gS) dans des aiguilles de l'année de *C. atlantica* ($r^2=0.22$), *C. sempervirens* ($r^2=0.33$), *P. halepensis* ($r^2=0.47$) et *P. nigra* ($r^2=0.38$) de plants élevés en serre dans des conditions de disponibilité en eau non limitante (symboles plein) et de sécheresse modérée (symboles vide). Chaque point est le résultat d'une mesure sur un plant.



3- Efficience d'utilisation de l'eau

Sachant d'une part que l'efficience intrinsèque d'utilisation de l'eau est le rapport entre l'assimilation nette de CO₂ et la conductance stomatique pour la vapeur d'eau et, d'autre part que les caractéristiques hydrauliques ont une grande influence sur le contrôle stomatique des échanges gazeux, nous avons cherché à connaître l'influence des caractéristiques hydrauliques sur l'efficience d'utilisation de l'eau des espèces. En intraspécifique et entre individus, une faible efficience de transfert de l'eau dans le xylème est corrélée à un δ¹³C élevé (forte efficience d'utilisation de l'eau) chez *Pinus monticola* (Cernusak et Marshall, 2001) et également chez *Pseudotsuga menziesii* (Panek, 1996). Dans le cadre de comparaisons interspécifiques, nous avons testé l'hypothèse de l'existence d'une relation comparable.

3-1 Discrimination isotopique et efficience d'utilisation de l'eau W_i

La composition isotopique des aiguilles (δ¹³C) de plants en plantation comparative ou en serre dans différentes conditions de cultures (alimentation en eau) est très variable selon les espèces (AIII, tab. 1), l'écart moyen entre espèces étant de 3.2 ‰. Le classement est très stable, en effet *C. atlantica* présente toujours le δ¹³C le plus faible (-27.01‰) et *C. sempervirens*, toujours le plus élevé (-23.79 ‰); les pins ont une position intermédiaire. Si on admet l'hypothèse d'une relation unique entre δ¹³C et A/g_s, entre les espèces, on pourrait penser que *C. sempervirens* et *C. atlantica* soient respectivement le plus et le moins efficient. Knight et al (1994), sur différentes espèces de céréales, et Ponton et al (2001), sur deux espèces de *Quercus*, ont montré l'existence d'une relation interspécifique positive entre l'efficience d'utilisation de l'eau à l'échelle d'une saison et la composition isotopique en ¹³C. Dans notre étude, cette hypothèse n'a pas été vérifiée, aucune relation A/g_s et δ¹³C n'a été mise en évidence entre les espèces (AIII, fig. 2). *C. sempervirens* ayant une efficience intrinsèque d'utilisation de l'eau bien inférieure aux pins (70 contre environ 100 μmol mol⁻¹).

Cette relation existe cependant dans une même espèce comme l'ont montré Kloeppe et al (1998) et Osorio et Pereira (1994). En effet, l'efficience intrinsèque d'utilisation de l'eau est fortement modulée par la disponibilité en eau dans le substrat (fig. 4-3). En condition de sécheresse modérée (Ψ_{sol} < -1.5MPa), A/g_s a été augmenté en moyenne de 15% chez *P. nigra*, 30% chez *P. halepensis* et *C. atlantica* et de 46% chez *C. sempervirens*. Cette augmentation est corrélée à l'augmentation de δ¹³C dans les aiguilles, une relation linéaire positive entre δ¹³C et A/g_s (fig. 4-3; AIII, tab. 4) a été détectée

dans toutes les espèces. Elle existe malgré la différence d'intégration dans le temps des mesures: $\delta^{13}\text{C}$ est obtenu sur des aiguilles de 4 mois, alors que A/g_s est issu d'une mesure instantanée.

Nous avons cherché à expliquer cette absence de relation. Les causes peuvent être une variation dans la discrimination du ^{13}C pré ou post photosynthèse.

- le $\delta^{13}\text{C}$ mesuré sur les broyats d'aiguilles entières intègre le $\delta^{13}\text{C}$ des différents composés existant dans les aiguilles. Ce sont les composés carbonés à renouvellement rapide, directement issus de l'assimilation de CO_2 (amidon et sucres solubles) mais également des composés carbonés structuraux (Brendel, 2001) issus de voies de synthèse postérieures, soumis à des discriminations dont nous ne connaissons pas l'importance (les métabolites secondaires par exemple). La composition biochimique des aiguilles peut être variable entre espèces (Lajtha et Getz, 1993). L'extraction, la purification de l'amidon et la mesure de sa composition isotopique en ^{13}C permettent de vérifier que la discrimination isotopique détectée sur les aiguilles provient bien de la photosynthèse (Brugnoli et al, 1988). Nous obtenons, entre espèces, une variation des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ dans l'amidon, de même amplitude que celle des aiguilles entières. Les valeurs sont décalées vers des valeurs moins négatives (AIII, fig. 1) (de -21.25 à -27.1 ‰ au lieu de -23.85 à -27.82 ‰ respectivement pour *C. sempervirens* et *C. atlantica*). La corrélation entre $\delta^{13}\text{C}$ de l'amidon et des aiguilles entières permet d'affirmer que l'étude de la composition isotopique à l'échelle de l'aiguille est représentative des discriminations liées à la photosynthèse et à l'entrée de CO_2 dans l'aiguille. L'importance des décalages, variable entre espèces, n'est pas suffisante pour expliquer l'absence de relation $\delta^{13}\text{C}/W_i$.

- la discrimination du CO_2 pendant la diffusion entre l'atmosphère et le site de carboxylation peut être variable entre espèces. Les études sur la conductance mésophyllienne ont montré une grande variabilité de ce paramètre entre espèces (Evans et Von Caemmerer, 1996). L'équation de Farquhar (1982) (équation 8, chapitre II) nous permet de calculer une discrimination théorique en considérant cette conductance mésophyllienne comme infinie (résistance nulle) c'est à dire une concentration en CO_2 identique entre les cellules et les sites de carboxylation. Les différences qui existent entre une discrimination calculée et mesurée peuvent être expliquées par des différences de conductance mésophyllienne (AIII, fig. 4). Dans notre étude, *C. sempervirens* et *C. atlantica* ont des conductances mésophylliennes faibles par rapport aux pins (0.079 (0.004) $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ et 0.057 (0.001) $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ respectivement) ce qui signifie que pour une concentration en CO_2 atmosphérique et une conductance stomatique identique, la concentration interne en CO_2 sera plus faible chez *C. atlantica* et *C. sempervirens* que chez les pins, l'assimilation sera plus faible et donc W_i sera diminuée. La structure anatomique de *C. sempervirens* est très différente de celle des pins et pourrait expliquer en partie ces différences de diffusion interne du CO_2 .

Tableau 4-2 : Efficience intrinsèque d'utilisation de l'eau (A/g) chez *C. sempervirens*, *P. halepensis* et *P. nigra* mesurée en chambre climatisée à 25°C, à un VPD de 12.5 et 26.0 hPa et le pourcentage d'augmentation provoqué par le passage de 12.5 à 26.0 hPa. Chaque valeur est la moyenne (SEM) de 12 répétitions sur des plants différents. Des lettres différentes signifient des différences significatives (Duncan test $p=0.05$) entre espèces.

	Wi	Wi	pourcentage d'augmentation
	VPD=12.5 hPa	VPD=26.0 hPa	
<i>C. sempervirens</i>	31.7 (3.0) ^b	48.1 (3.2) ^b	51.7
<i>P. halepensis</i>	55.0 (3.5) ^a	86.9 (5.2) ^a	58.0
<i>P. nigra</i>	69.8 (3.4) ^a	93.8 (8.2) ^a	34.3

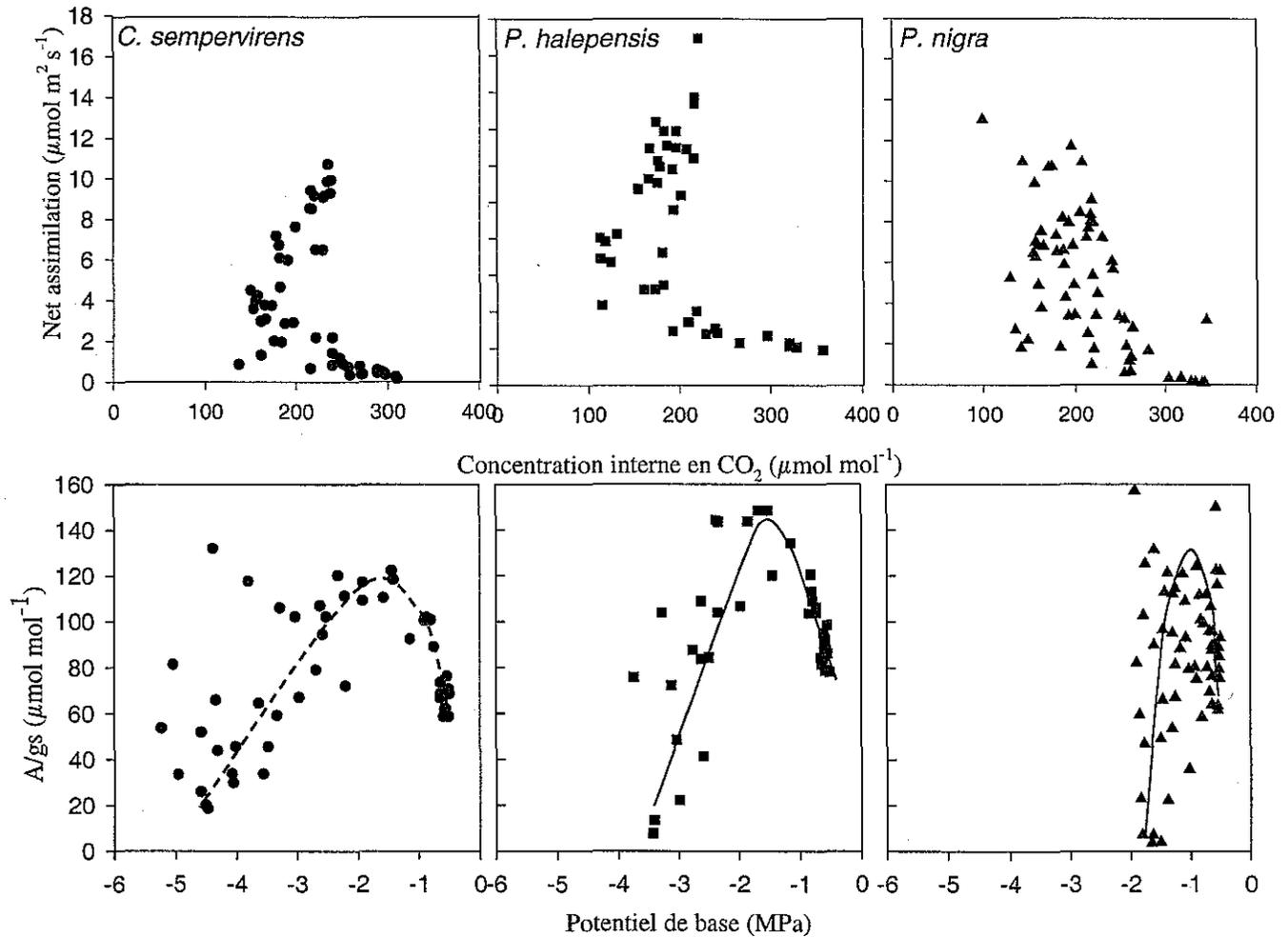
En interspécifique, la composition isotopique des aiguilles est significativement différentes entre les espèces, cette différence est maintenue dans les différentes conditions de cultures et confirmée par la composition isotopique de l'amidon. La discrimination isotopique du ^{13}C est un bon estimateur de l'efficacité d'utilisation de l'eau dans le cadre de comparaisons intraspécifiques, mais aucune relation entre W_i et $\delta^{13}\text{C}$ n'a été mise en évidence entre nos espèces.

3-2 Variabilité de W_i

Dans notre étude, l'efficacité d'utilisation de l'eau intrinsèque (A/g_s) a été affectée par différents facteurs. Le premier est la variation du déficit de pression de vapeur (VPD). L'augmentation du VPD de 12.5 hPa à 26.0 hPa a provoqué en quelques minutes une augmentation de A/g_s (tab. 4-2) suite à la diminution de conductance stomatique (A/g_s , tab. 5) comme dans l'étude de Day (2000) sur *Picea rubens*. Chez *P. nigra*, *P. halepensis* et *C. sempervirens*, la conductance stomatique a diminué respectivement de 47.1, 60.1 et 40.8% alors que la diminution de A n'est que de 29.9, 29.5 et 7.8%. La fermeture stomatique en réponse à l'augmentation du VPD a souvent été décrite (Darlington et al, 1997; Grantz, 1990; Sandford et Jarvis, 1986). Dans notre étude, le contrôle de la transpiration d'un rameau est différent selon les espèces: la transpiration diminue, reste stable ou augmente avec le déficit de saturation respectivement chez *P. halepensis*, *P. nigra* et *C. sempervirens*. Cette dernière espèce, présente également la plus faible efficacité d'utilisation de l'eau due en partie à une régulation stomatique peu efficace (ne permet pas de limiter la transpiration) par rapport aux pins.

Le second facteur de variation de l'efficacité d'utilisation de l'eau est la diminution de la disponibilité en eau du sol. Lorsque des plants se dessèchent lors d'un arrêt d'arrosage, quelle que soit l'espèce, nous assistons tout d'abord à l'augmentation de A/g_s (fig. 4-4) puis à sa chute assez rapide. La première partie correspond à la régulation stomatique des pertes d'eau, qui affecte l'assimilation dans une moindre mesure. Le maximum est dépendant des espèces, avec pour *C. sempervirens* un maximum de $120 \mu\text{mol mol}^{-1}$ pour un potentiel de base de -1.5 à -2.0 MPa. Chez *P. halepensis*, l'efficacité maximale est supérieure ($140 \mu\text{mol mol}^{-1}$) et atteinte au même potentiel. W_i chez *P. nigra*, espèce qui ferme ses stomates plus tôt atteint un maximum à un potentiel plus élevé (-1.0 à -1.5 MPa) et comparable en valeurs à *P. halepensis*. Lorsque la contrainte devient plus forte, l'efficacité d'utilisation de l'eau chute rapidement. Les courbes représentant l'assimilation nette de CO_2 en fonction de la concentration interne en CO_2 montrent une limitation non stomatique de l'assimilation comme cela a été précédemment décrit dans d'autres études (Picon et al 1996; Epron et Dreyer, 1993). Selon Ni et Pallardy (1991) sur des angiospermes, le développement d'une inhibition de l'assimilation au niveau mesophyllien pourrait participer à la limitation non stomatique de l'assimilation. Il est également probable que cette apparente limitation soit un artefact dû aux limites des mesures par Li-Cor 6200 (Epron et Dreyer, 1993).

Figure 4-4 : Evolution de l'assimilation nette de CO_2 en fonction de la concentration interne en CO_2 et de A/g_s en fonction du potentiel hydrique de base pendant un dessèchement total de plants en pot. Chaque point est une mesure, 6 plants différents ont été utilisés.



Les variations de W_i en réponse à l'augmentation de VPD et au dessèchement du sol sont des réactions immédiates à une contrainte hydrique, W_i peut retrouver rapidement les valeurs d'avant contrainte lorsque les plants retrouvent des conditions favorables. Une sécheresse modérée pendant la saison de végétation provoque une augmentation de W_i (AIV, Tab. 4). Lorsque nous avons placé les plants issus du traitement "SM" en condition de bonne disponibilité en eau pendant une semaine, leur efficacité d'utilisation de l'eau n'a pas été modifiée. La modification de W_i en réponse à une sécheresse modérée à long terme est donc une acclimatation qui n'est pas réversible à court terme. L'augmentation de W_i est due à une conductance stomatique plus faible chez les plants en sécheresse modérée (SM) par rapport aux témoins de 44.7% chez *C. sempervirens* et 46.6% chez *P. halepensis*. Encore une fois, cette diminution ne s'accompagne pas d'une diminution importante de l'assimilation (6.1 et 22.4% respectivement pour les deux espèces). Ces résultats laissent supposer que lorsque la disponibilité en eau n'est pas limitante pour la plante, elle a une consommation de luxe de l'eau. Par contre lorsque l'eau est plus difficilement extractible, la régulation stomatique devient plus "efficace". Cette faible conductance stomatique des plants acclimatés à une sécheresse modérée à long terme semble stable après retour à une alimentation hydrique optimale. Elle pourrait être due à une densité de stomates plus faibles. Cependant des densités stomatiques mesurées sur *Pinus pinaster* et *Quercus petraea* cultivés dans des conditions hydriques similaires aux nôtres ne mettent pas en évidence de telles différences (Guehl et al, 1994). Une autre hypothèse serait la teneur en acide abscissique foliaire: le traitement "SM" pourrait induire une teneur en ABA supérieure à celle des témoins, l'ABA empêcherait l'ouverture complète des stomates et limiterait la conductance stomatique maximale.

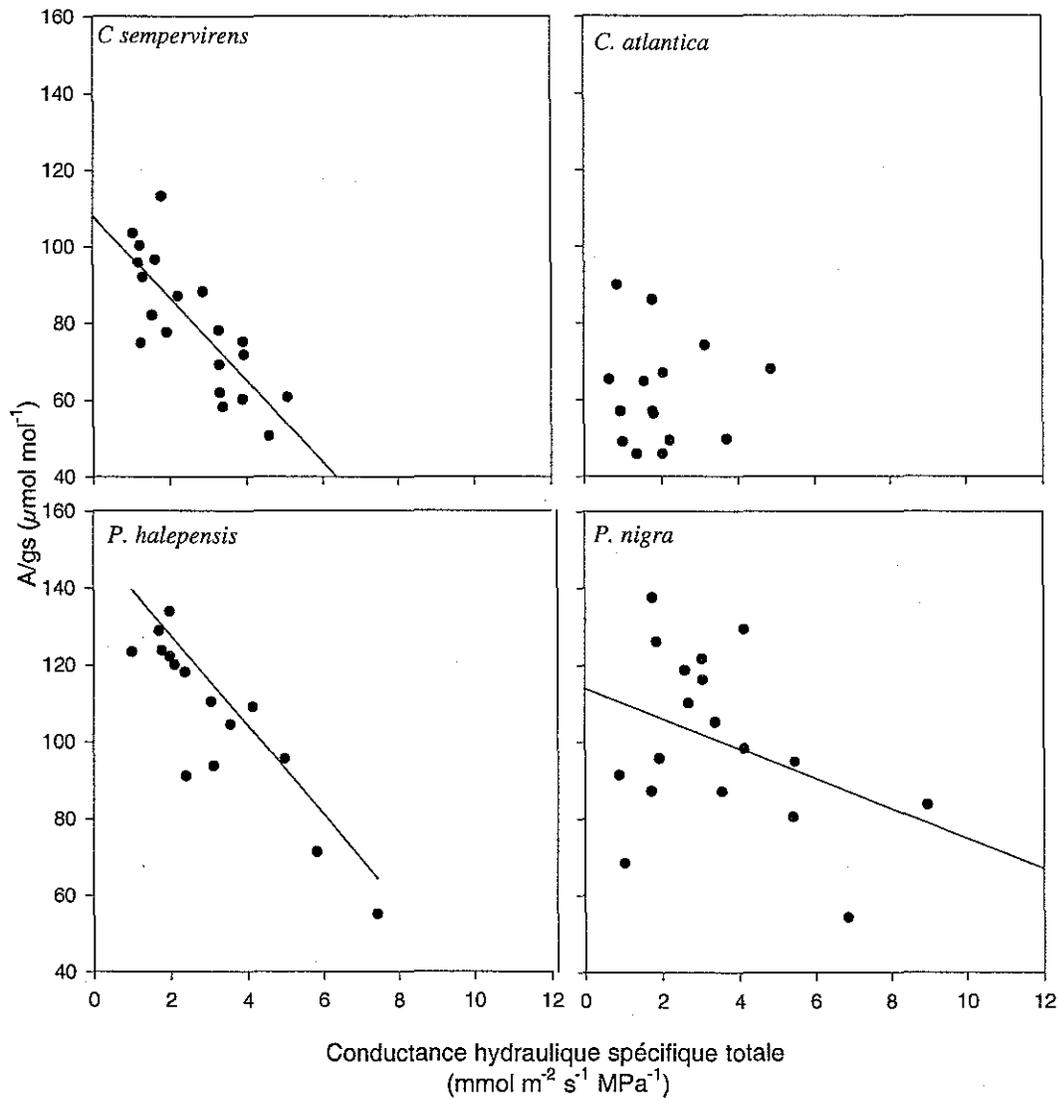
Dans nos différentes études, *C. sempervirens* a systématiquement présenté une efficacité d'utilisation de l'eau intrinsèque plus faible que *P. halepensis* et *P. nigra*. Cette faiblesse est liée à une assimilation plus faible malgré une conductance stomatique élevée. Les variations intraspécifiques de W_i sont majoritairement expliquées par les variations de conductance stomatique en conditions hydriques optimales ou de contrainte faible. Lorsque la contrainte est plus forte, les variations d'assimilation semblent avoir un rôle plus important.

3-3 Corrélation entre W_i et caractéristiques hydrauliques

D'une part, nous avons montré que la conductance stomatique était fortement corrélée à la conductance hydraulique des espèces et d'autre part qu'elle pouvait expliquer une partie des variations de l'efficacité d'utilisation de l'eau. Récemment, de nombreuses études ont montré que la conductance hydraulique semblait moduler la discrimination du ^{13}C (Ryan et Yoder, 1997; Hubbard et al, 1999). Cette relation a été montrée à différents niveaux:

- Variations intra-individus

Figure 4-5 : Relation intraspécifique entre le rapport A/g_s et la conductance hydraulique totale mesurés de manière indépendante. Chaque point est la moyenne de deux mesures de g_L et de 7 mesures de A/g_s sur un même individu en trois jours. La variabilité a été induite par différentes contraintes hydriques. La droite représente la régression linéaire, pour *C. sempervirens* ($r^2=0.63$), *C. atlantica*, *P. halepensis* ($r^2=0.49$) et *P. nigra* ($r^2=0.14$)



Dans la couronne d'un arbre, il existe une variabilité importante de la discrimination (Waring et Sylvester, 1994). Elle pourrait être partiellement expliquée par la variabilité de conductance hydraulique due à la longueur des rameaux. En effet, chez *P. radiata*, Walcroft et al (1996) ont montré que le feuillage de rameaux longs présentait un $\delta^{13}\text{C}$ moins négatif que celui des rameaux courts. Ils attribuaient cette variabilité à une plus grande résistance au flux d'eau dans les rameaux longs, entraînant une faiblesse de la conductance stomatique et du rapport C_i/C_a , d'où la valeur élevée de $\delta^{13}\text{C}$.

- Variations intraspécifiques

Chez *Pseudotsuga menziesii*, Panek (1996) explique 85% de la variation de $\delta^{13}\text{C}$ foliaire le long d'un gradient climatique par la variation des conditions environnementales et de la limitation hydraulique de la transpiration. $\delta^{13}\text{C}$ dans les feuilles est une fonction de l'assimilation nette et de la conductance stomatique (Farquhar et al, 1989). Les effets des limitations hydrauliques sur les deux processus doivent donc être considérés. La réduction de la conductivité spécifique foliaire, provoquant la réduction de l'assimilation nette, serait expliquée notamment par la présence d'éléments conducteurs embolisés (Sperry et Pockman, 1993) et par la densité du bois. Par l'intermédiaire de leurs effets sur A et g_s , les modifications de la conductivité hydraulique de rameaux provoquent des variations de la discrimination isotopique des feuilles de la partie distale. Cernusak et Marshall (2001), sur des branches de *Pinus monticola*, ont validé cette corrélation en éliminant les effets climatiques sur la plante. Ils ont fait varier artificiellement, par des entailles dans le xylème, la conductivité hydraulique des rameaux. Là encore une relation $\delta^{13}\text{C}$ /conductivité spécifique foliaire a été mise en évidence.

Notre étude nous permet de montrer l'existence de cette relation chez *P. halepensis* et *C. sempervirens* à une échelle instantanée (fig. 4-5). Il existe une relation linéaire négative entre la conductance hydraulique totale et A/g_s chez *C. sempervirens* et *P. halepensis*. Elle est faible chez *P. nigra* et inexistante chez *C. atlantica* dans nos conditions de mesures (Fig. 4-5). Une diminution de la conductance hydraulique totale est donc corrélée à une augmentation de W_i . Malgré l'effet de g_L sur l'assimilation nette, la conductance stomatique est le paramètre déterminant de la relation. L'absence de relation chez deux des espèces montre que la conductance hydraulique totale n'est pas le seul facteur explicatif de la variabilité de W_i . La pente de la relation A/g_s et g_L dépend fortement des espèces, ce qui laisse penser que les caractéristiques hydrauliques sont à l'origine de réponses différentes à une contrainte hydrique.

- Variations interspécifiques

La corrélation W_i / conductance hydraulique totale a été peu étudiée. Par analogie à celle existant en intraspécifique, nous avons émis l'hypothèse qu'une relation négative pouvait exister : les espèces à conductance hydraulique élevée présentent une assimilation nette et une conductance stomatique élevées qui implique une efficacité d'utilisation de l'eau faible. Pour les espèces à g_L faible, les tensions présentes dans le xylème induisent une limitation stomatique et donc une efficacité d'utilisation de l'eau élevée. La relation obtenue est inverse (AIII, fig. 5). Nous obtenons deux groupes d'espèces : d'une part *C. atlantica* et *C. sempervirens* qui ont de faibles efficacités de transfert et d'utilisation de l'eau et d'autre part, les pins avec des valeurs élevées d'efficacité. Le comportement de ces deux dernières espèces laisse penser que lorsque l'eau est abondante dans le substrat, elles profitent de leur capacité de transfert d'eau pour assimiler de manière importante. Une relation positive existe d'ailleurs entre assimilation et conductivité hydraulique chez certaines espèces tropicales (Meinzer, 1999). Nous n'expliquons ici qu'une faible partie des variations interspécifiques d'efficacité d'utilisation de l'eau par la conductance hydraulique totale, certainement car le nombre d'espèces et la gamme d'étude n'est pas assez large. La prise en compte dans notre hypothèse de la vulnérabilité à la cavitation des espèces pourrait apporter un complément. Nous n'avons pas trouvé d'étude comparable qui nous permettrait de valider ou non nos résultats, il est cependant évident que les caractéristiques hydrauliques influencent l'efficacité d'utilisation de l'eau.

En conclusion, d'une part la discrimination isotopique ne peut être utilisée comme indicateur d'efficacité d'utilisation de l'eau dans notre étude car la relation entre $\delta^{13}C$ et A/g n'est pas linéaire dans le cadre d'une comparaison interspécifique. D'autre part, nous avons pu montrer que entre espèces, la conductance hydraulique peut expliquer un faible pourcentage de l'efficacité d'utilisation de l'eau.

4- Adaptation des 4 espèces au milieu méditerranéen

4-1 Adaptation à la sécheresse: modèle intégré

Le choix initial des espèces avait pour but de comparer les caractéristiques écophysologiques d'espèces représentant une large gamme d'adaptation à une faible disponibilité en eau. Nos résultats confirment l'existence de comportements différents: *P. nigra* présente des spécificités d'une espèce évitante et *C. atlantica*, *P. halepensis* et *C. sempervirens* celles d'espèces tolérantes. Pour chaque espèce, nous allons résumer les principales caractéristiques et tenter de les intégrer dans le fonctionnement global de l'espèce.

P. nigra est une espèce évitante, elle présente une activité photosynthétique importante (assimilation nette élevée) tant qu'elle se trouve dans des conditions favorables. La période de croissance en hauteur de *P. nigra* se situe entre mars et juin, période favorable en milieu méditerranéen. La contrainte hydrique intervient à partir de juillet mais les caractéristiques hydrauliques de *P. nigra* (forte vulnérabilité et faible conductivité spécifique) implique qu'il évite la contrainte, en fermant ses stomates de manière précoce (potentiel hydrique foliaire proche de -1.7 MPa). A cette période, les assimilats de *P. nigra* ne sont plus nécessaires à la croissance en hauteur mais seulement à la croissance en diamètre et au maintien de l'activité des cellules, la fermeture stomatique précoce n'est donc pas trop néfaste pour la plante. *P. nigra* est une espèce économe en eau (Ks faible et transpiration limitée par une faible conductance stomatique). Pour être bénéfique, ce comportement d'économie de l'eau doit être couplé à une capacité de prélèvement d'eau importante (ce qui ne semble pas être le cas) ou de prélèvement à des profondeurs où les autres espèces n'ont pas accès car dans le cadre d'une compétition pour la ressource, *P. nigra* ne semble pas efficace. *P. nigra* est d'ailleurs décrit comme une espèce à racine profonde (Debazac, 1964), ses racines pourraient donc prospecter des couches des sols non accessibles pour les autres espèces.

P. halepensis est caractérisé par une forte conductivité hydraulique dans les différents organes et une conductance hydraulique totale qui lui permettent de supporter la transpiration sans que le potentiel hydrique foliaire ne diminue fortement. Cette espèce possède également une efficacité d'utilisation de l'eau élevée avec une assimilation plus forte que *P. nigra* et *C. sempervirens*, pour une conductance stomatique faible et un contrôle stomatique des pertes en eau efficace. Villar-Salvador et al (1999) ont également décrit cette forte assimilation qui lui assure une croissance rapide dans des

conditions hydriques favorables (plusieurs flushs successifs). *P. halepensis* présente également une faible vulnérabilité à la cavitation corrélée à une fermeture tardive des stomates qui lui assure un gain de carbone même lors de contraintes hydriques intenses. Ceci lui permet de coloniser des milieux laissés libres à la suite d'une exploitation forestière ou d'un incendie (Seigue, 1985) dans des zones méditerranéennes sèches. Le point négatif de cette consommation d'eau importante est que *P. halepensis* consomme rapidement l'eau présente dans le sol. La conductance hydraulique totale va diminuer, provoquant progressivement la fermeture des stomates. *P. halepensis* a un comportement d'envahisseur avec l'appropriation des réserves en eau pour une croissance rapide. Dans des conditions de compétition avec d'autres espèces, elle va être mieux placée que des espèces plus économes.

En conditions optimales, *C. sempervirens* présente une efficacité d'utilisation de l'eau faible avec une consommation d'eau importante (de luxe) pour une assimilation inférieure aux deux autres espèces. Sa faible conductivité hydraulique induit un fonctionnement à des potentiels hydriques foliaires plus faibles que *P. halepensis*. Lorsque l'eau devient moins disponible dans le sol, son potentiel hydrique chute rapidement. Une vulnérabilité faible à la cavitation et une fermeture stomatique totale tardive à des potentiels de l'ordre de -4.6 MPa permettent le maintien de l'assimilation nette pendant la sécheresse. La marge de sécurité entre la fermeture des stomates et le potentiel seuil de cavitation est importante pour l'intégrité du xylème. Cette intégrité lui permet d'être efficace dès le retour de conditions favorables. Cette espèce présente une vulnérabilité à la cavitation proche de celle de *P. halepensis* mais leur comportement est radicalement opposé: *P. halepensis* consomme beaucoup d'eau dans le but de produire une grande quantité d'assimilats avant l'arrivée de conditions moins favorables alors que *C. sempervirens* a une attitude plus passive avec une perte d'eau moins contrôlée que dans le cas de *P. halepensis*.

Concernant *C. atlantica*, seulement quelques expérimentations ont pu être menées avec cette espèce, ce qui ne nous permet pas d'apporter énormément de précisions sur son comportement. En ce qui concerne les caractéristiques hydrauliques, il présente une vulnérabilité intermédiaire entre *P. nigra*, *C. sempervirens* et *P. halepensis* (-3.8 MPa) et une conductivité spécifique faible. Ladjal (2001) a montré, dans des conditions similaires aux nôtres, pendant une sécheresse drastique, une fermeture stomatique quasi totale à un potentiel hydrique de base proche de -3.0 MPa. A ce potentiel, le xylème a perdu entre 10 et 20% de sa conductivité, la marge de sécurité est donc très faible chez *C. atlantica*.

4-2 Acclimatation?

En région méditerranéenne, la disponibilité en eau varie de manière saisonnière: un été sec et chaud succède à un hiver plus humide (Seigue, 1985). Les espèces subissent ainsi des périodes de contraintes hydriques en alternance avec des périodes plus favorables. Le passage d'une condition à l'autre est progressif ce qui peut permettre à la plante de s'acclimater à la contrainte soit en optimisant l'utilisation

Tableau 4-3 : Tableau récapitulatif des effets d'une sécheresse modérée à long terme sur *C. sempervirens*, *P. halepensis* et *P. nigra*. Les caractéristiques ont été classées en terme de croissance, caractéristiques hydrauliques, échanges gazeux et réaction à une contrainte à court terme. Les valeurs (SEM) sont les moyennes et erreur sur la moyenne de 6 à 12 mesures, S et NS indiquent la significativité ou non des différence entre traitement témoin (T) bien alimenté en eau et MD, sécheresse modérée de 4 mois ($p < 5\%$, Test de Duncan).

	<i>C. sempervirens</i>			<i>P. halepensis</i>			<i>P. nigra</i>		
	T	MD	effet	T	MD	effet	T	MD	effet
Croissance hauteur (cm)	48.1	23.6	S	83.5	49.4	S	14.6	14.0	NS
Croissance diamètre (mm)	8.2	4.3	S	9.5	4.0	S	2.2	1.7	NS
Huber Value	20.3 (2.00)	23.1 (5.2)	NS	23.9 (2.5)	25.5 (9.2)	NS	16.8 (5.5)	17.2 (5.8)	NS
Ks tige	19.82 (2.58)	28.45 (7.16)	NS	32.38 (7.04)	45.76 (7.20)	NS	20.98 (3.09)	14.99 (1.55)	NS
Ks racine	38.21 (4.61)	45.14 (6.62)	NS	42.00 (4.89)	34.59 (7.93)	NS	48.41 (6.01)	39.51 (7.32)	NS
Ψ_{PLC50} tige	-5.80 (0.73)	-5.83 (0.88)	NS	-5.22 (0.64)	-4.88 (0.51)	NS	-2.63 (0.14)	-2.60 (0.37)	NS
Ψ_{PLC50} racine	-2.81 (0.54)	-3.18 (0.71)	NS	-3.49 (0.64)	-1.79 (0.99)	NS	-1.68 (0.20)	-1.60 (0.14)	NS
A/gs	31.7 (3.0)	55.7 (5.0)	S	55.0 (3.5)	81.0 (6.2)	S	69.8 (3.4)	75.9 (5.7)	NS
A max	6.70 (0.55)	6.29 (0.13)	NS	8.39 (0.60)	6.50 (0.84)	S	8.95 (0.87)	7.91 (0.65)	NS
gs max	0.216 (0.010)	0.121 (0.009)	S	0.155 (0.009)	0.083 (0.006)	S	0.128 (0.011)	0.111 (0.012)	NS
$\Psi_{gs=10\%}$	-4.6 (0.2)	-4.4 (0.2)	NS	-3.2 (0.1)	-2.9 (0.1)	NS	-1.7 (0.1)	-1.6 (0.1)	NS
Récupération après dessèchement	.	.	S	.	.	S	.	.	S

des ressources lorsqu'elles sont disponibles (Pereira et Chaves, 1993) ou en modifiant son fonctionnement global.

Chez les plants acclimatés à une sécheresse modérée, nous nous attendions à des modifications fonctionnelles telles que les caractéristiques hydrauliques. En fait aucune acclimatation de la vulnérabilité n'a été constatée et la conductivité hydraulique n'est pas affectée de manière systématique. Par contre, on note de manière générale une tendance à la diminution de la consommation en eau qui sera donc disponible plus longtemps dans le sol si la plante n'est pas en compétition avec des espèces à comportement différent. L'indice le plus évident est la croissance plus faible chez les plants "SM", et l'augmentation de l'efficacité d'utilisation de l'eau intrinsèque (A/g_s) que l'on constate dans chacune des expérimentations. Pour une quantité d'assimilats fixée, les plants en sécheresse modérée consommeront moins d'eau. En conditions de sécheresse atmosphérique, g_s plus faible (AIV, tab. 5) permet en plus de maintenir un potentiel hydrique foliaire élevé. Au niveau de la plante entière, la diminution de la disponibilité en eau du sol provoque la diminution des conductances hydrauliques à l'interface sol-racine et donc de la conductance hydraulique totale qui contrôle en partie la transpiration (Meinzer et Grantz, 1990 ; Sperry *et al.*, 1993). Pour les trois espèces, on note une tendance à l'augmentation du coefficient de Huber value: pour une même surface conductrice, la surface foliaire à alimenter en eau est plus faible, les tensions vont donc être moins fortes au niveau des feuilles (Mencuccini et Grace, 1995; Villar-Salvador *et al.*, 1997). Les résultats concernant les modifications induites par une sécheresse modérée de 4 mois sont résumées dans le tableau 4-3.

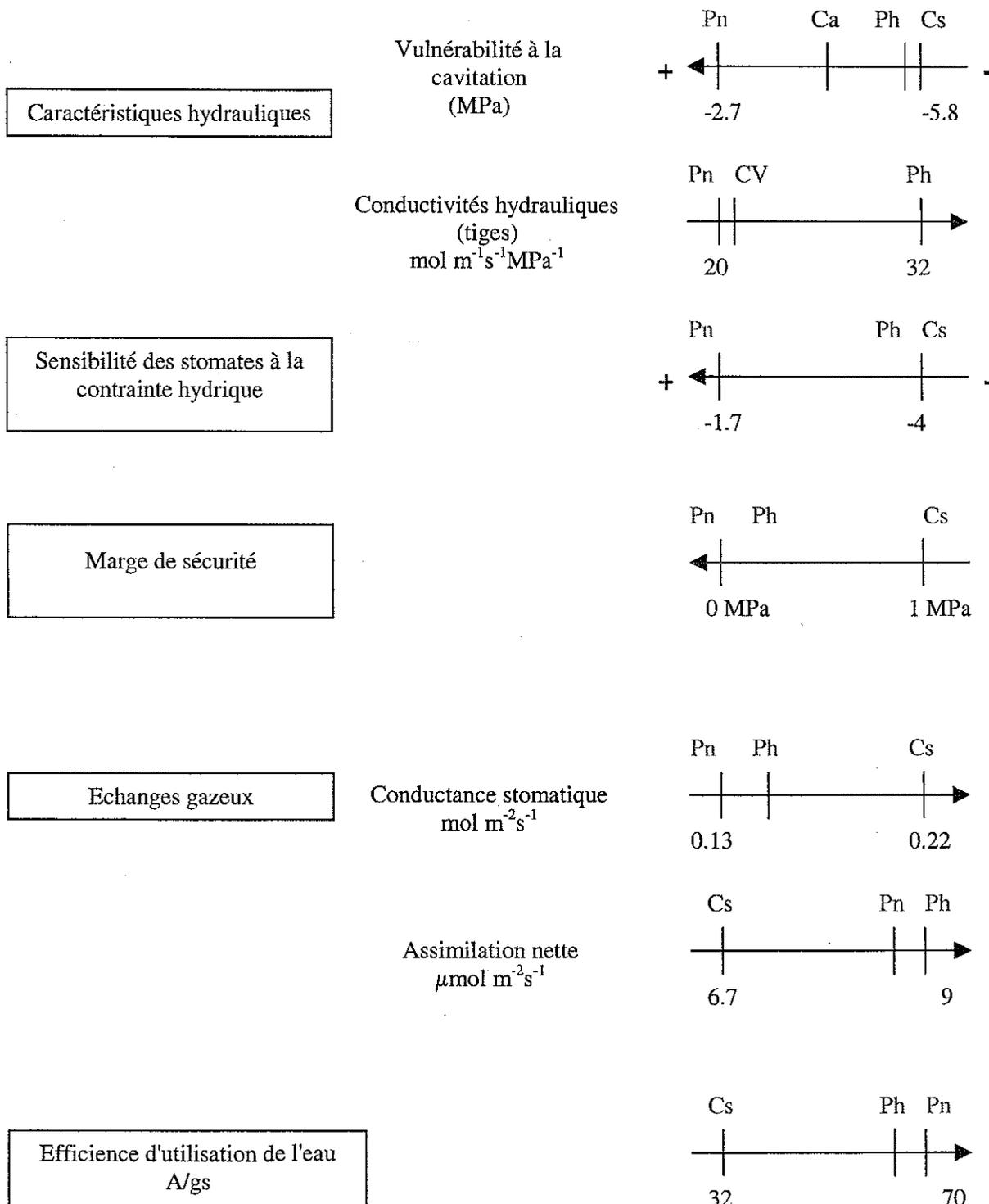
Une acclimatation par une sécheresse modérée pendant toute la saison de végétation permet à *P. halepensis* d'une part de diminuer ses pertes en eau, d'autre part d'augmenter sa conductivité hydraulique dans les tiges ce qui lui permet de maintenir des tensions faibles dans les feuilles. Ces modifications contribuent à maintenir l'assimilation plus longtemps pendant le dessèchement. Cette espèce semble optimiser la disponibilité en eau dans le sol et se mettre en position d'attente pendant une contrainte drastique.

Chez *P. nigra*, l'évitement semble accentué par l'acclimatation à une sécheresse modérée. En effet, l'augmentation de K_s provoque des tensions plus importantes mais également une consommation plus lente de l'eau du substrat. Ce comportement est intéressant pour cette espèce qui prélève l'eau dans des horizons profonds grâce à un système racinaire développé. *P. nigra* peut donc être en concurrence avec des espèces plus consommatrices qui prélèvent l'eau en surface.

Chez *C. sempervirens*, l'acclimatation induite par une sécheresse modérée à long terme ne semble modifier que la consommation en eau par la limitation stomatique. *C. sempervirens* améliore sa tolérance à la contrainte hydrique seulement en limitant ses pertes en eau.

*L'acclimatation à une sécheresse modérée induit des modifications qui vont dans le sens d'une économie d'eau. Nous pouvons séparer des effets dimensionnels (expliqué par des différences de croissance) de changements fonctionnels réellement liés à une acclimatation (diminution de l'assimilation nette de CO₂ par exemple). La vulnérabilité à la cavitation ne présente pas d'acclimatation et le comportement général des espèces est peu modifié à part une augmentation de l'évitement pour *P. nigra* et de la tolérance pour *P. halepensis*.*

Figure 4-7 : Représentation schématique du classement des 4 espèces en fonctions des différents paramètres étudiés: caractéristiques hydrauliques, régulation stomatique et échanges gazeux avec Ca: *Cedrus atlantica*, Cs *Cupressus sempervirens*, Ph: *Pinus halepensis* et Pn: *Pinus nigra*



Conclusions générales et perspectives

Notre étude apporte des éléments à la compréhension de l'adaptation des quatre espèces étudiées (*Cedrus atlantica*, *Cupressus sempervirens*, *Pinus halepensis* et *Pinus nigra*) au milieu méditerranéen notamment par leur comportement pendant une sécheresse. Les comportements de tolérance et d'évitement en réponse à la sécheresse ne sont pas des comportements radicalement opposés. Nous observons une gamme de tolérances variables allant des espèces très vulnérables à la cavitation avec une fermeture stomatique précoce à des espèces peu vulnérables qui maintiennent une assimilation nette jusqu'à des niveaux de dessèchement du sol important. En plus d'une gamme de caractéristiques hydrauliques, une large gamme de différences a également été mise en évidence entre espèces en terme d'efficacité intrinsèque d'utilisation de l'eau, de discrimination isotopique du ^{13}C et d'échanges gazeux.

Les espèces représentent une large gamme de vulnérabilité à la cavitation et de conductivités hydrauliques. Cependant aucune compensation entre les deux paramètres a été mise en évidence. La conductivité hydraulique est directement liée à l'anatomie des éléments conducteurs du xylème mais les différences de vulnérabilité à la cavitation restent inexplicables. Une étude anatomique plus fine au niveau des ponctuations dans les trachéides (flexibilité des microfibrilles d'hémicellulose) semble nécessaire pour répondre à cette question.

Nous avons pu mettre en évidence une corrélation intraspécifique négative entre l'efficacité d'utilisation de l'eau et la conductance hydraulique totale qui allait dans le sens de nos hypothèses. Cette corrélation est faible entre espèces, de plus la pente de la relation est inattendue puisqu'elle est positive. D'autres expérimentations sont nécessaires pour infirmer ou confirmer ces résultats sur les phénotypes étudiés mais également sur d'autres phénotypes et d'autres espèces. La validation des résultats peut passer par un changement de méthode. Le HPFM (Flux-Mètre à Haute Pression) permet des mesures de conductances hydrauliques plus précises que la méthode des flux. Nous avons testé le HPFM mais nous nous sommes heurté à différents problèmes. Le plus important est la présence de canaux résinifères libérant de la résine qui va obstruer les trachéides au niveau de la section de la tige. De nombreuses adaptations sont nécessaires pour obtenir des mesures représentatives.

Nous avons montré qu'entre espèces, dans notre cas, il n'existe pas de relation $\delta^{13}\text{C} - A/g_s$. Ceci peut être expliqué, en partie, par les différences de conductance mésophyllienne pour le CO_2 dans les feuilles de *C. sempervirens* et *C. atlantica* par rapport aux pins. Ce résultat est important dans le cadre de l'étude interspécifique de la discrimination comme estimateur de l'efficacité d'utilisation de l'eau. Il

impose une vérification de la relation avant toute extrapolation. Ceci est d'autant plus vrai dans le cadre de comparaison entre espèces anatomiquement éloignées : *C. sempervirens* possède des écailles, il a été comparé à des espèces à aiguilles.

Il faut garder en mémoire que nous avons travaillé sur des plants en pots. Dans ces conditions de culture, la croissance racinaire peut être affectée limitant le prélèvement d'eau et ainsi la croissance de la plante entière. Les caractéristiques mesurées pendant cette étude sont donc vrais pour le cas de jeunes plants en pots. Il est nécessaire de valider nos résultats sur le terrain par l'étude de plants en plantation comparative par exemple. L'étude de plants en pots permet un contrôle précis de la disponibilité en eau, cependant elle ne permet pas de connaître le comportement des espèces en conditions de concurrence pour la ressource en eau. Nous pouvons imaginer, d'après nos résultats, que lorsque *P. nigra* et *P. halepensis* sont en concurrence pendant une sécheresse, *P. nigra*, limite sa consommation en eau de manière précoce alors que *P. halepensis* épuise la ressource pendant qu'elle est disponible. Si les deux espèces prélèvent l'eau au même endroit du sol, *P. nigra* atteindra vite son potentiel critique. La qualité de la prospection des racines (dans des directions horizontale et verticale) sera donc décisive.

Notre étude met également en évidence l'absence d'acclimatation des caractéristiques hydrauliques et notamment de la vulnérabilité à la cavitation à une sécheresse modérée à long terme appliquée dès la période du débourrement. Dans ces conditions, seules les intensités photosynthétiques et le niveau de conductance stomatique sont diminués, ce qui va dans le sens d'une économie de l'eau.

Nos résultats ont confirmé que les facteurs contrôlant la conductance stomatique sont la conductance hydraulique lorsque les conditions hydriques sont optimales et la combinaison de la conductance hydraulique et de la vulnérabilité à la cavitation lorsque les conditions sont limitantes en eau. Une des perspectives de cette étude est la modélisation des limitations apportées par les caractéristiques hydrauliques au fonctionnement stomatique dans le cas bien défini de chacune des espèces. Sperry et al (1998) ont développé un tel modèle. Il prend en compte différents paramètres tels que la transpiration, la surface foliaire, le potentiel hydrique dans le sol et dans la plante, la quantité d'eau dans le sol et la vulnérabilité à la cavitation dans le xylème des tiges et des racines. Ces paramètres permettent de déterminer la transpiration maximale et le potentiel hydrique foliaire minimum. Les 4 espèces étudiées sont intéressantes car elles représentent les divers comportements possibles pendant une sécheresse, les classements des espèces par paramètres mesurés sont résumés sur la figure 4-7. D'autres paramètres devraient être pris en compte dans ce type de modèle et

notamment la marge de sécurité qu'il existe entre le potentiel de fermeture stomatique et celui induisant une embolie dans le xylème.

Un des résultats importants de ce travail est la plus forte vulnérabilité à la cavitation des racines par rapport aux tiges qui suggère que la régulation stomatique ne permet pas le maintien de l'intégrité du système racinaire pendant une contrainte drastique. Cette forte vulnérabilité a été confirmée d'une part, par la méthode de centrifugation sur *P. nigra* et d'autre part, en milieu naturel près d'Aix en Provence (13) sur *P. halepensis* par Roland Huc et Steeve Hallgreen (INRA d'Avignon). D'autres vérifications sont nécessaires notamment sur les autres espèces. Si on admet la plus forte vulnérabilité des racines, il se pose la question de la survie de la plante avec un tel taux d'embolie. L'hypothèse controversée de la reversion de l'embolie est peut être une piste pour la réponse à cette question. Il faut également tenir compte du fait que le trajet de l'eau dans les racines est en majorité extrafasciculaire et que cette partie du trajet est plus sensible à la diminution de la disponibilité en eau que le reste de la plante.

Avant la perte de conductivité dans le xylème des racines, il existe une diminution de la conductivité à l'interface sol-racine qui provoque l'augmentation des tensions qui se transmet de proche en proche jusqu'aux feuilles et provoque la fermeture stomatique. Notre étude va dans le sens de l'existence d'un signal racinaire a priori hydraulique qu'il serait intéressant de développer.

La vulnérabilité à la cavitation des aiguilles n'a pas été citée dans ce mémoire. Un travail préliminaire a été effectué à Clermont Ferrand avec Hervé Cochard par la technique de cryo-MEB. Pendant un cycle de dessèchement d'un plant, des aiguilles ont été prélevées à différents potentiels hydriques. Elles ont ensuite été soit directement congelées à -180°C soit plongées quelques minutes dans l'eau pour relâcher les tensions avant congélation. L'observation a été faite à -100°C après cryo-fracture de l'aiguille. Les premiers résultats ont montré que le xylème des aiguilles était collapsé mais non embolisé à des tensions faibles allant de -2.5 MPa à -4.0 MPa . A des potentiels hydriques plus faibles le xylème a repris sa forme initiale et les trachéides étaient pour la majorité vides. Ces résultats suggèrent une faible vulnérabilité à la cavitation des aiguilles par rapport aux tiges. De plus la déformation des trachéides pourrait être à l'origine d'une résistance importante aux flux d'eau. Ces résistances sont souvent attribuées en majeure partie au trajet extravasculaire dans les racines. Ce résultat est surprenant car sur le noyer (espèce à feuilles caduques), les pétioles des feuilles sont plus vulnérables à la cavitation. Pendant une sécheresse, la transpiration est limitée dans un premier temps par la fermeture des stomates puis par la chute des feuilles. Chez *P. nigra*, la déformation des trachéides des aiguilles pourrait également limiter la transpiration. Il est donc intéressant d'étudier en détail la vulnérabilité à la cavitation de cet organe.

Références bibliographiques

- Alder N.N., Pockman W.T., Sperry J.S., Nuismer S. 1997. Use of centrifugal force in the study of xylem cavitation. *Journal of Experimental Botany* 48, 665-674.
- Alder N.N., Sperry J.S., Pockman W.T. 1996. Root and stem xylem embolism, stomatal conductance, and leaf turgor in *Acer grandidentatum* populations along a soil moisture gradient. *Oecologia* 105, 293-301.
- Améglio T., Archer P., Cohen M., Valancogne C., Daudet F.A., Dayau S., Cruiziat P. 1999. Significance and limits in the use of predawn leaf water potential for tree irrigation. *Plant and Soil* 207, 155-167.
- Aussenac G., Finkelstein D. 1983. Influence de la sécheresse sur la croissance et la photosynthèse du cèdre. *Annales des Sciences Forestières* 40, 67-77.
- Aussenac G., Granier A. 1978. Quelques résultats de cinétique journalière du potentiel de sève chez les arbres forestiers. *Annales des sciences forestières* 35, 19-32.
- Aussenac G., Valette J.C. 1982. Comportement hydrique estival de *Cedrus atlantica Manetti*, *Quercus ilex* et *Quercus pubescens wild* et de divers pins du Mont Ventoux. *Annales des Sciences Forestières* 39, 41-62.
- Becker P., Tyree M.T., Tsuda M. 1999. Hydraulic conductances of angiosperms versus conifers : similar transport sufficiency at whole-plant level. *Tree Physiology* 19, 445-452.
- Bock J. 1997. Etude de la vulnérabilité à l'embolie et du comportement stomatique de quelques espèces ligneuses méditerranéennes des genres : *Cedrus*, *Cupressus* et *Quercus*. Mémoire de DEA, Université Henri Poincaré, Nancy I. 5-12.
- Bond B.J., Kavanagh K.L. 1999. Stomatal behavior of four woody species in relation to leaf specific hydraulic conductance and threshold water potential. *Tree Physiology* 19, 503-510.
- Borghetti M., Cinnirella S., Magnani F. 1998. Impact of long term drought on xylem embolism and growth in *Pinus halepensis Mill.* *Trees* 12, 187-195.

- Borghetti M., Edwards W.R.N., Grace J., Jarvis P.G., Raschi A. 1991. The refilling of embolized xylem in *Pinus sylvestris* L. *Plant, Cell and Environment* 14, 357-369.
- Bray, E. 1997. Plant responses to water deficit. *Trend in Plant Science*. 2, 48-54.
- Breda N., Granier A., Barataud F., Moyne C. 1995. Soil water dynamics in an oak stand. I. Soil moisture, water potentials and water uptake by roots. *Plant and Soil* 172.
- Brendel O. 2001. Does bulk-needle $\delta^{13}\text{C}$ reflect short-term discrimination? *Annals of Forest Science* 58, 135-141.
- Brodribb T.J., Hill R.S. 1999. The importance of xylem constraints in the distribution of conifer species. *New Phytologist* 143, 365-372.
- Brugnoli E., Hubick K.T., Von Caemmerer S., Wong S.C., Farquhar G.D. 1988. Correlation between isotopic discrimination in leaf starch and sugars of the ratio of C_3 plants and the ratio of intercellular and atmospheric partial pressure of carbon dioxide. *Plant Physiology* 88, 1418-1424.
- Butler, W.L. 1978. Energy distribution in the photochemical apparatus of photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology* 29, 345-378.
- Calamassi R., Della Rocca G., Falusi M., Paoletti E., Strati S. 2001. Resistance to water stress in seedlings of eight European provenances of *Pinus halepensis* Mill. *Annals of Forest Science* 58, 663-672.
- Canny M.J. 1995. A new theory for the ascent of sap-Cohesion supported by tissue pressure. *Annals of Botany* 75, 343-357.
- Canny M.J. 1998. Applications of the compensating pressure theory of water transport. *American Journal of Botany* 85, 897-909.
- Cernusak L.A., Marshall J.D. 2001. Responses of foliar $\delta^{13}\text{C}$, gas exchange and leaf anatomy to reduced hydraulic conductivity in *Pinus monticola* branches. *Tree Physiology* 21, 1215-1222.
- Cochard H. 1992. Vulnerability of several conifers to air embolism. *Tree Physiology* 11, 73-83.
- Cochard H., Améglio T., Cruiziat P. 2001. The cohesion theory debates continues. *Trends in Plant Science* 6, 13.
- Cochard H., Bodet C., Améglio T., Cruiziat P. 2000. Cryo-SEM observations of vessel content during transpiration in walnut petioles : facts or artefacts ? *Plant Physiology* 124, 1191-1202.
- Cochard H., Bréda N., Granier A. 1996. Whole tree hydraulic conductance and water loss regulation

- in *Quercus* during drought: evidence for stomatal control of embolism? *Annals of Forest Science* 53, 197-206.
- Cochard H., Coll L., Le Roux X., Améglio T. 2002. Unraveling the effects of plant hydraulics on stomatal closure during water stress in walnut. *Plant Physiology* 128, 282-290.
- Cochard H., Cruiziat P., Tyree M.T. 1992. Use of positive pressure to establish vulnerability curves. *Plant Physiology* 100, 205-209.
- Cochard H., Lemoine D., Dreyer E. 1999. The effects of acclimation to sunlight on the xylem vulnerability to embolism in *Fagus sylvatica* L. *Plant, Cell and Environment* 22, 101-108.
- Cowan I.R. 1986. Economics of carbon fixation in higher plants. In *On the economy of plant form and fonction.* eds T. J. Givnish, pp. 133-170. Cambridge University Press, Cambridge.
- Crombie D.S. Milburn J.A. Hipkins M.F. 1985. Maximum sustainable xylem sap tensions in *Rhododendron* and other species. *Planta* 163, 27-33.
- Darlington A.B., Halinska A., Dat J.F., Blake T.J. 1997. Effects of increasing saturation vapour pressure deficit on growth and ABA levels in black spruce and jack pine. *Trees* 11, 223-228.
- Day M.E. 2000. Influence of temperature and leaf-to-air vapor pressure deficit on net photosynthesis and stomatal conductance in red spruce (*Picea rubens*). *Tree Physiology* 20, 57-63.
- Debazac E.F. 1964. Manuel des conifères. 2ème édition, ENGREF, 1977, 172 p.
- Deleens E., Barthes L., Prioul J.L. 1993. Modélisation du fractionnement isotopique du flux de C photosynthétique chez les végétaux à métabolisme C3 et C4 et les applications obtenues en chambre d'assimilation. In *Utilisation des isotopes stables pour l'étude du fonctionnement des plantes.* Eds INRA. Paris (France). pp. 43-64.
- Dickison W.C. 2000. Integrative plant anatomy. Harcourt, 531 p. Academic Press.
- Dixon H.H., Joly J. 1894. On the ascent of sap. *Philosophical Transactions of the Royal Society, London. Serie B* 186, 563-576.
- Ducrey M. 1988. Réaction à la sécheresse de quelques espèces forestières méditerranéennes. *Revue Forestière Française* 15, 371-380.
- Ducrey M., Duhoux F., Huc R., Rigolot E. 1996. The ecophysiological and growth responses of allepo pine (*Pinus halepensis*) to controlled heating applied to the base of the trunk. *Canadian Journal of Forest Research* 26, 1366-1374.

- Ehleringer J. R., Cooper, T. A. 1988. Correlation between carbon isotope ratio and microhabitat in desert plants. *Oecologia* (Berlin), 76: 562-566.
- Ehleringer J.R., Smedley M.P. 1987. Stomatal sensitivity and water use efficiency in oaks and their hybrids. In Symposium on shrub Ecophysiology and Botany. Eds pp. 98-102. Logan (UT).
- Epron D., Dreyer E. 1993. Photosynthesis of oak leaves under water stress: maintenance of high photochemical efficiency of photosystem II and occurrence of non-uniform CO₂ assimilation. *Tree physiology* 13, 107-117.
- Evans J.R., Sharkey T.D., Berry J.A., Farquhar G.D. 1986. Carbon isotopic discrimination measured concurrently with gas exchange to investigate CO₂ diffusion in leaves of higher plants. *Australian Journal of Plant Physiology* 13, 281-292.
- Evans J.R., Von Caemmerer S. 1996. Carbon dioxide diffusion inside leaves. *Plant Physiology* 110, 339-346.
- Ewers F.W., North G.B., Nobel P.S. 1992. Root-stem junctions of a desert monocotyledon and a dicotyledon: hydraulic consequences under wet conditions and during drought. *New Phytologist* 121, 377-385.
- Farquhar G.D. 1978. Feedforward responses of stomata to humidity. *Australian Journal of Plant Physiology* 5, 787-800.
- Farquhar G.D., Ehleringer J.R., Hubick K.T. 1989. Carbon isotopic discrimination and photosynthesis. *Annual Reviews of Physiology and Plant Molecular Biology* 40, 503-537.
- Farquhar G.D., O'Leary M.H., Berry J.A. 1982. On the relationship between carbon isotopic discrimination and intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Australian Journal of Plant Physiology* 9, 121-137.
- Farquhar G., Richard R.A. 1984. Isotopic composition of plant carbon correlates with water use efficiency of wheat genotypes. *Australian Journal of Plant Physiology* 11, 539-552.
- Fisher J.B., Guillermo A.A., Ewers F.W., Lopez-Portillo J. 1997. Survey of root pressure in tropical vines and woody species. *International Journal of Plant Sciences* 158, 44-50.
- Frensch J., Steudle E. 1989. Axial and radial hydraulic resistance to roots of maize (*Zea mays L.*). *Plant Physiology* 91, 719-726.
- Flanagan L.B., Johnsen K.H. 1995. Genetic variation in carbon isotopic discrimination and its relationship to growth under field conditions in full-sib families of *Picea mariana*. *Canadian*

- Journal of Forest Research 25, 39-47.
- Grantz D.A. 1990. Plant response to atmospheric humidity. *Plant, Cell and Environment* 13, 667-679.
- Guehl J.-M., Nguyen-Queyrens A., Loustau D., Ferhi A. 1995. Genetic and environmental determinants of water use efficiency and carbon isotope discrimination in forest trees. In EUROSYLVA. Contribution to forest tree physiology. Colloques n°76. Nov 1994. Eds INRA, Dourdan pp. 297-321. .
- Guehl J.-M., Picon C., Aussenac G., Gross P. 1994. Interactive effects of elevated CO₂ and soil drought on growth and transpiration efficiency and its determinants in two European forest tree species. *Tree Physiology* 14, 707-724.
- Guehl J.-M., Picon C., Senequier C. 1993. Discrimination isotopique et efficience d'utilisation de l'eau chez les arbres forestiers. In Utilisation des isotopes stables pour l'étude du fonctionnement des plantes Eds INRA, Paris (France),pp. 84-101
- Guyon J.-P. 1986. Influence du climat sur l'expression des composantes de la croissance en hauteur chez le pin noir d'Autriche (*Pinus nigra Arn. ssp nigricans*). *Annales des Sciences Forestières* 43, 207-226.
- Hacke U., Sauter J.J. 1996. Drought-Induced xylem dysfunction in petioles, branches, and roots of *Populus balsamifera L.* and *Alnus glutinosa (L.) Gaertn.* *Plant Physiology* 111, 413-417.
- Hargrave K.R., Kolb K.J., Ewers F.W., Davis S.D. 1994. Conduit diameter and drought-induced embolism in *Salvia mellifera Greene (Labiatae)*. *New Phytologist* 126, 695-705.
- Henson I.E., Jensen C.R., Turner N.C. 1989. Leaf gas exchange and water relations of Lupins and Wheat. I. Shoot Responses to soil water deficits. *Australian Journal of Plant Physiology* 16, 401-413.
- Holbrook N.M., Burns M.J., Field C.B. 1995. Negative Xylem Pressure in Plants : A test of Balancing Pressure technique. *Science* 270, 1193-1194.
- Holbrook N.M., Zwieniecki M.A. 1999. Embolism Repair and Xylem Tension : Do We Need a Miracle ? *Plant Physiology* 120, 7-10.
- Huang B. 2000. Role of root morphological and physiological characteristics in drought resistance of plants. In *Plant-Environment Interactions*. eds R. E. Wilkinson, pp. 39-64. Marcel Dekker, Griffin, Georgia.
- Hubbard R.M., Bond B.J., Ryan M.G. 1999. Evidence that hydraulic conductance limits

- photosynthesis in old *Pinus ponderosa* trees. *Tree Physiology* 19, 165-172.
- Irvine J., Perks M.P., Magnani F., Grace J. 1998. The response of *Pinus sylvestris* to drought: stomatal control of transpiration and hydraulic conductance. *Tree Physiology* 18, 393-402.
- Jones H.G., Sutherland R.A. 1991. Stomatal control of xylem embolism. *Plant, Cell and Environment* 14, 607-612.
- Kavanagh K.L., Bond B.J., Aitken S.N., Gartner B.L., Knowe S. 1999. Shoot and root vulnerability to xylem cavitation in four populations of Douglas-fir seedlings. *Tree Physiology* 19, 31-37.
- Kloeppel B.D., Gower S.T., Treichel I.W., Kharuk S. 1998. Foliar carbon isotopic discrimination in *Larix* species and sympatric evergreen conifers: a global comparison. *Oecologia* 114, 153-159.
- Knight J.D., Livingston N.J., Van Kessel C. 1994. Carbon isotopic discrimination and water-use efficiency of six crops grown under wet and dryland conditions. *Plant Cell and Environment* 17, 173-179.
- Kolb T.E., Stone J.E. 2000. Differences in leaf gas exchange and water relations among species and tree sizes in an Arizona pine-oak forest. *Tree Physiology* 20, 1-12.
- Kramer P.J. 1983. *Water relations of plants*. Academic Press Inc.
- Ladjal M. 2001. Variabilité de l'adaptation à la sécheresse des cèdre méditerranéen (*Cedrus atlantica*, *C. brevifolia* et *C. libani*), aspect écophysiologicals. Mémoire de Thèse, UHP Nancy I. 212p
- Lajtha K., Getz J. 1993. Photosynthesis and water-use efficiency in pinyon-juniper communities along an elevation gradient in northern New Mexico. *Oecologia* 94, 95-101.
- Lemoine D., Peltier J.-P., Marigo G. 2001. Comparative studies of water relation and hydraulic characteristics in *Fraxinus excelsior*, *Acer pseudoplatanus* and *A. opalus* trees under soil water contrasted conditions. *Annals of Forest Science* 58, 723-731.
- Levitt J. 1980. *Responses of plants to environmental stress*. vol 2. Academic Press.
- Lewis A.M., Harnden V.D., Tyree M.T. 1994. Collapse of water-stress emboli in the tracheids of *Thuja occidentalis* L. *Plant Physiology* 106, 1639-1646.
- Logullo M.A., Salleo S. 1993. Different Vulnerabilities of *Quercus ilex* L to freeze-induced and summer drought-Induced Xylem Embolism - An Ecological Interpretation. *Plant, Cell and Environment* 16, 511-519.
- Logullo M.A., Salleo S., Piaceri E.C., Rosso R. 1995. Relation between vulnerability to xylem

- embolism and xylem conduit dimensions in young trees of *Quercus cerris*. *Plant, Cell and Environment* 18, 661-669.
- Lovisol C., Schubert A. 1998. Effects of water stress on size and xylem hydraulic conductivity in *Vitis vinifera L.* *Journal of Experimental Botany* 49,
- Lu P., Biron P., Granier A., Cochard H. 1996. Water relations of adult Norway spruce (*Picea abies (L) Karst*) under soil drought in the Vosges mountains : whole-tree hydraulic conductance, xylem embolism and water loss regulation. *Annals of Forest Science* 53, 113-121.
- Ludlow M.M. 1989. Strategies of response to water stress. In *Structural and functional responses to environmental stresses*. eds pp. 269-281.
- Meinzer F.C., Goldstein G., Franco A.C., Bustamante M., Iglar E., Jackson P., Caldas L., Rundel P.W. 1999. Atmospheric and hydraulic limitations on transpiration in Brazilian cerrado woody species. *Functional Ecology* 13, 273-283.
- Meinzer F.C., Grantz D.A. 1990. Stomatal and hydraulic conductance in growing sugarcane : stomatal adjustment to water transport capacity. *Plant, Cell and Environment* 13, 383-388.
- Meinzer F.C., Saliendra N.Z., Crisosto C.H. 1992. Carbon isotopic discrimination and gaz exchange in *Coffea arabica* during adjustment to different soil moisture regimes. *Australian Journal of Plant Physiology* 19, 171-184.
- Melzack R.N., Bravdo B., Riov J. 1985. The effect of water stress on photosynthesis and related parameters in *Pinus halepensis*. *Physiologia Plantarum* 64, 295-300.
- Mencuccini M., Grace J. 1995. Climate influences the leaf area/sapwood area ratio in Scots pine. *Tree Physiology* 15, 1-10.
- Méthy M., Gillon D., Houssard C. 1997. Temperature-induced changes of photosystem II activity in *Quercus ilex* and *Pinus halepensis*. *Canadian Journal of Forestry Research* 27, 31-38.
- Mian M.A.R., Ashley D.A., Boerma H.R., Watts S.E. 1998. An additional QTL for water use efficiency in soybean. *Crop Science* 38, 390-393.
- Milburn J.A., Johnson R.P.C. 1966. The conduction of sap. II. Detection of vibrations produced by sap cavitation in *Ricinus* xylem. *Planta* 69, 43-52.
- Milburn J.A., Kallarackal J. 1991. Sap exudation. In *Physiology of trees*. eds A. S. Raghavendra, pp. 385-402. Wiley and sons Inc., New York.

- Nardini A., Salleo S. 2000. Limitation of stomatal conductance by hydraulic traits: sensing or preventing xylem cavitation? *Trees* 15, 14-24.
- Nardini A., Tyree M.T. 1999. Root and shoot hydraulic conductance of seven *Quercus* species. *Annals of Forest Science* 56, 371-377.
- Ni B.R., Pallardy S.G. 1991. Response of gas exchange to water stress in seedlings of woody angiosperms. *Tree Physiology* 8, 1-9.
- North G.B., Nobel P.S. 1996. Radial hydraulic conductivity of individual root tissues of *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller as soil moisture varies. *Annals of Botany* 77, 133-142.
- North G.B., Nobel P.S. 1997. Drought induced changes in soil contact and hydraulic conductivity for roots of *Opuntia ficus-indica* with or without rhizosheaths. *Plant and Soil* 191, 249-258.
- Osorio J., Pereira J.S. 1994. Genotypic differences in water use efficiency and ^{13}C discrimination in *Eucalyptus globulus*. *Tree Physiology* 14, 871-882.
- Panek J.A. 1996. Correlations between stable carbon-isotope abundance and hydraulic conductivity in Douglas-fir across a climate gradient in Oregon, USA. *Tree Physiology* 16, 747-755.
- Passioura J.B. 1988. Water transport in and to roots. *Annual Reviews of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 39, 245-265.
- Pereira J.S., Chaves M.M. 1993. Plant water deficit in Mediterranean ecosystems. In *Water deficit; plant relation from cell to community*. eds J. A. C. Smith and H. Griffiths, pp. 237-251. BIOS Scientific Publishers., Oxford.
- Petty J.A., Puritch G.S. 1970. The effects of drying on the structure and permeability of the wood of *Abies grandis*. *Wood Science and Technology* 4, 140-154.
- Picon C., Guehl J.-M., 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 and Environment* 19, 182-190.
- Piñol J., Sala A. 2000. Ecological implications of xylem cavitation for several pinaceae in the Pacific Northern USA. *Functional Ecology* 14, 538-545.
- Pockman W.T., Sperry J.S. 2000. Vulnerability to xylem cavitation and the distribution of sonoran desert vegetation. *American Journal of Botany* 87, 1287-1299.

- Quezel P. 1976. Les forêts du pourtour méditerranéen, 9. In Forêts et maquis méditerranéens: écologie, conservation et aménagement. Eds P. d. l'Unesco. notes techniques du MAB, pp.
- Ritchie G.A., Shula R.G. 1984. Seasonal changes of tissue-water relations in shoots and roots systems of Douglas-fir seedlings. *Forest Science* 30, 538-548.
- Salleo S., Lo Gullo M.A., De Paoli D., Zippo M. 1996. Xylem recovery from cavitation-induced embolism in young plants of *Laurus nobilis*: a possible mechanism. *New Phytologist* 132, 47-56.
- Sandford A.P., Jarvis P.G. 1986. Stomatal responses to humidity in selected conifers. *Tree Physiology* 2, 89-103.
- Schiller G. 2000. Ecophysiology of *Pinus halepensis* Mill. and *P. brutia* Ten. In Ecology, Biogeography and Management of *Pinus halepensis* and *P. brutia* in the Mediterranean Basin. eds G. Ne'eman and L. Trabaud, pp. 51-65. Backhuys Publishers, Leiden, Netherlands.
- Seigue A. 1985. La Forêt circumméditerranéenne et ses problèmes. Maisonneuve et Larose, 503 p.
- Sellin A. 2001. Hydraulic and stomatal adjustment of Norway spruce to environmental stress. *Tree Physiology* 21, 879-888.
- Siau J.F., Transport processes in wood, Springer Verlag, Berlin, 1984.
- Sparks J.P., Black R.A. 1999. Regulation of water loss in populations of *Populus trichocarpa*: the role of stomatal control in preventing xylem cavitation. *Tree Physiology* 19, 453-459.
- Sperry J.S., Adler F.R., Campbell G.S., Comstock J.P. 1998. Limitation of plant water use by rhizosphere and xylem conductance: results from a model. *Plant, Cell and Environment* 21, 347-359.
- Sperry J.S., Donnelly J.R., Tyree M.T. 1988. A method for measuring hydraulic conductivity and embolism in xylem. *Plant, Cell and Environment* 11, 35-40.
- Sperry J.S., Holbrook M.N., Zimmermann M.H., Tyree M.T. 1987. Spring filling of xylem vessels in wild grapevine. *Plant Physiology* 83, 414-417.
- Sperry J.S., Ikeda T. 1997. Xylem cavitation in roots and stems of Douglas-fir and white fir. *Tree Physiology* 17, 275-280.
- Sperry J.S., Nichols K.L., Sullivan J.E.M., Eastlack S.E. 1994. Xylem embolism in ring-porous, diffuse-porous, and coniferous trees of Northern Utah and interior Alaska. *Ecology* 75, 1736-1752.
- Sperry J.S., Pockman W.T. 1993. Limitation of transpiration by hydraulic conductance and xylem

- cavitation in *Betula occidentalis*. *Plant, Cell and Environment* 16, 279-287.
- Sperry J.S., Saliendra N.Z. 1994. Intra- and inter-plant variation in xylem cavitation in *Betula occidentalis*. *Plant, Cell and Environment* 17, 1233-1241.
- Sperry J.S., Tyree M.T. 1988. Mechanism of water stress-induced xylem embolism. *Plant Physiology* 88, 581-587.
- Sperry J.S., Tyree M.T. 1990. Water-stress-induced xylem embolism in three species of conifers. *Plant, Cell and Environment* 13, 427-436.
- Stedle E. 2000. Water uptake by roots: effects of water deficit. *Journal of Experimental Botany* 51, 1531-1542.
- Stedle E. 2001. The cohesion-tension mechanism and the acquisition of water by plant roots. *Annual Reviews of Physiology and Molecular Biology* 52, 847-875.
- Stedle, E., Henzler, T. 1995. Water channels in plants: do basic concepts of water transport change? *Journal of Experimental Botany* 46, 1067-1076.
- Stedle E., Peterson C.A. 1998. How does water get through roots? *Journal of Experimental Botany* 49, 775-788.
- Tognetti R., Longobucco A., Raschi A. 1998. Vulnerability of xylem to embolism in relation to plant hydraulic resistance in *Quercus pubescens* and *Quercus ilex* co-occurring in a Mediterranean coppice stand in central Italy. *New Phytologist* 139, 437-447.
- Tourret V. 1999. Le cyprès de Provence. *Forêt Méditerranéenne* 4, 157-161.
- Triat-Laval H. 1979. Histoire de la forêt provençale depuis 15000 ans d'après l'analyse pollinique. *Forêt Méditerranéenne* 1, 19-24.
- Tsuda M., Tyree M.T. 2000. Plant hydraulic conductance measured by the high pressure flow meter in crop plants. *Journal of Experimental Botany* 51, 823-828.
- Tyree M.T. 1997. The Cohesion-Tension theory of sap ascent : current controversiies. *Journal of Experimental Botany* 48, 1753-1765.
- Tyree M.T. 1999. Water relations and hydraulic architecture. In *Handbook of functional plant ecology*. eds F. I. Pugnaire and F. Valladares. Marcel Dekker, New-York. pp. 222-268.
- Tyree M.T., Davis S.D., Cochard H. 1994. Biophysical perspectives of xylem evolution: is there a

- tradeoff hydraulic efficiency for vulnerability to dysfunction? International Association of Wood Anatomy Journal 15, 335-360.
- Tyree M.T., Ewers F.W. 1991. Transley Review N°34. The hydraulic architecture of trees and others woody plants. New Phytologist 119, 345-360.
- Tyree M.T., Patino S., Bennink J., Alexander J. 1995. Dynamic measurements of root hydraulic conductance using a high-pressure flowmeter in the laboratory and field. Journal of Experimental Botany 282, 83-94.
- Tyree M.T., Salleo S., Nardini A., Lo Gullo M.A., Mosca R. 1999. Refilling of embolized vessels in young stems of laurel. Do we need a new paradigm? Plant Physiology 120, 11-21.
- Tyree M.T., Yang S. 1992. Hydraulic conductivity recovery versus water pressure in xylem of *Acer saccharum*. Plant Physiology 100, 669-676.
- Vartanian N., Lemée G. 1984. La notion d'adaptation à la sécheresse. Bull. Soc. Bot. Fr 131, 7-15.
- Villar-Salvador P., Castro-Diez P., Pérez-Rontomé C., Montserrat-Marti G. 1997. Stem xylem features in three *Quercus* (Fagaceae) species along a climatic gradient in NE Spain. Trees 12, 90-96.
- Villar-Salvador P., Ocaña L., Peñuelas J., Carrasco I. 1999. Effect of water stress conditioning on the water relations, root growth capacity, and the nitrogen and non-structural carbohydrate concentration of *Pinus halepensis* Mill. (Aleppo pine) seedlings. Annals of Forest Science 56, 459-465.
- Von Caemmerer S., Farquhar G.D. 1981. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. Planta 153, 376-387.
- Walcroft A.S., Silvester W.B., Grace J.C., Carson S.D., Waring R.H. 1996. Effects of branch length on carbon isotopic discrimination in *Pinus radiata*. Tree Physiology 16, 281-286.
- Waring R.H., Silvester W.B. 1994. Variation in foliar $\delta^{13}C$ values within the crowns of *Pinus radiata* trees. Tree Physiology 14, 1203-1213.
- Whitehead D., Jarvis P.G., Waring R.H. 1984. Stomatal conductance, transpiration, and resistance to water uptake in a *Pinus sylvestris* spacing experiment. Canadian Journal of Forest Research 14, 692-700.
- Willmer C.M. 1983. Stomata. Longman Inc., New York.
- Zhang J., Marshall J.D., Jaquish B.C. 1993. Genetic differentiation in carbon isotope discrimination and gas exchange in *Pseudotsuga menziesii*. Oecologia 93, 80-87.

Zimmermann M.H. 1983. Conducting units: Tracheids and Vessels. In Xylem structure and the ascent of sap. eds Springer-Verlag, pp. 143. Berlin.

Zimmermann M.H., Brown C.L. 1971. Trees, Structure and Function. Brown, p. Springer-Verlag, New-york Inc.

Zimmermann M.H., Meinzer F.C., Benkert R., Zhu J.J., Schneider H., Goldstein G., Kuchenbrod E., Haase A. 1994. Xylem water transport: is the available evidence consistent with the cohesion theory? Plant, Cell and Environment 17, 1169-1181.

Annexes

Fabienne Froux, Roland Huc, Michel Ducrey, et Erwin Dreyer

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 (2002)

Xylem hydraulic efficiency versus vulnerability in seedlings of four contrasting Mediterranean tree species (*Cedrus atlantica*, *Cupressus sempervirens*, *Pinus halepensis* and *Pinus nigra*).

Fabienne FROUX ^{1,2}, Roland HUC ^{1*}, Michel DUCREY ¹ and Erwin DREYER ²

Annals of Forest Science (2002), *sous presse*

¹ INRA - Unité de Recherches Forestières Méditerranéennes, Avenue A. Vivaldi, F-84000, Avignon

² UMR INRA-UHP, "Ecologie et Ecophysiologie Forestières", F-54280, Champenoux.

Running head: Hydraulic properties of Mediterranean conifers

Text: 28 pages

Figures: 4

Tables: 3

*Corresponding author: Huc@avi-forets.avignon.inra.fr

Abstract - We studied the xylem hydraulic traits and anatomy of four diverse Mediterranean conifers to determine how these species protect themselves against catastrophic xylem failure. *Cedrus atlantica*, *Cupressus sempervirens*, *Pinus nigra* and *P. halepensis* seedlings were grown for two years in pots in a greenhouse under well-watered conditions. Measurements were conducted in April and September. The vulnerability to cavitation was lower in April in the two pines and cedar whereas the conductivity was lower in the two pines and cypress. There were also large species differences in vulnerability to cavitation in September : loss of 50% conductivity occurred at -2.8 MPa in *P. nigra*, -3.8 MPa in *C. atlantica*, -4.8 MPa in *C. sempervirens* and -4.9 MPa in *P. halepensis*. Leaf specific hydraulic conductivity was much higher in *Cupressus sempervirens* and *P. nigra* than in *Cedrus atlantica* and *P. halepensis*. No trade-off between xylem safety (low vulnerability) and efficiency (high hydraulic conductivity) was found among the four species. Specific conductivity was directly related to "hydraulic mean" tracheid lumen diameter, while xylem vulnerability appeared to be independent of tracheid size.

Keywords: Xylem embolism / hydraulic conductivity / xylem anatomy / Mediterranean conifers

Efficienc e hydraulique et vulnérabilité de plantules de quatre espèces de conifères méditerranéens (*Cedrus atlantica*, *Cupressus sempervirens*, *Pinus halepensis* et *Pinus nigra*).

Résumé Nous avons étudié les caractéristiques hydrauliques et l'anatomie du xylème de quatre espèces de conifères méditerranéens afin de déterminer comment ces espèces se protègent contre un dysfonctionnement catastrophique du xylème. Des plants de *Cedrus atlantica*, *Cupressus sempervirens*, *Pinus halepensis* et *P. nigra* ont été cultivés en serre pendant deux ans en conditions d'alimentation en eau non limitante. Les mesures ont été effectuées en avril et septembre. La vulnérabilité à la cavitation a été plus faible en avril chez les deux pins et le cèdre tandis que la conductivité hydraulique a été plus faible chez les deux pins et le cyprès. D'importantes différences de vulnérabilité à la cavitation ont également été observées entre les espèces en septembre: la perte de 50% de conductivité est intervenue à -2.8 MPa chez *P. nigra*, -3.8 MPa chez *C. atlantica*, -4.8 MPa chez *C. sempervirens* et -4.9 MPa chez *P. halepensis*. La conductivité spécifique foliaire a été plus élevée chez *C. sempervirens* et *P. nigra* que chez *C. atlantica* et *P. halepensis*. Aucun compromis n'a été mis en évidence entre la protection du système conducteur (faible vulnérabilité à la cavitation) et l'efficacité de la circulation de la sève (forte conductivité hydraulique) entre les 4 espèces. La conductivité hydraulique spécifique est positivement corrélée avec le diamètre « hydraulique moyen » des lumières des trachéides alors que la vulnérabilité du xylème semble être indépendante de la taille des trachéides.

Mots clés: Embolie / conductivité hydraulique / anatomie du xylème / conifères méditerranéens

1. INTRODUCTION

The Mediterranean climate is characterized by a long dry summer. Drought can be severe where soils are shallow or coarse textured. Under such conditions, the xylem of trees may be subjected to very low water potentials that approach the dysfunction point where runaway embolism due to cavitation and air filling in the conduits reduces xylem conductivity [23]. The ecophysiological basis for drought tolerance in trees remains to a great extent unknown since the capacity to survive long-term water deficit is dependent on various physiological and morphological traits such as gas exchange control, osmotic adjustment and root to leaf area ratio adjustment. The implications of xylem hydraulic properties for drought tolerance have been proposed for several species [1, 5, 11] but remain obscure for others.

Xylem vulnerability to water stress induced embolism is well documented in a wide range of species (see review by Tyree and Ewers [28]). Inter-specific differences in hydraulic properties are associated with habitat preference, as was observed in neotropical shrubs [5], in temperate broadleaved trees [11] and in conifer species [3].

The trade-off between safety (low vulnerability to water stress induced cavitation) and efficiency (large hydraulic conductivity), as hypothesized by Zimmermann [31], is a controversial subject and remains to be examined on species displaying diverse xylem characteristics and living under climates with a pronounced dry season.

Species adapted to the long dry Mediterranean summer should provide a good opportunity to study the trade-off between efficiency and vulnerability and the effect of xylem anatomy on hydraulic properties. This research investigates xylem water transport and vulnerability in seedlings of four diverse tree species. We studied: 1.) the variability of the hydraulic features with date of measurement; 2.) the trade-off between safety (estimated from vulnerability to cavitation) and efficiency (estimated from hydraulic conductivity); 3.) the relation between xylem anatomy and hydraulic properties; and 4.) the relation of hydraulic characteristics to drought resistance. The hydraulic characteristics of seedlings of four Mediterranean conifer species (*Cedrus atlantica*, *Cupressus sempervirens*, *Pinus halepensis* and *Pinus nigra*) grown under controlled conditions were determined. Species were chosen according to their strategy of response to drought stress. In *P. halepensis* and *P. nigra*, daily minimum water potential (Ψ_{\min}) never decreased below -2.8 MPa and -1.5 MPa, respectively under severe drought [2, 6], demonstrating efficient stomatal closure. In contrast, *C. atlantica* and *C. sempervirens* may display much lower xylem water potential [4]. For instance, levels of Ψ_{\min} recorded in *C. atlantica* in natural stands reached -4 MPa [1]. Interestingly, *P. nigra* and *C. atlantica* are co-occurring species in Mediterranean mountains, while *C. sempervirens* and *P. halepensis* co-occur in

low elevation forests under Mediterranean climate. Such differences in stomatal control of Ψ_{\min} could be due to different hydraulic properties.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Plant material

Seeds from four Mediterranean conifers (*Cedrus atlantica* Manetti, *Cupressus sempervirens* L., *Pinus halepensis* Mill. and *Pinus nigra* Arn. ssp. *nigricans* Host. var. *austriaca*) were collected in natural populations in southern France near Avignon. *C. atlantica* was introduced to southern France from Algeria over 140 years ago. The plantations were very successful and natural regeneration is abundant. The other three species are native to the region.

Seedlings were grown in 0.4 liter plastic containers in the spring of 1998 in the Les Mille nursery, near Aix-en-Provence, France. One half of the seedlings were transplanted at the end of March 1999 to 7 liter containers filled with a mixture of sand/peat/forest soil horizon A1 collected near Avignon (1/2/3, v/v/v). The pots were watered once or twice a week depending on the weather. A liquid fertilizer (Fertiligène NPK 9/9/9) was added once a week to the irrigation water (1%). Plants were grown in a greenhouse in Avignon, France, under 85% of full sunlight. Temperature minima in winter were kept above 2°C by heating and during the summer the maxima were maintained between 25°C and 32°C by ventilation and cooling. The cypress trees produced a 50:50 mix of two forms: *horizontalis* (plagiotropic) and *fastigiata* (orthotropic).

2.2. Hydraulic conductivity

Two series of measurements were carried out during 1999, one in April before bud break on 1998 twigs of non-transplanted plants, and a second one during September on current year (1999) twigs on seedlings transplanted to larger pots in March. Eight seedlings of *P. halepensis*, *C. atlantica* and *P. nigra* and of six seedlings of each form (*horizontalis* and *fastigiata*) of *C. sempervirens* were transported to the laboratory where predawn needle water potential was measured on terminal twigs with a Scholander pressure chamber. Seedling tops were severed from the roots just above the root collar and cut again under water to remove embolized tracheids close to the cut end. Three segments were cut underwater from the most recent year's growth: one 10-cm-long segment for determination

of vulnerability curves and two 2-cm-long segments on each side and adjacent to the long segment for hydraulic conductivity measurements. All segments were debarked underwater. Projected area (L_a) of all needles supplied with water by the segment was measured using a planimeter (System DIAS II of Delta-T-Device).

Hydraulic conductivity (K_h , $\text{mmol m s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$) was measured according to the method described by Sperry and Tyree. [23]. Segments were perfused with a degassed dilute solution of water and HCl (pH=2) filtered with a $0.1 \mu\text{m}$ filter with an applied pressure of 3.5 kPa. The following hydraulic properties were determined for each segment:

i) leaf specific conductivity (K_l , $\text{mmol m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$):

$$K_l = K_h / L_a$$

ii) specific conductivity (K_s , $\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$):

$$K_s = K_h / S_a$$

where S_a is the sapwood transverse area of the segment (excluding the central pith).

iii) Huber value (HV, $\text{m}^2 \text{m}^{-2}$) as:

$$\text{HV} = S_a / L_a$$

2. 3. Xylem vulnerability to cavitation

Cavitation was induced using the air injection method [22]. Segments severed from the main shoot were inserted into a double-ended pressure chamber with both ends protruding to allow direct measurements of K_h . Samples were not notched because air entry was assured by abundant needle scars. The segments were subjected to an air pressure of 0.05 MPa during conductivity measurements to prevent lateral leakage of solution from the segment through needle scars. Native embolism was not measured because flushing at high pressure did not increase K_h . We believed native embolism was very low because the plants were always well watered. Hydraulic conductivity measured before induction of cavitations was taken to be the maximum conductivity (K_{max}). Cavitations were induced by 10 minutes pressurizations at pressures ranging from 0.8 to 8 MPa in 10 steps at regular intervals.

Each pressurization was followed by a 30 minutes relaxation at atmospheric pressure and by measurement of K_p . Percent loss of conductivity (PLC) was estimated as:

$$PLC=100*(K_{max}-K_h)/K_{max}$$

2.4. Anatomical characteristics

Samples used during September for xylem vulnerability assessment were preserved to FAA solution (formaldehyde 10%, acetic acid 5%, alcohol 35% in water). Two 1-cm long pieces of each sample were shredded and mixed for 6 hours with Jeffrey's solution (10% chromic acid+10% nitric acid in distilled water) in separate vials as described by Hargrave et al. [7]. After several rinsings with distilled water the length of 60 macerated fibers in each sample was measured at 25X with a light microscope.

Four cross-sections were cut with a razor blade from each stem segment used for conductivity measurement and stained with 0.5% safranin. An image analysis system (NIH-Image Software, Scion Corp.) was used to determine lumen cross-sectional area of all tracheids ($n \pm 200$) by 3- μ m lumen diameter class from color slides taken with a light microscope at 100X. The hydraulic conductivity per lumen diameter class and the total hydraulic conductivity of the sample was calculated using the Hagen-Poiseuille equation [30]. "Hydraulic mean" diameter (D) for each segment was calculated from measured lumen diameter (d), using 3- μ m lumen diameter classes, as:

$$D=\sum d^5/\sum d^4 \text{ [12, 21]}$$

2.5. Statistical analysis

Analysis of variance was used to determine the significance of species and date effect on hydraulic and anatomical properties. The significance of differences between means was assessed with the Duncan test ($P < 0.05$, GLM procedure, SAS, Statistical Analysis System, Cary, NC).

The data for the relation of PLC versus applied pressure (Ψ) were fitted to a logistic function [14]:

$$PLC=100/(1+\exp(a(\Psi-\Psi_{PLC50}))),$$

using the SAS non linear regression procedure (NLIN). The maximum slope of the function occurs at 50% loss of conductivity and is given by "a". The xylem water potential inducing 50% loss of

conductivity is given by Ψ_{PLC50} . Xylem potential inducing 10% loss of conductivity was also calculated as Ψ_{PLC10} . Data for each segment were fitted to the logistic function and the resulting parameters were used to calculate a mean value and a standard error of Ψ_{PLC50} , Ψ_{PLC10} and a by species and date.

3. RESULTS

3.1. Hydraulic conductivity

The predawn xylem water potential showed the seedlings were not under water stress at the time of measurement of hydraulic properties (values ranged from -0.5 to -0.3 MPa). Data for the two growth forms of *C. sempervirens* ('horizontalis' and 'fastigiata') were pooled for analysis after it was determined no differences existed between them for any of the hydraulic and anatomical characteristics. A species effect on the different hydraulic parameters was found when analyzing both measurement dates together ($P < 0.001$). Species ranking was found to be different between dates; therefore, the analysis of species differences was conducted separately by date and the analysis of differences between dates was done separately by species. The effect of measurement date appeared to be an increase in conductivity and HV from April to September (table I). The increase occurred in K_s for *Pinus halepensis* and *C. sempervirens*, in K_t for all species except *C. atlantica* and in HV for *P. nigra*. There was a tendency for *P. halepensis* to have the lowest values and *C. sempervirens* to have the highest values for all hydraulic conductivity parameters for both dates.

3.2. Vulnerability to cavitation

There was a tendency for the current stem to become more vulnerable to cavitation from April to September (smaller Ψ_{PLC50} , *P. nigra*, *P. halepensis*, and *C. atlantica*) and for cavitation to occur more rapidly (smaller $\Psi_{PLC50} - \Psi_{PLC10}$, *C. atlantica* and *C. sempervirens*) (table II and Figure 1). There did not appear to be a consistent effect of date on Ψ_{PLC10} but *P. halepensis* displayed a change in this value from -3.91 MPa in April to -1.38 MPa in September. It appeared that, regardless of the date, *P. nigra* was the most and *P. halepensis* the least vulnerable to cavitation. In contrast, cavitations propagated most rapidly in *C. sempervirens* (highest "a" and smallest $\Psi_{PLC50} - \Psi_{PLC10}$) in April and September and least rapidly in *P. halepensis* in September (largest $\Psi_{PLC50} - \Psi_{PLC10}$).

3.3. Xylem anatomy

The range of tracheid lengths was similar among species (0.5 to 2.5 mm) but mean length was larger in *C. atlantica* and *P. halepensis* than in *P. nigra* and *C. sempervirens* (table III). Tracheids longer than 1.25 mm accounted for only 16% of the total in *P. nigra* and *C. sempervirens* while they amounted to 37 and 51% in *P. halepensis* and *C. atlantica*. The largest diameter tracheid lumens were found in *C. sempervirens* (Figure 2 and table III). The large-diameter tracheid lumens (over 12 μm) represented 51% of the cumulative cross-sectional area of all tracheid lumens in the sapwood and contributed 77% of the theoretical conductivity in *C. sempervirens*. The three other species displayed smaller tracheid lumens with a mean diameter close to 10 μm . The large-diameter tracheid lumens accounted for 41, 32 and 21% of the calculated conductivity in *P. nigra*, *P. halepensis* and *C. atlantica*, respectively. The ratio measured/ calculated conductivity was greatest in *P. halepensis* and *C. sempervirens* (table III).

4. DISCUSSION

The findings of the research reported here for two different dates confirmed the expected variability in hydraulic properties of seedlings of Mediterranean trees. The study found no evidence of a relation between hydraulic efficiency and safety. There was strong support for a close relation between some anatomical characteristics of the xylem and hydraulic properties. In addition, some aspects of drought resistance were related to the hydraulic properties. However, we have to take into account the limitations of the study since we used potted seedlings with a restricted root system which did not represent natural conditions of these species. Plants experienced different root-to-soil interaction between the two sets of measurements which may have influenced their hydraulic architecture. Moreover, the root system may have been affected in a different manner by repotting depending on the species, resulting in different xylem anatomy.

4.1. Variation with the date of measurement

The terminal stems from April had both earlywood and latewood produced the previous year and the terminal stems from September had essentially only earlywood from the current year. This was due to active cambial growth observed late in summer in greenhouse conditions. The presence of latewood in the April stems could have caused the differences in conductivity observed between the two dates of measurement. Lumen diameter is much smaller in latewood making it less efficient for conducting water [9, 31]. In addition, in coniferous species membrane pores of latewood have a more rigid structure than earlywood [15]. As a consequence, larger pressure drops would be necessary to induce

air seeding and cavitation in latewood than in earlywood. This is consistent with our results as *P. halepensis*, *P. nigra* and *C. atlantica* were less vulnerable during April than during September.

4.2. Hydraulic conductivity and tracheid anatomy

The highest specific conductivity was recorded on the species with the largest lumen diameters (*C. sempervirens*) and a relationship was detected between measured hydraulic conductivity and "hydraulic mean" lumen diameter (Figure 4) as expected from the Hagen-Poiseuille law [21, 28, 31]. Measured conductivity was 30 to 50 percent of calculated conductivity. This discrepancy could be due to: 1.) the occurrence of naturally embolized tracheids [7] and 2.) xylem conduits not functioning like ideal conduits. Native embolism was probably very low because the seedlings were always well watered. This could not be verified using flushing, due to irreversible displacement of torus in the pit. Staining of xylem shows low native embolism (<5%) and did not reveal differences between species (data not shown). The flow of water through xylem of conifers, which have small conducting units interconnected by pit openings, is essentially through these small pit pores. Thus, the number of connections between tracheids is assumed to determine the water flow conductance [19]. This may explain large differences between measured and theoretical values.

4.3. Efficiency vs. safety?

A significant question for plant ecology is whether the efficient transport of water associated with large tracheids and pores may be less safe for water transport due to increased vulnerability to cavitation as suggested by physical models [31]. The results of our study showed large differences in hydraulic conductivity for Mediterranean conifers whether the basis was leaf area or cross-sectional area. The differences between the most and least conductive ranged from 1.5 to 2 fold for K_s and 3 to 4 fold for K_t . The study also showed a large range of vulnerabilities to embolism with Ψ_{PLC50} ranging from -2.76 MPa in *P. nigra* to -4.87 MPa in *P. halepensis* in September. This wide range of efficiency and safety should provide a good test of the relation between these two traits (Figure 3). In fact, our results did not show any trade-off between efficiency and safety.

A number of results from earlier work were consistent in regard to a trade-off between efficiency and safety. A trade-off was found when two Mediterranean oaks (*Quercus ilex* and *Q. pubescens*) were compared [26]. *Q. ilex* displayed both lower conductivity and lower vulnerability than *Q.*

pubescens. A trade-off was also found in the Sonoran desert vegetation [17], in Mediterranean sclerophyllous trees [18] and in Pinaceae of the Pacific Northern [16]. The chaparral shrub species *Malosma laurina* had a larger water transport efficiency associated with a higher susceptibility to embolism compared to *Heteromeles arbutifolia* [8]. Meanwhile no such trade-off was found among woody species in northern Utah and interior Alaska [25] and for subspecies of *Artemisia tridentata* [10]. Brodribb and Hill [3] have found no evidence of trade-off when comparing K_s and K_l to xylem vulnerability in a sub-sample of four conifer species. No significant correlation was found by Tyree et al. [30]. between Ψ_{PLC50} and volume or surface area of conducting units from a review of 13 conifer. There is also no evidence of trade-off when analyzing variability among ecotypes. For instance, *Pinus ponderosa* showed larger conductivity in the dry site sources than mesic sources and no differences in vulnerability to cavitation [13]. A study of geographical variation in hydraulic characteristics of *P. halepensis* found no differences in K_s when trees were supplied with adequate water, but, when subjected to soil drought, xeric provenances were less vulnerable to embolism compared to mesic provenances [27].

Our data from interspecific comparisons revealed no clear relationship between vulnerability to embolism (Ψ_{PLC50}) and xylem anatomy (Figure 4). Large-diameter tracheids may have a greater vulnerability to embolism due to an increase in the number of large pores in pit membranes [7]. Accordingly, cypress should have shown the greatest vulnerability but it did not (*table I and III*). Other aspects of tracheid and pit anatomy may be important. In fact, it has been suggested that pit membrane flexibility due to hemicellulose fibers explains differences of vulnerability among species [24]. It appears the relation among hydraulic efficiency, safety and tracheid size is complex and requires further study.

Conifer xylem is characterized by a high level of redundancy in its conducting system due to the large number of small tracheid units and the walls separating them [24, 31]. This characteristic could promote the late start (low water potential) and slow propagation of embolisms. The results of our study provided some support for this relation between structure and function, as the species with the largest tracheids, *C. sempervirens*, showed the most rapid propagation of embolisms (small Ψ_{PLC50} - Ψ_{PLC10} , *tables II and III*). Interestingly, embolisms began very late in *C. sempervirens* (low Ψ_{PLC10}). *C. atlantica* had the largest amount of small tracheids and a rather slow propagation of embolisms, but embolisms began rather early in this species.

4.4. Hydraulic characteristics and drought tolerance

The differences in the two major hydraulic properties, Ψ_{PLC50} and K_1 , among the four conifer species might be indicative of differences in resistance to drought. The capacity to resist cavitation is often considered to be related to drought tolerance [4]. Our results suggested a ranking of species based on Ψ_{PLC50} from the most drought tolerant *P. halepensis* and *C. sempervirens* to the relatively less tolerant *C. atlantica* to the least tolerant *P. nigra* (table II). A study of several Mediterranean provenances of *Cedrus libani* and *C. atlantica* (Ladjal 2000, unpublished data) showed values of Ψ_{PLC50} from -5 MPa to -7 MPa. Broadleaved Mediterranean species have been found to show a comparable range of vulnerability [29].

During the Mediterranean summer, high evaporative demand leads to high transpiration and an increase in xylem tension. A large hydraulic conductivity helps to support high transpiration and may be beneficial as long as it does not promote cavitation due to development of very low xylem water potentials [13]. Cavitation is prevented when stomatal closure occurs before the threshold water potential of vulnerability [20]. Earlier studies of conifers found a range of K_s and K_1 similar to that of the current study [28]. Species with smaller K_1 and K_s (*P. halepensis* and *C. atlantica*) may be inclined to develop low xylem water potential. To prevent cavitation they may have more effective stomatal control or low vulnerability to cavitation. Data from our laboratory (Froux 2001, unpublished data) confirm that *C. sempervirens* and *P. nigra* which have larger K_1 and K_s also have transpiration rates 1.6 times higher than *P. halepensis* and *C. atlantica* when xylem water potential is near 0.6 MPa.

4. CONCLUSIONS

The major conclusions are that there is a wide range of xylem anatomical and hydraulic properties in Mediterranean conifers that are consistent with and help explain the relative level of drought tolerance. The results suggest that drought tolerant species may have xylem hydraulic properties that are capable of sustaining high transpiration without development of lethal xylem tensions (high K_s and K_1 , and low Ψ_{PLC50} [13] as in *C. sempervirens*). Even *P. halepensis* which had relatively low xylem conductivity was protected from embolisms by very low vulnerability. In contrast the drought susceptible *P. nigra* from moist sites had rather high conductivity and low resistance to embolism. Important date effects were observed on conductivity that can be explained by changes in the amount of latewood. Anatomical traits like tracheid lumen diameter were directly related to conductivity and inversely related to the speed of propagation of embolisms. Further study of the relation of anatomical traits to hydraulic properties is necessary to explain why large tracheids can be associated with low vulnerability.

Acknowledgments

Fabienne Froux was supported by a Ph. D. grant of the French Ministry of Education. The technical assistance of Didier Betored and Arnaud Jouineau is gratefully acknowledged. We thank Dr Gilles Vercambre for his help in anatomical analysis, Dr Hervé Cochard for his critical remarks on a first draft. Special thanks are due to Dr Stephen Hallgren for helpful discussion and English review of the manuscript.

References

- [1] Aussenac G., Valette J.C., Comportement hydrique estival de *Cedrus atlantica* Manetti, *Quercus ilex* et *Quercus pubescens* Willd et de divers pins du Mont Ventoux, Ann. Sci. For. 39 (1982) 41-62.
- [2] Borghetti M., Cinnirella S., Magnani F., Impact of long term drought on xylem embolism and growth in *Pinus halepensis* Mill., Trees 12 (1998) 187-195.
- [3] Brodribb T., Hill R.S., The importance of xylem constraints in the distribution of conifer species., New Phytol. 143 (1999) 365-372.
- [4] Cochard H., Vulnerability of several conifers to air embolism, Tree Physiol. 11 (1992) 73-83.
- [5] Engelbrecht B. Velez V., Tyree M.T. , Hydraulic conductance of two co-occurring neotropical understory shrubs with different habitat preferences, Ann. For. Sci. 57 (2000) 201-208.
- [6] Grunwald C., Schiller G., Needle xylem water potential and water saturation deficit in provenance of *Pinus halepensis* Mill. and *Pinus brutia* Ten., Forêt Méditerranéenne 10 (1988) 407-414.
- [7] Hargrave K.R., Kolb K.J., Ewers F.W., Davis S.D., Conduit diameter and drought-induced embolism in *Salvia mellifera* Greene (Labiatae), New Phytol. 126 (1994) 695-705.
- [8] Jarbeau A., Ewers F.W., Davis S.D., The mechanism of water-stress-induced embolism in two species of chaparral shrubs, Plant, Cell and Environ., 18 (1995) 189-196.
- [9] Kavanagh K.L., Bond B.J., Aitken S.N., Gartner B.L., Knowe S., Shoot and root vulnerability to xylem cavitation in four populations of Douglas-fir seedlings, Tree Physiol. 19 (1999) 31-37.
- [10] Kolb K.J., Sperry J.S., Differences in drought adaptation between subspecies of sagebrush (*Artemisia tridentata*), Ecology 80 (1999) 2373-2384.

- [11] Lemoine D., Peltier J.P., Marigo G., Comparative studies of the water relations and the hydraulic characteristics in *Fraxinus excelsior*, *Acer pseudoplatanus* and *A. opalus* trees under soil water contrasted conditions, *Ann. Sci. For.* 58 (2001) 723-731.
- [12] Linton M.J., Sperry J.S., D.G Williams., Limits to water transport in *Juniperus osteosperma* and *Pinus edulis*: implications for drought tolerance and regulation of transpiration, *Funct. Ecology* 42 (1998) 317-380.
- [13] Maherali H., DeLucia E.H., Xylem conductivity and vulnerability to cavitation of ponderosa pine growing in contrasting climate, *Tree Physiol.* 20 (2000) 859-867.
- [14] Pammenter N.W., Vander Willigen C., A mathematical and statistical analysis of the curves illustrating vulnerability of xylem cavitation, *Tree Physiol.* 18 (1998) 589-593.
- [15] Petty J.A., Puritch G.S., The effects of drying on the structure and permeability of the wood of *Abies grandis*, *Wood Sci. Technol.* 4 (1970) 140-154.
- [16] Piñol J., Sala A., Ecological implications of xylem cavitation for several Pinaceae in the Pacific Northern USA, *Funct. Ecology* 14 (2000) 538-545.
- [17] Pockman W.T., Sperry J.S., Vulnerability to xylem cavitation and the distribution of Sonoran desert vegetation, *Amer. J. of Bot.* 87 (2000) 1287-1299.
- [18] Salleo S., LoGullo M.A., Drought resistance strategies and vulnerability to cavitation of some Mediterranean sclerophyllous trees, in: Borghetti M., Grace J., Raschi A. (Ed.), *Water transport in plant under climatic stress*, Cambridge University Press, Cambridge, 1993, pp. 99-113.
- [19] Siau J.F., *Transport processes in wood*, Springer Verlag, Berlin, 1984.
- [20] Sparks J.P., Black R.A., Regulation of water loss in populations of *Populus trichocarpa*: the role of stomatal control in preventing xylem cavitation, *Tree Physiol.* 19 (1999) 453-459.
- [21] Sperry J.S., Ikeda T., Xylem cavitation in roots and stems of Douglas-fir and white fir, *Tree Physiol.* 17 (1997) 275-280.
- [22] Sperry J.S., Saliendra N.Z., Intra- and inter-plant variation in xylem cavitation in *Betula occidentalis*, *Plant, Cell and Environ.* 17 (1994) 1233-1241.
- [23] Sperry J.S., Tyree M.T., Mechanism of water stress-induced xylem embolism, *Plant Physiology*, 88 (1988) 581-587.
- [24] Sperry J.S., Tyree M.T., Water-stress-induced xylem embolism in three species of conifers, *Plant, Cell and Environ.* 13 (1990) 427-436.

- [25] Sperry J.S., Nichols K.L., Sullivan J.E.M., Eastlack S.E., Xylem embolism in ring-porous, diffuse-porous and coniferous trees of northern Utah and interior Alaska, *Ecology* 75 (1994) 1736-1752.
- [26] Tognetti R., Longobucco A., Raschi A., Vulnerability of xylem to embolism in relation to plant hydraulic resistance in *Quercus pubescens* and *Quercus ilex* co-occurring in a Mediterranean coppice stand in central Italy, *New Phytol.* 139 (1998) 437-447.
- [27] Tognetti R., Michelozzi M., Giovannelli A., Geographical variation in water relations, hydraulic architecture and terpene composition of Aleppo pine seedlings from Italian provenances, *Tree Physiol.* 17 (1997) 241-250.
- [28] Tyree M.T., Ewers F.W., The hydraulic architecture of trees and other woody plants, *New Phytol.* 119 (1991) 345-360.
- [29] Tyree M.T., Ewers F.W., Hydraulic architecture of woody tropical plants, in: Mulkey S. S., R. L. Chazdon and A. P. Smith (Ed.), *Tropical Forest Plant Ecophysiology*, Chapman et Hall, 1996, pp. 218-241.
- [30] Tyree M.T., Davis S.D., Cochard H., Biophysical perspectives of xylem evolution: is there a tradeoff hydraulic efficiency for vulnerability to dysfunction?, *International Association of Wood Anatomy Journal* 15 (1994) 335-360.
- [31] Zimmermann M.H., *Xylem structure and the ascent of sap*, Springer-Verlag, Berlin, 1983.

Figure captions

Figure 1: Vulnerability curves in seedlings of the four Mediterranean conifer species obtained during April (dashed line) and September (solid line) by pressurization of twigs. Vertical bars represent the standard error of the mean of 6 to 12 replications. Dotted horizontal lines represent the 10% and 50% loss of conductivity.

Figure 2: Frequency distribution of lumen cross-sectional area (bars), percent of total calculated conductivity (dashed line) and cumulative percent of total calculated conductivity beginning with large diameters and progressing toward small diameters by 3 μm lumen diameter class (solid line) in seedlings of four Mediterranean conifers.

Figure 3: Relationship between xylem water potential inducing 50% loss of conductivity (Ψ_{PLC50}) and specific conductivity (K_s) in *Pinus halepensis* (triangle up), *Cupressus sempervirens* (triangle down), *Pinus nigra* (circle) and *Cedrus atlantica* (square) during April (open symbols) and September (closed symbols). Vertical and horizontal error bars are the standard error of the mean for Ψ_{PLC50} and K_s respectively.

Figure 4: Relationship between “hydraulic mean” tracheid lumen diameter and specific hydraulic conductivity (closed symbols) or xylem water potential inducing 50% loss of conductivity (open symbols) in *Pinus halepensis* (triangle up), *Cupressus sempervirens* (triangle down), *Pinus nigra* (circle) and *Cedrus atlantica* (square). The line is the linear regression of specific conductivity on “hydraulic mean” tracheid lumen diameter ($r=0.863$). Error bars are the standard error of the mean for K_s and Ψ_{PLC50} .

Table I: Specific conductivity (K_s , $\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$), leaf specific conductivity (K_l , $\text{mmol m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$) and Huber value H_v ($10^5 \text{ m}^2 \text{ m}^{-2}$) recorded in the main shoot of seedlings of four Mediterranean conifers during April and September. Mean and standard error of the mean (SEM) of 6 to 22 replicates. S and NS indicate significant and non-significant date effect ($p=0.05$). Different letters denote significant differences among species for a given parameter at $p=0.05$ (Duncan test).

	Species	April	September	Date
		Mean (SEM)	Mean (SEM)	effect
K_s	<i>Pinus nigra</i>	14.53 (1.23) ^a	17.61 (2.47) ^b	NS
	<i>Pinus halepensis</i>	10.11 (0.76) ^b	15.88 (1.35) ^b	S
	<i>Cedrus atlantica</i>	16.02 (2.09) ^a	16.26 (1.62) ^b	NS
	<i>Cupressus sempervirens</i>	15.25 (1.06) ^a	30.76 (1.78) ^a	S
K_l	<i>Pinus nigra</i>	10.11 (1.02) ^b	28.05 (6.95) ^a	S
	<i>Pinus halepensis</i>	4.39 (0.36) ^c	7.11 (0.47) ^b	S
	<i>Cedrus atlantica</i>	12.53 (1.50) ^{ab}	11.09 (1.68) ^b	NS
	<i>Cupressus sempervirens</i>	14.92 (1.12) ^a	33.09 (2.64) ^a	S
HV	<i>Pinus nigra</i>	61.31 (3.55) ^c	156.48 (35.92) ^a	S
	<i>Pinus halepensis</i>	40.86 (2.13) ^d	46.54 (5.53) ^c	NS
	<i>Cedrus atlantica</i>	76.17 (1.87) ^b	71.56 (6.57) ^{bc}	NS
	<i>Cupressus sempervirens</i>	93.55 (4.19) ^a	103.42 (6.86) ^b	NS

Table II: Parameters calculated from PLC curves for four Mediterranean conifer species. Ψ_{PLC10} , Ψ_{PLC50} (xylem water potential at 10% and 50% loss of conductivity, respectively) and “a” (form parameter of the curves). Values were estimated using the SAS NLIN procedure from data on individual twig samples. Mean and standard error of the mean (SEM) of 6 to 12 replicates. Means in a column with the same letter are not significantly different among species at $p=0.05$ (Duncan test). Significance of date effect is shown as S (significant) or NS (non significant) ($p=0.05$, Duncan test).

	Species	April Mean (SEM)	September Mean (SEM)	Date effect
Ψ_{PLC10}	<i>Pinus nigra</i>	-1.78 (0.29) ^b	-1.55 (0.23) ^b	NS
	<i>Pinus halepensis</i>	-3.91 (0.48) ^a	-1.38 (0.85) ^b	S
	<i>Cedrus atlantica</i>	-1.41 (0.87) ^b	-2.04 (0.52) ^b	NS
	<i>Cupressus sempervirens</i>	-3.45 (0.83) ^{ab}	-4.25 (0.24) ^a	NS
Ψ_{PLC50}	<i>Pinus nigra</i>	-3.08 (0.25) ^c	-2.76 (0.12) ^c	S
	<i>Pinus halepensis</i>	-5.97 (0.22) ^a	-4.87 (0.64) ^a	S
	<i>Cedrus atlantica</i>	-5.08 (0.30) ^{ab}	-3.81 (0.18) ^b	S
	<i>Cupressus sempervirens</i>	-4.41 (0.72) ^{bc}	-4.78 (0.20) ^a	NS
$\Psi_{\text{PLC50}} - \Psi_{\text{PLC10}}$	<i>Pinus nigra</i>	-1.30 (0.19) ^b	-1.21 (0.28) ^{bc}	NS
	<i>Pinus halepensis</i>	-2.06 (0.32) ^b	-3.49 (0.62) ^a	NS
	<i>Cedrus atlantica</i>	-3.67 (0.65) ^a	-1.77 (0.47) ^b	S
	<i>Cupressus sempervirens</i>	-0.97 (0.24) ^b	-0.53 (0.06) ^c	S
a	<i>Pinus nigra</i>	1.89 (0.28) ^b	2.21 (0.31) ^b	NS
	<i>Pinus halepensis</i>	1.31 (0.23) ^b	0.77 (0.11) ^b	NS
	<i>Cedrus atlantica</i>	0.74 (1.13) ^b	2.44 (0.88) ^b	NS
	<i>Cupressus sempervirens</i>	3.06 (0.61) ^a	4.92 (0.74) ^a	NS

Table III: Mean tracheid length (mm), mean lumen diameter (μm), contribution of tracheids with lumens larger than $12 \mu\text{m}$ in diameter to total sapwood area and estimated total conductivity, and ratio between measured and estimated conductivity in seedlings of four Mediterranean conifer species during September. Mean and standard error of the mean (SEM). Means in a column with the same letter are not significantly different.

Species	Mean tracheid length (mm)	Mean tracheid lumen diameter (μm)	Contribution of tracheid with a lumen diameter $> 12 \mu\text{m}$ to		Ratio measured/estimated conductivity
			total sapwood transverse area (%)	estimated total conductivity (%)	
<i>Pinus nigra</i>	1.02 (0.09) ^c	10.4 (1.08) ^b	14.9 (2.9) ^b	47.41	0.34 (0.02) ^a
<i>Pinus halepensis</i>	1.26 (0.28) ^{ab}	10.2 (0.14) ^b	8.35 (2.19) ^b	31.85	0.50 (0.04) ^b
<i>Cedrus atlantica</i>	1.33 (0.13) ^a	9.0 (1.4) ^b	3.83 (3.52) ^b	20.92	0.33 (0.12) ^{ab}
<i>Cupressus sempervirens</i>	1.06 (0.09) ^{bc}	13.5 (1.3) ^a	51.2 (18.7) ^a	76.7	0.45 (0.07) ^b

Fig.1

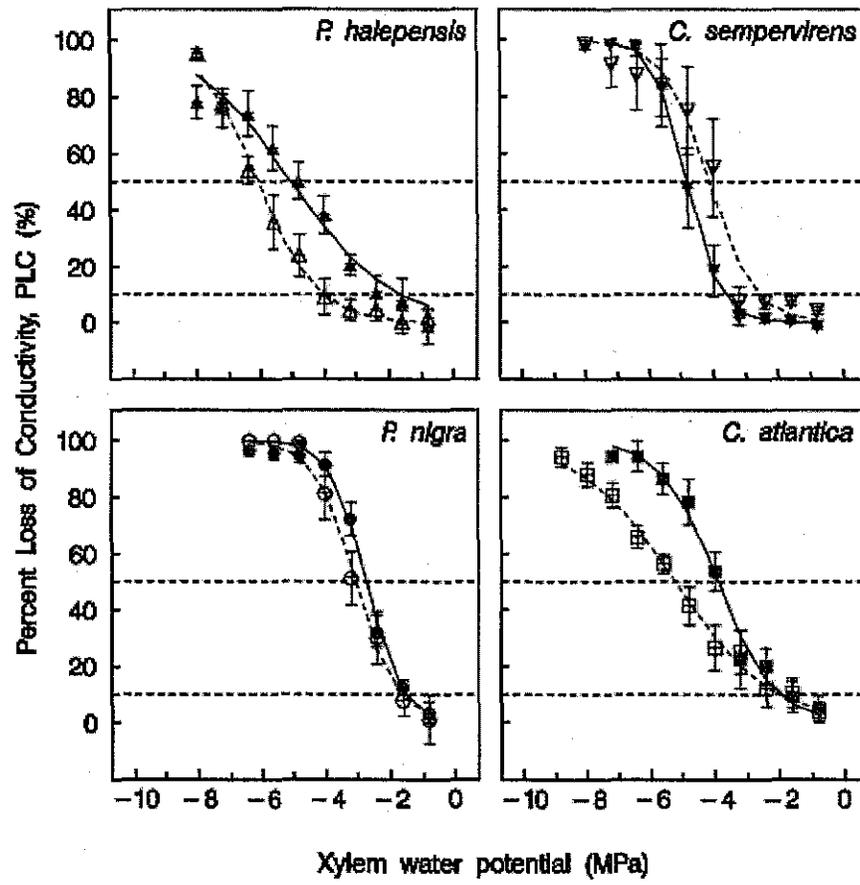


Fig.2

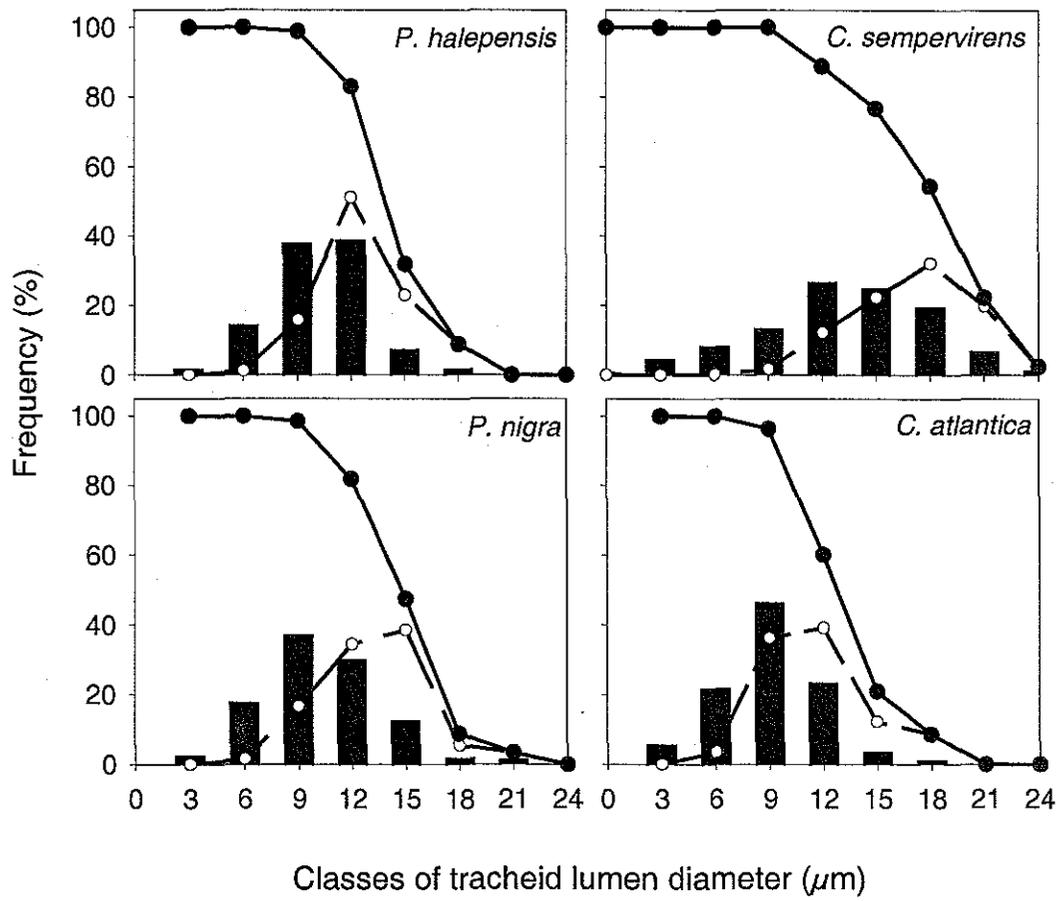


Fig. 3

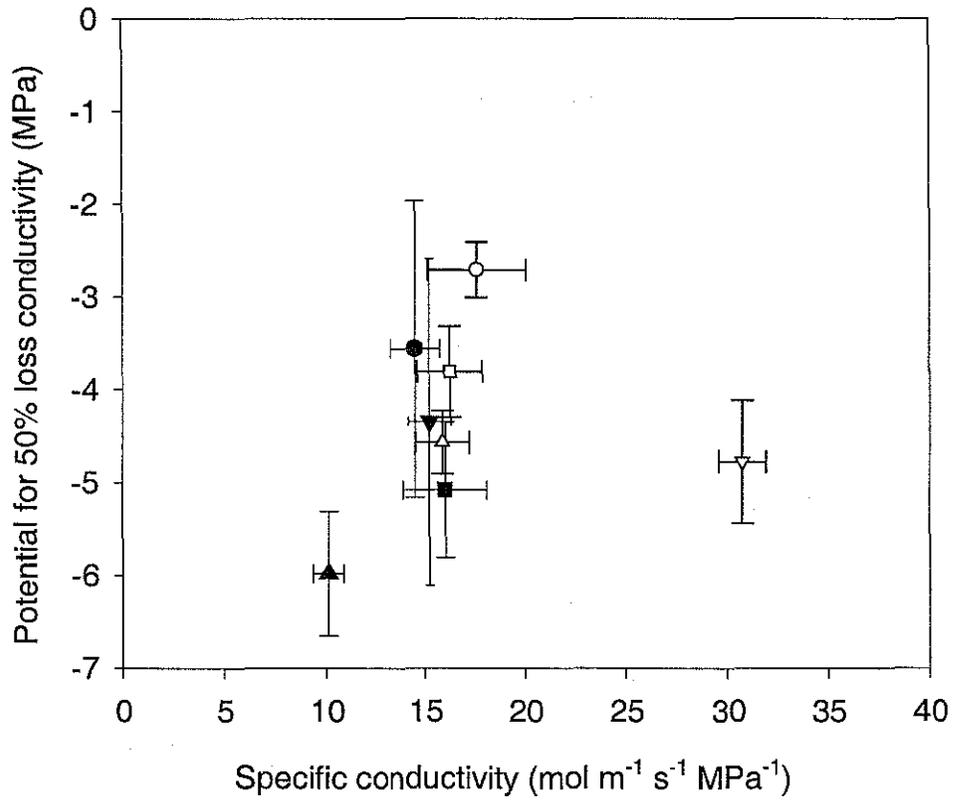
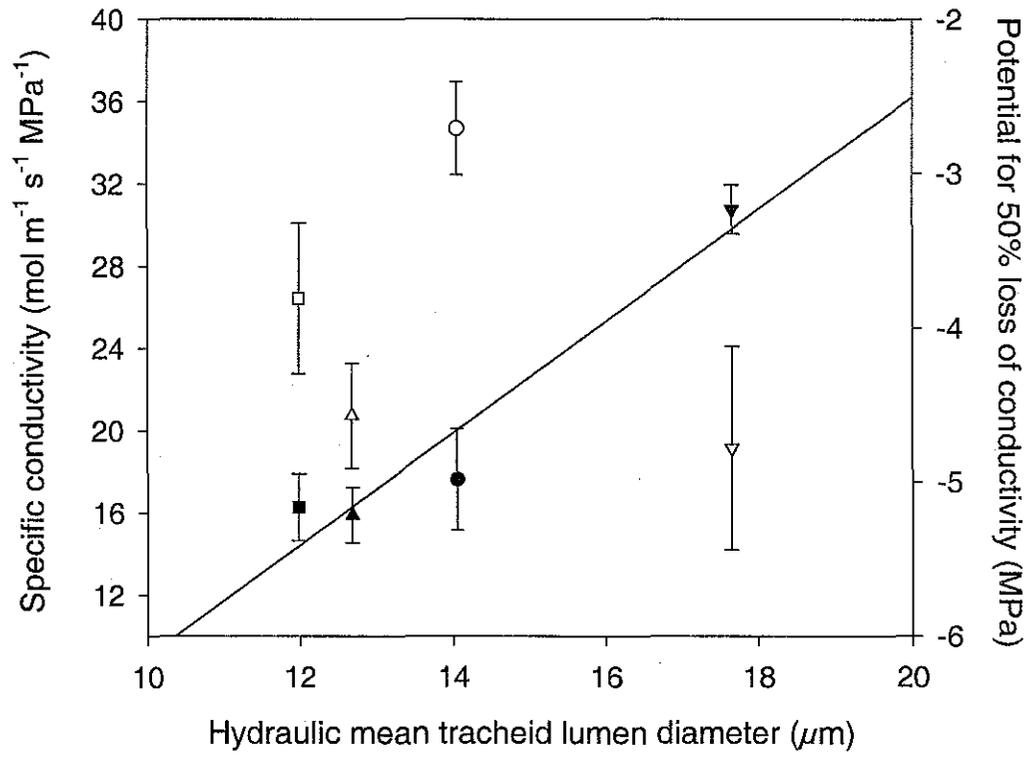


Fig. 4



Fabienne Froux, Michel Ducrey, Erwin Dreyer, Roland Huc
Architecture hydraulique et réponse stomatique à la sécheresse de 3 espèces de conifères
méditerranéens: *Cupressus sempervirens*, *Pinus halepensis* et *P. nigra*.

In prep

Architecture hydraulique et réponse stomatique à la sécheresse de 3 espèces de conifères méditerranéens

Fabienne Froux^{1,2}, Michel Ducrey², Erwin Dreyer¹ et Roland Huc^{2*},

¹ UMR INRA - UHP, "Ecologie et Ecophysiologie Forestières", F-54280, Champenoux

² INRA - Unité de Recherches Forestières Méditerranéennes, Avenue A. Vivaldi, F-84000, Avignon

Text: 16 pages

Figures : 5

Tables : 3

*Corresponding author: huc@avi-forets.avignon.inra.fr

Introduction

La circulation de l'eau dans la plante se fait en grande partie dans des éléments conducteurs qui sont à l'origine d'une résistance au flux. Le moteur de cette circulation, entre le sol et l'atmosphère, est la transpiration qui est à l'origine du déplacement de la colonne d'eau et induit, du fait des résistances au flux, des tensions entre les différents points du xylème. En période de sécheresse, l'eau dans le sol devient plus difficilement accessible, et les tensions augmentent d'autant dans la plante.

Les limites à la circulation de l'eau sont fixées par la structure du xylème et sa capacité à maintenir les éléments fonctionnels, c'est à dire non embolisés. Selon la théorie du germe d'air (Zimmermann, 1983), lorsque le potentiel dans le xylème diminue, l'air présent dans un élément non-conducteur peut être aspiré vers un élément fonctionnel adjacent provoquant la rupture de la colonne d'eau et l'initiation de l'embolie. Le risque qu'une embolie se déclare au cours d'une sécheresse et se développe dans le xylème est défini par les caractéristiques hydrauliques d'une espèce (potentiel seuil de cavitation Ψ_{PLC10} et conductivité hydraulique g_L) et le flux d'eau E qui peut être estimée par une analogie à la loi d'Ohm:

$$E = \Delta\Psi \times g_L$$

où $\Delta\Psi$ est la différence de potentiel hydrique entre deux points du système. De manière générale, les plantes se protègent d'un dessèchement catastrophique en limitant la transpiration par la fermeture de leurs stomates (Jones et Sutherland, 1991). De nombreux auteurs ont d'ailleurs montré que la régulation stomatique se produisait à des tensions dans le xylème proches de celles induisant une embolie (Lu *et al.*, 1996 ; Sperry *et al.*, 1993; Cochard *et al.*, 1996). L'écart entre le potentiel seuil d'induction de cavitation Ψ_{PLC10} et le potentiel provoquant la fermeture totale des stomates, définissant une marge de sécurité (Alder *et al.*, 1996), celle-ci en relation avec des types de fonctionnement différents. Deux cas sont possibles, i) les arbres fonctionnent à des potentiels proches de leur seuil de cavitation (Tyree et Sperry, 1988). La marge de sécurité est, suivant cette hypothèse, faible pour toutes les espèces, ou ii) la régulation stomatique intervient plus ou moins précocement avant l'initiation de l'embolie : l'écart entre le potentiel seuil de régulation stomatique et Ψ_{PLC10} est variable suivant l'espèce. Il serait faible pour les espèces évitantes et à forte vulnérabilité et élevé pour les espèces à régulation stomatique précoce et à faible vulnérabilité. Ce double critère fonctionnement stomatique - structure du xylème est important pour caractériser l'adaptation des espèces au stress hydrique. Il a retenu l'attention de nombreux auteurs (Jones et Sutherland, 1991; Sperry et Pockman 1993; Cochard *et al.*, 1996; Irvine *et al.*, 1998; Kavanagh *et al.*, 1998; Salleo *et al.*, 2000; Cochard *et al.* 2002).

Les études visant à corréliser le potentiel de fermeture stomatique et le potentiel seuil d'embolie dans le xylème ont généralement été menées sur les tiges. Cependant un gradient de vulnérabilité a été mis en évidence dans un même arbre notamment entre l'axe principal et les parties distales : en effet une plus forte vulnérabilité a été rapportée dans les tiges de faibles diamètres (Sperry et Ikeda, 1997 ; Tyree et Ewers, 1991) ainsi que dans le pétiole et la nervure centrale des feuilles (Cochard *et al.*, 2002 ; Nardini *et al.*, 2001).

Les auteurs émettent d'ailleurs l'hypothèse que cette embolie précoce provoque le dessèchement des parties distales de l'arbre et plus tard leur chute, protégeant ainsi l'intégrité du xylème des tiges principales. Dans les racines, le transfert de l'eau est indispensable pour le fonctionnement d'un arbre, cependant leur vulnérabilité a été moins étudiée. Plusieurs études montrent une vulnérabilité plus importante dans les racines que dans les tiges chez les feuillus (Alder *et al.*, 1996; Hacke et Sauter, 1996; Sperry et Saliendra, 1994) mais aussi chez les conifères (Sperry et Ikeda, 1997). Cependant récemment Cochard *et al.* (2002) ont mis en évidence une vulnérabilité plus faible des racines chez *Juglans nigra*. D'autres études sont donc nécessaires pour éclaircir ce point et relier le potentiel seuil de cavitation dans les racines à la régulation stomatique.

Dans cette étude, nous avons cherché d'une part à mettre en évidence l'existence d'une coordination entre le potentiel du xylème induisant une régulation stomatique et le potentiel seuil de cavitation chez différentes espèces de conifères, dans le but de quantifier d'éventuelles marges de sécurité. D'autre part, nous avons établi la vulnérabilité du xylème des racines de chaque espèce: l'importance et le rôle de l'embolie des racines dans le fonctionnement pendant une sécheresse ont été discutés en rapport avec le comportement des espèces en réponse à une sécheresse.

Nous avons utilisé des plants de 3 ans en pot: *Cupressus sempervirens*, *Pinus halepensis* et *Pinus nigra*. Ces espèces ont présenté une large gamme de vulnérabilité à la cavitation, *P. nigra* présentant la plus forte vulnérabilité, ainsi que des conductivités différentes (*P. halepensis* présentant la conductivité hydraulique la plus élevée) (Froux *et al.*, 2002). La première partie de notre travail a consisté à établir par pressurisation la vulnérabilité des racines des 4 espèces et valider celle des tiges. Dans la seconde partie nous avons suivi la conductance stomatique pendant une sécheresse en parallèle avec le potentiel hydrique dans le xylème.

Matériels et méthodes

Plants et conditions de croissance

En 1997, des graines des trois espèces de conifères méditerranéens (*Cupressus sempervirens* L., *Pinus halepensis* Mill. et *Pinus nigra* Arn. ssp. *nigricans* Host. var. *austriaca*) ont été collectées dans des populations naturelles en région méditerranéenne française. Les graines ont été semées dans des pots en plastique de 0.4 litres au printemps 1998 à la pépinière des Milles proche d'Aix-en-Provence, France. Fin mars 1999, Les semis ont été transplantés dans des conteneurs de 7 litres, sur un milieu sable/tourbe/terre, (1/2/3, v/v/v) et placés dans une serre climatisée à Avignon. Les pots ont été arrosés une à deux fois par semaine selon le temps et une solution d'engrais liquide (Fertiligène NPK 9/9/9) a été ajoutée une fois par semaine à l'eau d'arrosage (1%). Les plants ont été élevés en serre avec 85% du rayonnement naturel. La température était maintenue en hiver au-dessus de 2°C par chauffage et en été entre 25 à 32°C par ventilation et refroidissement par cooling. Ces conditions de cultures ont été maintenues jusqu'au début de l'année 2000.

Conditions expérimentales et mesures

1- Traitement hydrique:

Au début du mois d'août 2000, six plants âgés 3 ans de *C. sempervirens* et *P. halepensis* ont été réhydratés à la capacité au champ pendant deux jours et ensuite placés en conditions contrôlées (conditions jour/nuit : photopériode: 13h/11h, éclairement 750 / 0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, CO₂ 360 / 400 ppm, humidité relative: 70/96%, et température : 27°C / 25°C. Les pots étaient protégés par des plastiques noirs pour limiter les pertes d'eau dues à l'évaporation du substrat.

Une sécheresse a ensuite été induite par arrêt d'arrosage. Le potentiel de base (Ψ_w), a été mesuré chaque jour et la conductance stomatique pour la vapeur d'eau (g_s) a été mesurée avec un appareil de mesure de photosynthèse portable LI-6200 (Li-Cor Inc., Lincoln, NE) à l'échelle d'un rameau, après deux heures d'éclairement. g_s est exprimée en fonction de la surface foliaire projetée. Les potentiels hydriques foliaire et de xylème ont été également mesurés. Des tiges ont été protégées par une feuille de papier aluminium avant l'éclairement dans la chambre. Le potentiel hydrique de xylème est le potentiel hydrique mesuré en milieu de journée sur le rameau qui n'a pas transpiré. L'humidité volumique du sol a été mesurée avec des sondes TDR (Time Domain Reflectometry). L'humidité volumique du sol était corrélée pour chaque espèce aux potentiels hydriques de base. Pour chaque espèce, 6 plants ont été suivis.

La même expérimentation a été menée ensuite sur des plants de *P. nigra*, dans les mêmes conditions que la précédente. Trois lots de 6 plants par traitement ont été étudiés car le pin noir est une espèce monocyclique et il ne possédait pas assez de ramifications pour les prélèvements nécessaires. Chaque lot était donc mesuré

un jour sur trois.

Conductivité hydraulique des rameaux de l'année: Les rameaux de l'année prélevés pour la mesure de potentiel hydrique ont été conservés au frais et à l'obscurité pour des mesures journalières de conductivité hydraulique. La conductivité hydraulique (K_h , $\text{mmol m s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$) a été mesurée d'après la méthode décrite par Sperry et Tyree (1988). Les segments ont été perfusés avec une solution aqueuse et de HCl (pH=2) dégazée et filtrée ($0.1\mu\text{m}$), à une pression de 3.5kPa. A partir de K_h , nous avons calculé pour chaque segment:

i) la conductivité spécifique (K_s , $\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$)

$$K_s = K_h / S_a$$

ii) la conductivité spécifique foliaire (K_L , $\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$)

$$K_L = K_h / L_a$$

S_a et L_a sont respectivement la surface de la section et la surface foliaire directement alimentée en eau par le segment

2- Vulnérabilité du xylème à la cavitation

En septembre 2000, 6 à 8 plants de chaque espèce ont été transportés au laboratoire après avoir été arrosés à capacité au champ. La partie de la tige développée en 2000 a été prélevée et recoupée sous l'eau pour empêcher l'apparition de bulles d'air dans les trachéides. Elle a été ensuite séparée en 2 parties sous l'eau: un segment d'environ 13 cm de long qui a été utilisé pour réaliser les courbes de vulnérabilité et un segment plus court, d'environ 2 cm, pour les mesures de conductivité. La surface foliaire projetée des aiguilles alimentées par le segment de tige étudié a été mesurée en utilisant un planimètre (System DIAS II, Delta-T-Device). La partie racinaire a été débarrassée du substrat sous l'eau puis on a prélevé une première grosse racine, d'environ 10 cm de long et de 3 à 5 mm de diamètre pour la vulnérabilité et une seconde de même diamètre et d'environ 2 cm de long pour la conductivité hydraulique. Les segments (de tige ou de racine ainsi obtenus) ont été écorcés et recoupés sous l'eau.

La cavitation a été induite dans les tiges et les racines par la méthode de pressurisation (Sperry et Saliendra, 1994) adaptée à notre matériel végétal et décrit dans Froux et al (2002). Les segments ont été placés dans des chambres à pression à double entrée en laissant les deux extrémités à l'extérieur pour faciliter les mesures directes de K_h . Les racines ont été placées dans des chambres de plus petit diamètre que les tiges à cause de la différence de diamètre entre les deux types. Les segments ainsi préparés ont été soumis à une pression de 0.05 MPa pendant la mesure de conductivité pour annuler les fuites latérales d'eau par les cicatrices. L'apport en eau n'a pas été limitant pendant la saison de végétation, nous avons donc considéré que les segments utilisés ne présentaient pas d'embolie native. La conductivité hydraulique mesurée avant pressurisation a donc été assimilée à la conductivité hydraulique maximale (K_{max}). L'embolie a été induite par des pressurisations de 10 minutes à des pressions de 0.8 à 8MPa avec des pas de 0.8MPa pour les tiges et

de 0.6 à 6 MPa avec des pas de 0.6 MPa pour les racines. Chaque pressurisation était suivie par une période de 30 minutes de relaxation et d'une mesure K_h . Le pourcentage de perte de conductivité (PLC) a été estimé par:

$$PLC = 100 \times \frac{K_{\max} - K_h}{K_{\max}}$$

Les potentiels hydriques à 10% (Ψ_{PLC10}) et 50% (Ψ_{PLC50}) de perte de conductivité ont été estimés à partir de chaque courbe au moyen d'une fonction logistique en utilisant la procédure de régression non linéaire NLIN (SAS, Statistical Analysis System, Cary, NC), décrite dans Froux et al (2002).

Analyses Statistiques

L'effet espèce a été testé par une analyse de variance. La significativité des différences entre les moyennes a été testée par le test de Duncan ($P < 0.05$, GLM procedure, SAS, Statistical Analysis System, Cary, NC).

Résultats

1- Tailles des plants

En fin de saison de végétation, les plants présentaient des hauteurs et des diamètres au collet différents (tab. 1). Les plants de *P. nigra*, espèce monocyclique, avait atteint une hauteur et un diamètre au collet moyen plus faible que *C. sempervirens* et *P. halepensis*. La différence de hauteur entre *P. nigra* et les deux autres espèces était importante (environ 100 cm).

2- Vulnérabilité à la cavitation et conductivité hydraulique

P. nigra est plus vulnérable à la cavitation que les autres espèces étudiées, *C. sempervirens* et de *P. halepensis* n'étant significativement différentes. Les potentiels du xylème pour lesquels 50% d'embolie ont été observés (Ψ_{PLC50}) sont présentés dans le tab. 2 pour les tiges et les racines. La vulnérabilité du xylème dans les tiges a varié de -2.6 MPa chez *P. nigra* à -5.2 et -5.8 chez *P. halepensis* et *C. sempervirens*. Dans les racines, elles ont varié de -1.7 MPa chez *P. nigra* à -2.8 chez *C. sempervirens* et -3.5 MPa chez *P. halepensis*. Des différences ont été trouvées entre tiges et racines par espèces. Excepté pour *P. nigra*, où la différence n'est pas significative, les racines sont plus vulnérables que les tiges avec un écart entre les Ψ_{PLC50} de 3.0 et 1.7 MPa respectivement pour *C. sempervirens* et *P. halepensis*. La pression appliquée à l'extérieure du rameau à chaque étape de l'expérimentation peut être comparée à une tension à l'intérieur des éléments, c'est donc au signe près le potentiel dans le xylème.

Dans les tiges de *P. halepensis*, K_s est significativement plus élevé que chez les autres espèces alors que dans les racines c'est *P. nigra* qui présente le K_s le plus élevé (tab. 3). Les conductivités hydrauliques spécifiques étaient significativement plus élevées dans les racines chez *C. sempervirens* et *P. nigra*. Les conductivités spécifiques foliaires variaient de 3.10 à 8.07 mol m⁻¹ s⁻¹MPa⁻¹ selon les espèces avec la valeur la plus élevée pour *P. halepensis*.

3- Réponse au dessèchement

A partir de l'arrêt de l'arrosage, l'humidité volumique dans le substrat a diminué régulièrement (fig. 1). La durée du dessèchement, jusqu'au stade où l'humidité volumique du sol est proche de 0, a été d'environ 6 à 8 jours pour *C. sempervirens* et *P. halepensis*, et de 14 jours pour *P. nigra*. Le potentiel hydrique de base, du xylème et des feuilles a diminué parallèlement. La relation entre potentiel de base et humidité volumique du sol (fig. 2) n'est pas significativement différente entre les espèces. La diminution du potentiel de base a été observée à une humidité volumique proche de 6%. La différence ($\Psi_b - \Psi_w$) augmente (figure 3) dans un premier temps pour toutes les espèces puis diminue entre -0.5 et -1 MPa chez *P. nigra*, entre -1 et -1.5 MPa chez *P. halepensis* et entre -1.5 et -2MPa chez *C. sempervirens*. Cette différence s'est annulée à des

potentiels variables selon les espèces: entre -1 à -2MPa, -2.5 à -3.5 MPa et -4 à -5MPa respectivement pour *P. nigra*, *P. halepensis* et *C. sempervirens*. La valeur maximale de cette différence a varié également suivant l'espèce, *P. halepensis* présente la valeur ($\Psi_b - \Psi_w$) la plus élevée (1.2).

La conductance stomatique (fig. 4) a diminué quelle que soit l'espèce pour devenir négligeable à des potentiels de base situés entre -1.5 et -2.5 MPa pour *P. nigra*, -3 et -4 MPa pour *P. halepensis* et à partir de -4.5 MPa chez *C. sempervirens*.

La conductivité hydraulique spécifique mesurée sur les rameaux latéraux ne diminue pas significativement pendant le dessèchement (données non présentées). Aucune embolie dans les tiges n'a donc été provoquée par le dessèchement des plants jusqu'à des potentiels hydriques entraînant la fermeture complète des stomates.

3- Relation entre conductance stomatiques, et la vulnérabilité à la cavitation

Lorsqu'on exprime la diminution de la conductance stomatique en fonction de la valeur à potentiel maximale avant sécheresse et en fonction du potentiel hydrique dans le xylème (figure 4), on note que la fermeture stomatique est quasi-totale lorsque le xylème atteint un potentiel compris entre -3.5 et -4.5 chez *C. sempervirens*, entre -2.5 et -3.5 chez *P. halepensis* et entre -1.5 et -2.5 chez *P. nigra*. Dans ces gammes de potentiels et d'après les courbes de vulnérabilité obtenues précédemment, la conductivité hydraulique des racines a diminué d'environ 50% pour toutes les espèces. A ces mêmes valeurs, aucune embolie n'est détectée dans les tiges de *C. sempervirens*, alors que 10 à 20% de perte de conductivité sont observées chez *P. halepensis* et *P. nigra*.

Discussion

1- Vulnérabilité à la cavitation

Une large gamme de vulnérabilité des tiges à la cavitation est représentée dans notre étude: de l'espèce la plus vulnérable (*P. nigra*, -2.6 MPa) aux moins vulnérables (*P. halepensis*, -5.2 MPa; *C. sempervirens*, -5.8 MPa). Ce classement, obtenu sur des plants de 3 ans, confirme celui obtenu sur les mêmes espèces sur des tiges de l'année de l'axe principal portées par des plants de 2 ans (Froux et al, 2002). Cependant le potentiel à 50% de perte de conductivité est différent entre les deux séries de mesures chez *C. sempervirens* et *P. halepensis*, avec un décalage vers les valeurs plus faibles sur les plants plus jeunes, de l'ordre de 0.4 à 1 MPa qui peu supposer un effet âge sur la vulnérabilité à la cavitation.

La vulnérabilité des racines est plus importante que celle des tiges quelle que soit l'espèce. Cette plus forte vulnérabilité des racines est conforme aux résultats de précédentes études sur différentes espèces de feuillus (Sperry et Saliendra, 1994 ; Alder *et al.*, 1996; Hacke et Sauter, 1996; Kavanagh *et al.*, 1999) mais aussi de conifères; elle pourrait être associée au diamètre élevé des trachéides des racines (Sperry et Ikeda, 1997; Linton *et al.* 1998; Kolb et al 1999; Hacke et al, 2000). La perte de conductivité dès les premières pressurisations des racines pour la majeure partie des échantillons, également observée chez *Artemisia tridentata* (Kolb et Sperry, 1999) laisse supposer qu'il existe un artéfact à la mesure liée à l'application de la pressurisation. Mais la méthode d'induction de l'embolie par centrifugation (Holbrook, 1995) a permis de valider les valeurs de vulnérabilité obtenues sur *P. nigra* (données non présentées). Au cours de la saison, selon le potentiel hydrique du substrat, les racines qui sont plus vulnérables ont pu souffrir d'embolie puis de remplissage. Selon l'hypothèse de la fatigue du xylème de Hacke et al (2001), les organes qui ont ainsi subi plusieurs cycles de sécheresse peuvent être plus vulnérables à la cavitation. Cette hypothèse n'est cependant applicable qu'aux espèces pouvant avoir une réparation de l'embolie par flush. Dans notre cas, l'injection d'eau sous pression (allant jusqu'à 0.1MPa) dans le xylème n'a pas permis de restaurer la conductivité dans les racines des espèces étudiées (résultats non présentés). Dans notre étude, l'écart entre Ψ_{PLC50} dans les tiges et dans les racines est variable: de environ 1 MPa chez *P. nigra*, espèce vulnérable, à 1.73 et 2.99MPa chez *P. halepensis*, espèces peu vulnérables à la cavitation. L'ordre de grandeur de la différence entre les Ψ_{PLC50} des racines et des tiges est comparable à celui obtenu pour d'autres espèces. Chez *Alnus glutinosa*, espèce vulnérable à la cavitation, il y a une différence de 1 à 1.5 MPa entre les deux potentiels hydriques avec Ψ_{PLC50} dans les racines et dans les tiges respectivement de -1.0 et -2.0 MPa (Hacke et Sauter, 1996). Chez *Pseudotsuga menziesii* (Kavanagh et Bond, 1999), espèce peu vulnérable, l'écart est plus important allant de 2 à 2.5MPa selon l'origine géographique et climatique des plants mesurés.

Cette forte vulnérabilité à l'embolie dans les racines suppose qu'il y ait possibilité de réparation lors du retour à une bonne alimentation en eau. C'est ce que North et Nobel (1996) et Ewers *et al.* (1992) ont observé sur des plantes grasses réhydratées: l'apparition de nombreuses racines latérales et de nouvelles connexions hydrauliques avec la tige permet de restaurer rapidement la conductivité hydraulique racinaire. Sur des

racines de *Zea mays L.*, McCully *et al.* (1998) ont pu mettre en évidence l'existence d'un cycle comprenant l'embolie puis le remplissage partiel des vaisseaux à l'échelle de la journée. La technique utilisée (cryo MEB) est cependant très discutée (Cochard *et al.*, 2000). On sait cependant que des pressions nocturnes peuvent se développer au niveau des racines (Tyree, 1992) et que le remplissage d'éléments conducteurs embolisés est possible à de faibles pressions dans les racines (Ewers, 1997; Fisher, 1997).

Après différentes vérifications, nous sommes confiant sur la qualité de nos données de vulnérabilité racinaire. Ces données sont valables pour des jeunes plants élevés en pot et en serre. L'établissement des courbes de vulnérabilités sur des racines de plants issus de milieu naturel sera nécessaire pour valider ce résultat et le généraliser.

2- Réponse à la sécheresse

La relation entre humidité volumique du sol et potentiel de base était identique entre chaque espèce, ce qui laisse supposer que la prospection du pot par les racines était la même pour les 3 espèces. Une observation similaire a été présentée par Abrams *et al.* (1990) sur différentes espèces de *Quercus* et *Castanea* en conditions naturelles. Notre étude est limitée aux plants en pot. En milieu naturel, la répartition des racines peut être fortement modifiée. Notre étude ne nous permet pas en conditions de sécheresse de relier la quantité d'eau dans le sol au potentiel hydrique du xylème. En effet le potentiel hydrique dans le sol peut être estimé par le potentiel hydrique de base lorsque le plant est bien alimenté en eau mais lorsque le sol se dessèche, le potentiel du sol peut atteindre des valeurs plus négatives que celui des racines. D'autre part la précision de notre mesure d'humidité volumique devient faible lorsqu'il se crée des poches d'air dans le substrat. Cette estimation est nécessaire pour comparer le comportement des 3 espèces pendant une sécheresse drastique.

En réponse à ce dessèchement, la conductance stomatique diminue et devient très faible à des potentiels variant suivant les espèces. La fermeture la plus précoce se produit chez *P. nigra* (-1 à -2 MPa). Ces résultats confirment ceux de Aussenac et Valette (1982) qui ont montré sur *P. nigra*, en plantation (Ventoux) pendant une sécheresse estivale, que le potentiel de base et le potentiel hydrique minimum devenaient voisins (transpiration nulle) dès que le potentiel de base atteignait des valeurs inférieures à -1.6MPa. Ces potentiels, était peu négatifs, cette espèce a donc été classée parmi les évitantes au même titre que d'autres pins de leur étude tels que *P. sylvestris* et *P. pinaster*. Plus récemment, la présomption d'une forte vulnérabilité à la cavitation chez la plupart des pins a été renforcée par les résultats de Lebourgeois *et al.* (1998) sur *P. nigra ssp laricio* avec une fermeture totale des stomates dès -1.5MPa. Cependant la généralisation de ce caractère à tous les pins n'est pas possible. En effet, chez *P. halepensis*, les stomates sont moins sensibles au dessèchement du substrat puisqu'ils sont maintenus ouvert jusqu'à des potentiels proches de -3 MPa. Aussenac et Valette (1982) expliquaient cette différence par le fait que *P. nigra* n'est pas d'origine

méditerranéenne contrairement à *P. halepensis*. Cependant *P. nigra* est maintenant en régénération spontanée en région méditerranéenne. L'explication de cette variation entre espèce pourrait être la capacité d'ajustement osmotique importante de *P. halepensis* lors d'une sécheresse drastique (Calamassi et al, 2001). Nous n'avons cependant pas de données concernant *P. nigra* pouvant confirmer cette hypothèse. Chez *C. sempervirens*, la fermeture stomatique la plus tardive (-3.5MPa) confirme la forte tolérance de cette espèce à la sécheresse décrite par différents auteurs (Bock, 1997; Ducrey 1997). D'autres espèces méditerranéennes présentent cette tolérance telles que *Buxus sempervirens* et *C. atlantica* (Aussenac et Valette, 1982).

Le suivi des conductivités spécifiques a été effectué au cours du dessèchement des plants. Du fait de son caractère destructif, il n'a pu se réaliser pour les très faibles valeurs de potentiel. Nous avons pu cependant mettre en évidence qu'aucune perte de conductivité ne se produisait *in situ* avant la fermeture complète des stomates (données non présentées). Nous avons choisi de construire les courbes de vulnérabilité par la méthode de pressurisation (Sperry et Tyree, 1990).

3- Coordination caractéristiques hydrauliques/ régulation stomatique

La comparaison des courbes de perte de conductivité et de conductance stomatique, par rapport à l'évolution du potentiel hydrique de xylème des trois espèces suggère des comportements différents pendant le dessèchement due à des marges de sécurité différentes. Deux types de comportements peuvent être, en effet, observés en comparant le potentiel pour lequel les stomates sont presque complètement fermés (conductance stomatique $\leq 10\%$) par rapport au potentiel induisant 10% de cavitation dans les tiges (fig. 5). Le premier type de comportement correspond aux espèces *P. halepensis* et *P. nigra* pour lesquelles le contrôle des stomates se situe à des potentiels proches du point provoquant une induction de l'embolie dans les tiges. Dans ce cas, la fermeture stomatique limite le phénomène d'emballement de l'embolie décrit par Tyree et Ewers (1991). Le second type correspond à *C. sempervirens*, chez laquelle l'écart entre le potentiel de fermeture des stomates et celui induisant 10% d'embolie est de l'ordre de 1MPa. Le xylème des tiges de *C. sempervirens* apparaît mieux protégé que celui de *P. nigra* et *P. halepensis* du risque d'embolie au cours d'une contrainte hydrique. Une marge de sécurité faible a été décrite sur un grand nombre d'espèces (Sperry et al, 1993; Nardini et Salleo, 2000 ; Sparks et Black, 1999); alors que peu de cas sont similaire à celui de *C. sempervirens*. Dans les deux cas, la fermeture des stomates semble prévenir l'augmentation des tensions dans le xylème des tiges et donc le développement d'un emballement de l'embolie comme le supposaient Cochard *et al.* (1996) et Sperry *et al.* (1993).

L'embolie précoce dans les grosses racines coïncide, quelle que soit l'espèce, avec la diminution de la conductance stomatique, qui n'est donc pas efficace pour protéger les racines de la cavitation. Cette coïncidence est surprenante: au potentiel provoquant la fermeture stomatique, les racines auraient perdu 50% de leur conductivité quelle que soit l'espèce. La résistance totale sur le trajet entre le sol et les feuilles dans un arbre est la somme des résistances à l'interface sol-racine, des résistances au flux radial et axial dans les racines, des résistances dans le xylème et dans les aiguilles. La partie racinaire représente en moyenne 50%

de ces résistances et les aiguilles également un fort pourcentage. Aux potentiels provoquant l'embolie dans les grosses racines, l'assimilation nette n'a que très peu été affectée par la diminution de la disponibilité en eau (observations personnelles). Dans le compartiment racinaire, les résistances les plus importantes au flux d'eau sont situées principalement à l'interface sol-racine (Passioura, 1988; North et Nobel, 1997) puis dans la partie radiale. Ces résistances sont de moindre importance dans la partie axiale des racines puisque le rapport entre les résistances radiales et axiales peut aller jusqu'à 20 (Frensh et Steudle, 1989). D'après cette répartition, une perte de conductivité axiale de 50% bien que provoquant un doublement de la résistance dans cette partie, aura un impact faible sur la résistance totale du plant. Par contre une augmentation rapide des résistances à l'interface sol-racine et dans la région de transfert radial peut intervenir en réponse à une modification de la disponibilité en eau (Steudle, 2000).

La plante peut trouver un avantage à l'embolie racinaire pendant la sécheresse. La perte de conductivité racinaire provoquerait une diminution de la capacité d'extraction de l'eau dans le sol (Sperry et Saliendra, 1994). Dans le cas d'un dessèchement important du sol, la transpiration devient nulle, le potentiel hydrique dans les racines est égal à celui des feuilles alors que le potentiel hydrique du sol continue à diminuer. La circulation de l'eau se faisant vers les potentiels les plus négatifs, nous pourrions imaginer que l'eau passe des racines vers le sol (Ewers *et al.*, 1992; Passioura, 1988). Ce phénomène est limité par une embolie des racines latérales (nos résultats) et de la modification de différents tissus notamment la subérisation importante de l'apoplaste et du périderme (Steudle, 2000).

Les 3 espèces de conifères méditerranéens étudiées ici proviennent de bioclimats différents. Leur utilisation en plantation les place souvent face à des contraintes pédo-climatiques comparables et nécessite une bonne compréhension de leur résistance à la sécheresse. La vulnérabilité de leur xylème bien que très variable ne peut à elle seule permettre de caractériser une résistance à la sécheresse mais correspond davantage à une tolérance du xylème aux potentiels fortement négatifs engendrés par la sécheresse. *P. nigra* est le moins tolérant, la fermeture des stomates totale vers -2 MPa permet de maintenir le potentiel hydrique élevé. Par contre le xylème des tiges peuvent perdre une partie de sa conductivité hydraulique de l'ordre de 10 à 20 % comme chez *C. sempervirens* et *P. nigra*. Nous voyons ici que la régulation stomatique est nécessaire pour éviter l'emballement de l'embolie (Alder *et al.*, 1996).

Notre étude a permis de mettre en évidence des différences de vulnérabilités à la cavitation entre organes cependant elle soulève différentes questions. Une de ces questions est quel est l'impact d'une perte de conductivité si précoce sur le fonctionnement de la plante entière? Une étude plus précise de l'évolution des conductivités racinaire pendant un dessèchement devra également être abordée dans une prochaine étude.

Chez les conifères étudiés, aucune perte d'aiguille de l'année n'a pu être notée pendant le dessèchement des plants, suggérant une faible vulnérabilité à l'embolie de ces organes. Cependant, d'après Zimmermann (1983), les parties distales des tiges (feuilles, aiguilles) sont plus vulnérables à la cavitation à la fois pour limiter la transpiration et de fait que l'on considère que le remplacement de ces organes représente un coût moindre pour la plante. Bien que le contrôle stomatique s'avère suffisant pour limiter la transpiration, la mesure de la vulnérabilité des aiguilles pourrait être un complément à la présente étude.

Références bibliographiques

- Abrams M.D., Schultze J.C., Kleiner K.L. 1990. Ecophysiological responses in mesic versus xeric hardwood species to an early-season drought in Central Pennsylvania. *Forest Science* 36, 970-981.
- Alder N.N., Sperry J.S., Pockman W.T. 1996. Root and stem xylem embolism, stomatal conductance, and leaf turgor in *Acer grandidentatum* populations along a soil moisture gradient. *Oecologia* 105, 293-301.
- Bock J. 1997. Etude de la vulnérabilité à l'embolie et du comportement stomatique de quelques espèces ligneuses méditerranéennes des genres : *Cedrus*, *Cupressus* et *Quercus*. Mémoire de DEA, Université Henri Poincaré, Nancy I. 5-12.
- Calamassi R., Della Rocca G., Falusi M., Paoletti E., Strati S. 2001. Resistance to water stress in seedlings of eight European provenances of *Pinus halepensis* Mill. *Annals of Forest Science* 58, 663-672.
- Cochard H., Bodet C., Améglio T., Cruziat P. 2000. Cryo-SEM observations of vessel content during transpiration in walnut petioles : facts or artefacts ? *Plant Physiology* 124, 1191-1202.
- Cochard H., Bréda N., Granier A. 1996. Whole tree hydraulic conductance and water loss regulation in *Quercus* during drought: evidence for stomatal control of embolism? *Annals of Forest Science* 53, 197-206.
- Cochard H., Coll L., Le Roux X., Améglio T. 2002. Unraveling the effects of plant hydraulics on stomatal closure during water stress in walnut. *Plant Physiology* 128, 282-290.
- Ewers F.W., North G.B., Nobel P.S. 1992. Root-stem junctions of a desert monocotyledon and a dicotyledon: hydraulic consequences under wet conditions and during drought. *New Phytologist* 121, 377-385.
- Ewers F.W., Cochard H., Tyree M.T. 1997. A survey of root pressures in vines of a tropical lowland forest. *Oecologia* 110, 191-196.
- Fisher J.B., Guillermo A.A., Ewers F.W., Lopez-Portillo J. 1997. Survey of root pressure in tropical vines and woody species. *International Journal of Plant Sciences* 158, 44-50.
- 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*, in press.
- Frensch J., Steudle E. 1989. Axial and radial hydraulic resistance to roots of maize (*Zea mays* L.). *Plant Physiology* 91, 719-726.
- Hacke U.G., Sauter J.J. 1996. Drought-induced xylem dysfunction in petioles, branches, and roots of *Populus balsamifera* L. and *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. *Plant Physiology* 111, 413-417.
- Hacke U.G., Sperry J.S., Ewers B.E., Ellsworth D.S., Schäfer K.V.R., Oren R. 2000. Influence of soil porosity on water use in *Pinus taeda*. *Oecologia* 124 : 495-505.

- Hacke U.G., Stiller V., Sperry J.S., Pittermann J., McCulloh K.A. 2001. Cavitation fatigue. Embolism and refilling cycles can weaken the cavitation resistance of xylem. *Plant Physiology* 25, 779-786.
- Irvine J., Perks M.P., Magnani F., Grace J. 1998. The response of *Pinus sylvestris* to drought: stomatal control of transpiration and hydraulic conductance. *Tree Physiology* 18, 393-402.
- Jones H.G., Sutherland R.A. 1991. Stomatal control of xylem embolism. *Plant, Cell and Environment* 14, 607-612.
- Kavanagh K.L., Bond B.J., Aitken S.N., Gartner B.L., Knowe S. 1999. Shoot and root vulnerability to xylem cavitation in four populations of Douglas-fir seedlings. *Tree Physiology* 19, 31-37.
- Kolb K.J., Sperry J.S. 1999. Transport constraints on water use by the Great Basin shrub, *Artemisia tridentata*. *Plant, Cell and Environment* 22, 925-935.
- Lebourgeois F., Lévy G., Aussenac G., Clerc B., Willm F. 1998. Influence of soil drying cycle on leaf water potential, photosynthesis, stomatal conductance and growth in two black pine varieties. *Annals of Forest Science* 55, 287-299.
- Linton M.J., Sperry J.S., D.G.W. 1998. Limits to water transport in *Juniperus osteosperma* and *Pinus edulis*: implications for drought tolerance and regulation of transpiration. *Functional Ecology* 42, 317-380.
- Lu P., Biron P., Granier A., Cochard H. 1996. Water relations of adult Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst) under soil drought in the Vosges mountains : whole-tree hydraulic conductance, xylem embolism and water loss regulation. *Annals of Forest Science* 53, 113-121.
- McCully M.E., Huang C.X., Ling E.C. 1998. Daily embolism and refilling of xylem vessels in the roots of field-grown maize. *The New Phytologist* 138, 327-342.
- Nardini A., Salleo S. 2000. Limitation of stomatal conductance by hydraulic traits: sensing or preventing xylem cavitation? *Trees* 15, 14-24.
- Nardini A., Tyree M.T., Salleo S. 2001. Xylem cavitation in the leaf of *Prunus laurocerasus* and its impact on leaf hydraulics. *Plant Physiology* 125, 1700-1709.
- North G.B., Nobel P.S. 1996. Radial hydraulic conductivity of individual root tissues of *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller as soil moisture varies. *Annals of Botany* 77, 133-142.
- North G.B., Nobel P.S. 1997. Drought induced changes in soil contact and hydraulic conductivity for roots of *Opuntia ficus-indica* with or without rhizosheaths. *Plant and Soil* 191, 249-258.
- Passioura J.B. 1988. Water transport in and to roots. *Annual Reviews of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 39, 245-265.
- Salleo S., Nardini A., Pitt F., Lo Gullo M.A. 2000. Xylem cavitation and hydraulic control of stomatal conductance in Laurel (*Laurus nobilis* L.). *Plant, Cell and Environment* 23, 71-79.
- Seigue A. 1985. La Forêt circumméditerranéenne et ses problèmes. Maisonneuve et Larose, 502 p.

- Sparks J.P., Black R.A. 1999. Regulation of water loss in populations of *Populus trichocarpa*: the role of stomatal control in preventing xylem cavitation. *Tree Physiology* 19, 453-459.
- Sperry J.S., Alder N.N., Eastlack S.E. 1993. The effect of reduced hydraulic conductance on stomatal conductance and xylem cavitation. *Journal of Experimental Botany* 44, 1075-1082.
- Sperry J.S., Ikeda T. 1997. Xylem cavitation in roots and stems of Douglas-fir and white fir. *Tree Physiology* 17, 275-280.
- Sperry J.S., Pockman W.T. 1993. Limitation of transpiration by hydraulic conductance and xylem cavitation in *Betula occidentalis*. *Plant, Cell and Environment* 16, 279-287.
- Sperry J.S., Saliendra N.Z. 1994. Intra- and inter-plant variation in xylem cavitation in *Betula occidentalis*. *Plant, Cell and Environment* 17, 1233-1241.
- Sperry J.S., Tyree M.T. 1990. Water-stress-induced xylem embolism in three species of conifers. *Plant, Cell and Environment* 13, 427-436.
- Steudle E. 2000. Water uptake by roots: effects of water deficit. *Journal of Experimental Botany* 51, 1531-1542.
- Tyree M.T., Ewers F.W. 1991. Tansley Review N°34. The hydraulic architecture of trees and others woody plants. *New Phytologist* 119, 345-360.
- Tyree M.T., Sperry J.S. 1988. Do woody plants operate near the point of catastrophic xylem dysfunction caused by dynamic water stress ? *Plant Physiology* 88, 574-580.
- Tyree M.T., Yang S. 1992. Hydraulic conductivity recovery versus water pressure in xylem of *Acer saccharum*. *Plant Physiology* 100, 669-676.
- Zimmermann M.H. 1983. Conducting units: Tracheids and Vessels. In *Xylem structure and the ascent of sap*. Springer-Verlag., Berlin. pp. 143

Légendes des figures

Figure 1 : Evolution de l'humidité volumique dans le substrat mesurée par une sonde de reflectométrie dans le domaine temporel (TDR) (%) en fonction du nombre de jour de dessèchement des plants de *C. sempervirens*, *P. halepensis* et *P. nigra*. Chaque point représente une mesure sur un individu (n=6 individus).

Figure 2 : Relation entre le potentiel de base (MPa) et l'humidité volumique dans le substrat mesurée par TDR (%) obtenue pendant le dessèchement de plants de *C. sempervirens* (rond noir), *P. halepensis* (carré blanc) et *P. nigra* (triangle gris). Chaque point représente une mesure (n=6).

Figure 3 : Evolution de l'écart entre le potentiel de base et le potentiel hydrique foliaire en fonction du potentiel de base chez *C. sempervirens*, *P. halepensis* et *P. nigra*. Chaque point représente une mesure, la courbe correspond au lissage des valeurs.

Figure 4 : Evolution de la conductance stomatique ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en fonction du potentiel hydrique dans le sol (MPa) obtenu pendant un dessèchement du substrat par arrêt d'arrosage pour *C. sempervirens* (cercle), *P. halepensis* (carré) et *P. nigra* (triangle). Chaque point représente une mesure, n=6 pour *P. halepensis* et *C. sempervirens*, n= 18 pour *P. nigra*. La courbe représente un lissage des valeurs.

Figure 5 : Courbes de perte de conductivité de 3 espèces de conifères méditerranéens obtenues sur des rameaux de l'année (trait pointillés long) et sur les racines de diamètres compris entre 3 et 5 mm (trait pointillés court) et pourcentage de diminution de la conductance stomatique (trait continu) par rapport une valeur hors contrainte, en fonction du potentiel hydrique de xylème (MPa). Les lignes horizontales représentent les références de 10% (continue) et 50% (pointillée) de perte de conductivité. Les courbes de vulnérabilité sont des ajustements non linéaires à partir de 5 à 6 mesures sur des plants de 3 ans. Pour la conductance stomatique, chaque point représente un mesure, la ligne correspond à un lissage à partir des valeurs individuelles.

Tableau 1 : Hauteur (cm) et diamètre au collet (mm) des plants de *C. sempervirens*, *P. halepensis* et *P. nigra* en septembre 2000 (âge des plants: 3 ans). La valeur est la moyenne sur 6 échantillons \pm ESM.

Espèces	Hauteur (cm)	Diamètre au collet (mm)
<i>C. sempervirens</i>	137.8 (25.4)	23.57 (3.88)
<i>P. halepensis</i>	132.0 (13.7)	21.21 (7.72)
<i>P. nigra</i>	36.89 (4.81)	13.79 (1.91)

Tableau 2: Potentiel hydrique du xylème à 50% (Ψ_{PLC50}) de perte de conductivité dans les racines de diamètres compris entre 3 et 5 mm et dans les tiges de l'année (axe 1). Les valeurs sont estimées en utilisant la procédure NLIN pour les données issues de chaque échantillon (exemple de courbe de vulnérabilité obtenue sur *P. halepensis* dans l'encart). La moyenne et l'erreur standard sur la moyenne (SEM) sont issues de 6 répétitions sur des plants différents. Des différences significatives entre les espèces sont indiquées par des lettres différentes ($p=0.05$, test de Duncan). Les différences significatives ou non entre organe sont noté respectivement S et NS.

	Espèces	Racines (SEM)	Tige de l'année (SEM)	Ecart entre organe	Effet organe
Ψ_{PLC50}	<i>C. sempervirens</i>	-2.8 (0.5) ^{ab}	-5.8 (0.7) ^a	3.0	S
	<i>P. halepensis</i>	-3.5(0.6) ^a	-5.2 (0.6) ^a	1.7	S
	<i>P. nigra</i>	-1.7 (0.2) ^b	-2.6 (0.1) ^b	0.9	NS

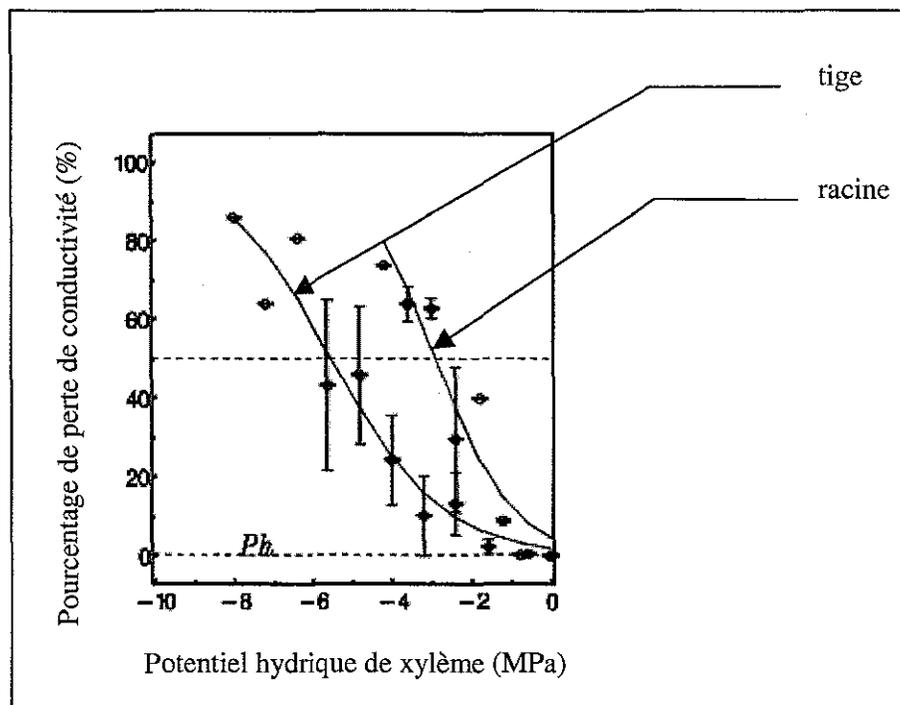


Tableau 3: Conductivité hydraulique spécifique foliaire des tiges K_f (rameaux de l'année) et conductivité hydraulique spécifique K_s ($\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$) mesurée sur les racines (diamètres compris entre 3 et 5 mm) et sur les tiges (rameaux de l'année) de *C. sempervirens*, *P. halepensis* et *P. nigra*. Chaque valeur représente la moyenne et l'erreur sur la moyenne (SEM) de 6 mesures. Des lettres différentes pour un même paramètre indiquent des différences significatives entre les espèces ($p=0.05$, test de Duncan). Les lettres S et NS indiquent un effet organe pour K_s significatif ou non.

	K_f		K_s	Effet organe
	Tiges	Racines	Tiges	
<i>C. sempervirens</i>	3.90 (1.06) ^b	38.21 (4.61) ^a	19.82 (2.58) ^b	S
<i>P. halepensis</i>	8.07 (2.51) ^a	42.00 (4.89) ^a	32.38 (7.04) ^a	NS
<i>P. nigra</i>	3.10 (1.06) ^b	48.41 (6.01) ^a	20.98 (3.09) ^b	S

Fig.1:

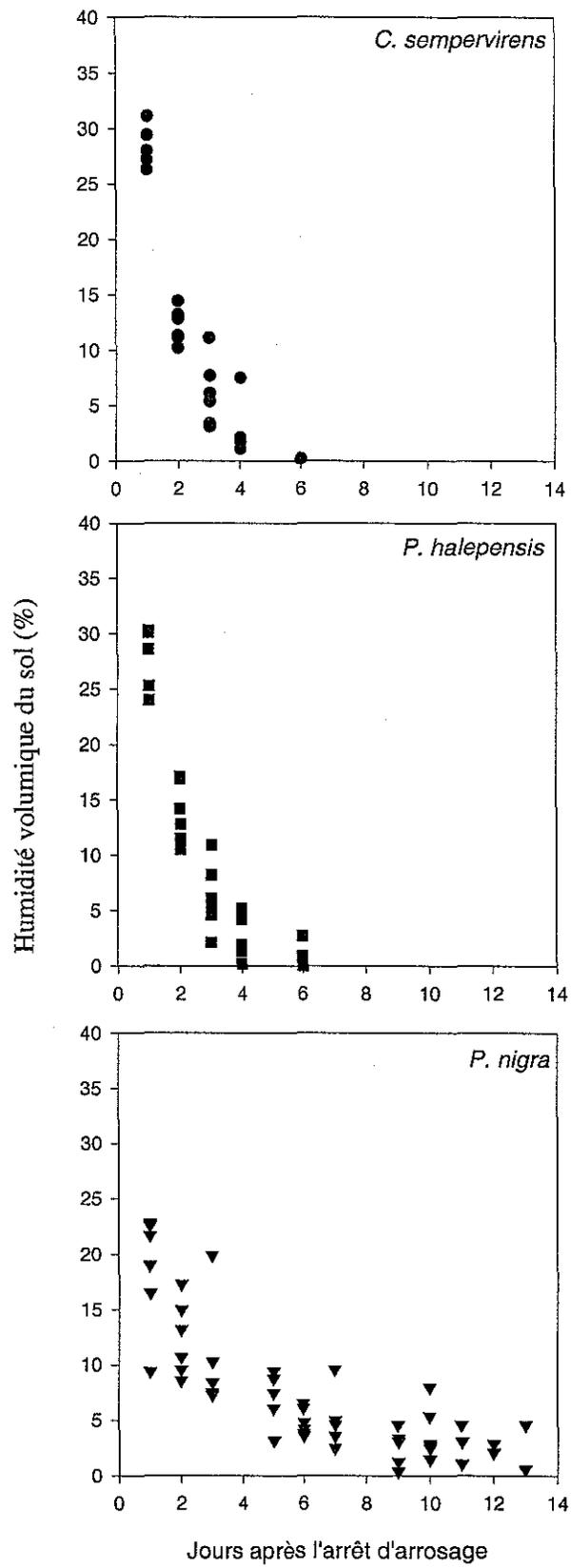


Fig. 2:

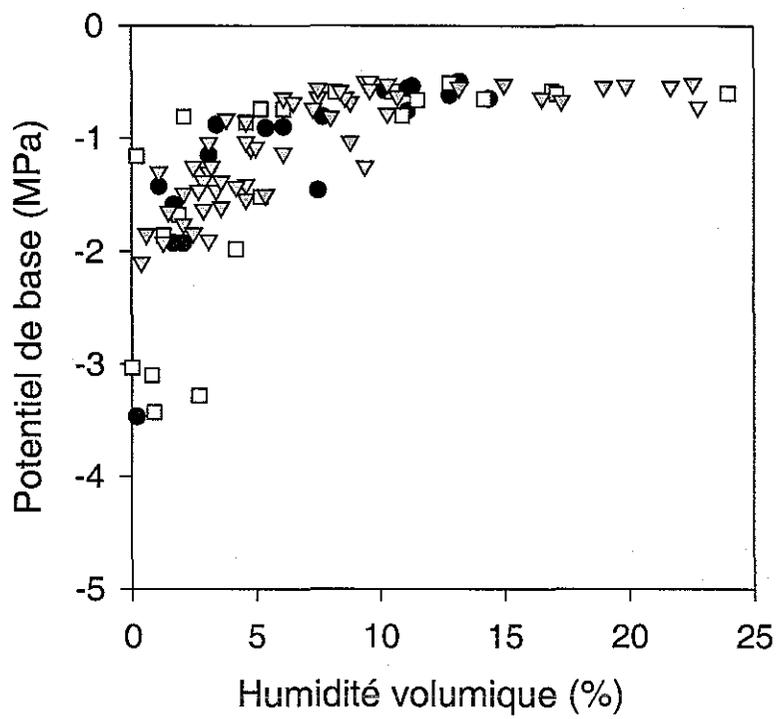


Fig. 3 :

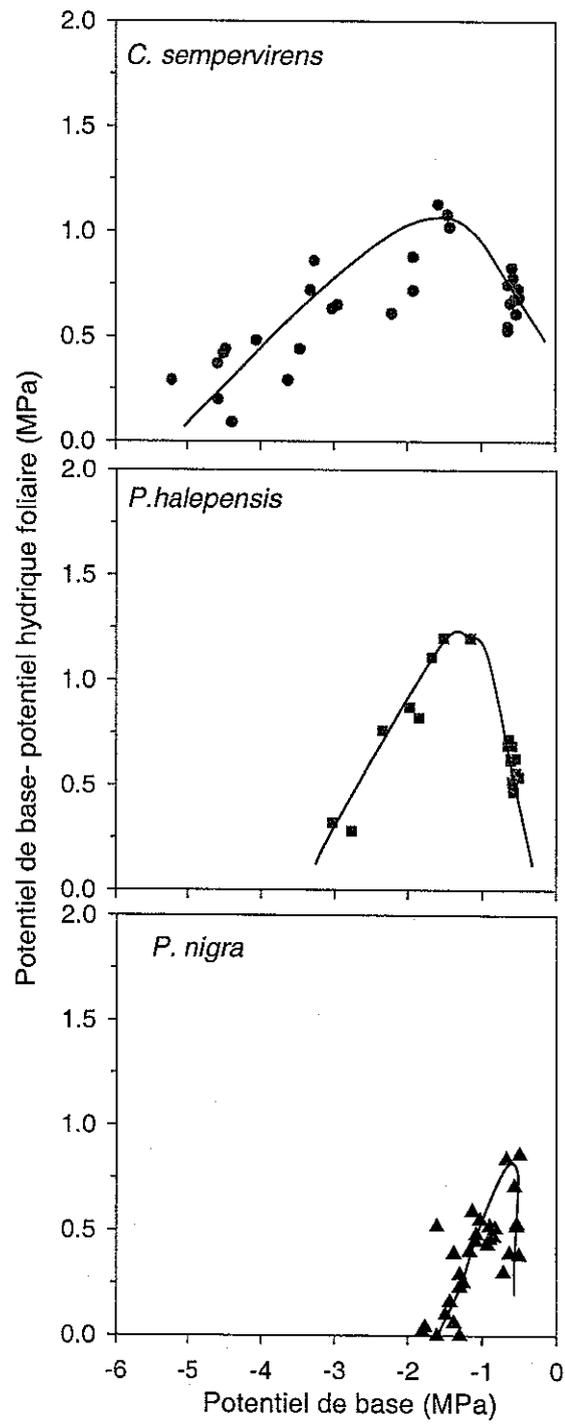


Fig. 4

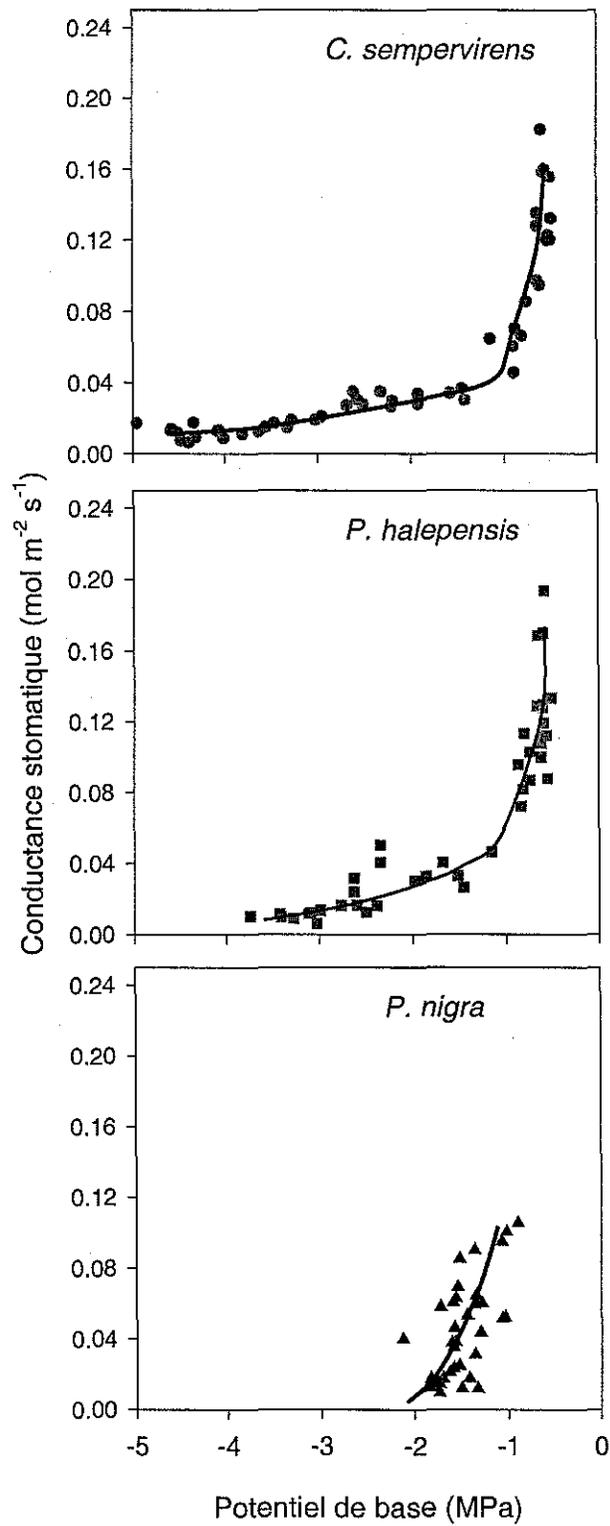
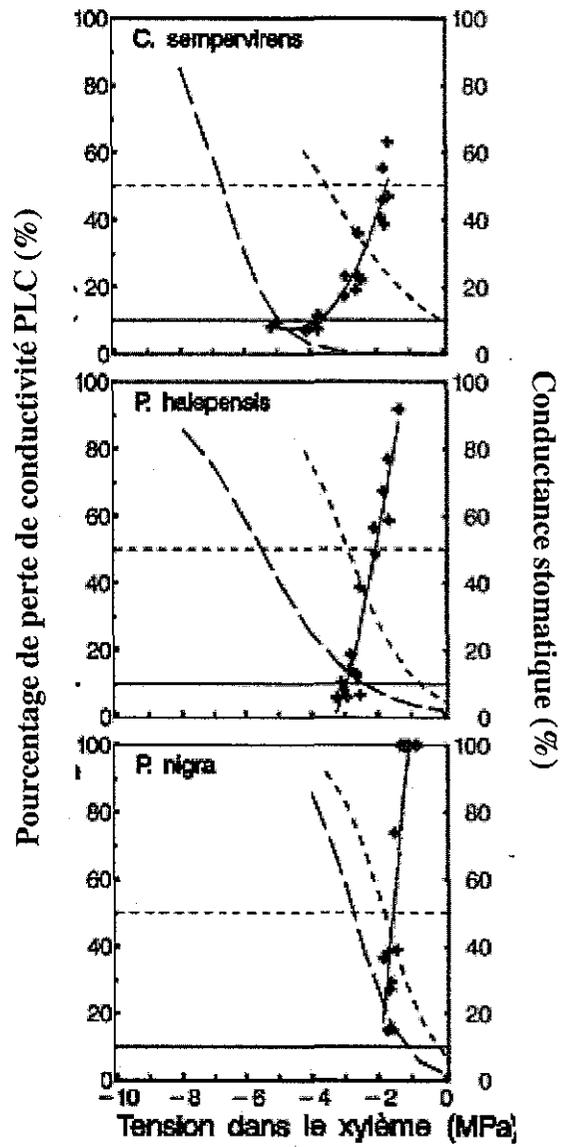


Fig. 5



Fabienne Froux, Roland Huc, Michel. Ducrey, Jean-Marc Guehl et Erwin Dreyer

Propriétés hydrauliques et conductances stomatiques : Conséquences pour l'efficacité
d'utilisation de l'eau de 4 conifères méditerranéens (*Cedrus atlantica*, *Pinus halepensis*,
Cupressus sempervirens et *Pinus nigra*).

In prep

Propriétés hydrauliques et conductance stomatique : conséquences pour l'efficacité d'utilisation de l'eau de 4 conifères méditerranéens (*Cedrus atlantica*, *Cupressus sempervirens*, *Pinus halepensis* et *Pinus nigra*).

Fabienne Froux ^{1,2}, Roland Huc ², Michel Ducrey ², Jean-Marc Guehl ¹ et Erwin Dreyer ^{1*}

¹ UMR INRA-UHP, Ecologie et Ecophysiologie Forestières, F-54280, Champenoux

² INRA-Unité de Recherches Forestières Méditerranéennes, Avenue A. Vivaldi, F-84000, Avignon

Texte : 14 pages

Figures : 4

Tableaux : 4

*Corresponding author: dreyer@nancy.inra.fr

Introduction

Les conifères méditerranéens présentent, du point de vue de leur fonctionnement hydrique, des comportements qui les distinguent nettement d'autres espèces ligneuses (Sperry et Tyree, 1990; Cochard, 1992; Borghetti, 1998; Ladjal, 2001). Froux et al (2002) ont montré l'existence d'une large gamme de vulnérabilité à la cavitation avec des potentiels hydriques induisant 50% de perte de conductivité allant de -2.8 MPa pour *Pinus nigra* à -3.8 MPa (*Cedrus atlantica*), -4.8 MPa pour *Cupressus sempervirens* et *Pinus halepensis* pour des espèces tolérantes. Sur ces mêmes espèces, une variabilité intra et interspécifique de conductivité hydraulique spécifique foliaire a pu être mise en évidence mais aucune compensation entre vulnérabilité et conductivité, c'est à dire entre sécurité et efficacité du xylème, n'a pu être détectée. Les propriétés hydrauliques du xylème jouent un rôle important dans la régulation de la transpiration. En effet le potentiel hydrique Ψ_w en tout point du xylème dépend de Van den Honert, 1948) :

$$\Psi_w = \Psi_{sol} - \frac{E}{g_L} \quad (A)$$

où Ψ_w et Ψ_{sol} sont respectivement les potentiels hydriques du xylème et de sol, g_L la conductance hydraulique totale ramenée à la surface foliaire totale du plant et E la transpiration. Les limites de la transpiration sont imposées par la conductance et le potentiel seuil de vulnérabilité. Jones et Sutherland (1991) ont montré en utilisant ce modèle, que la régulation stomatique pouvait jouer un rôle important dans le contrôle de l'embolie, en limitant l'augmentation des tensions dans le xylème. Les stomates se ferment à des potentiels proches de ceux induisant une embolie dans une large gamme d'espèces (Sperry et Pockman, 1993; Cochard et al, 1996 et Irvine et al, 1998). Ces observations renforcent l'hypothèse que les plantes fonctionnent à des potentiels proches de leur seuil de cavitation (Tyree et Sperry, 1988). La notion de marge de sécurité, écart entre le potentiel provoquant la fermeture totale des stomates et le potentiel induisant 10% de perte de conductivité, a été introduite par Adler et al (1996) pour mettre en évidence des fonctionnements différents pendant une contrainte hydrique. Parmi les espèces citées plus haut, *P. nigra* et *P. halepensis* présentaient une marge de sécurité très faible (<0.08MPa) avec une conductance stomatique nulle à -1.5 et -2.5MPa respectivement alors que chez *C. sempervirens*, elle était d'environ 1MPa (fermeture stomatique à -3.5MPa).

Ces différences de comportements stomatiques peuvent être responsables de différences d'efficacité intrinsèque d'utilisation de l'eau (W_i) défini comme:

$$W_i = \frac{A}{g_s} = \frac{(C_a - C_i)}{1.6} \quad (B)$$

où A est l'assimilation nette de CO_2 , g_s la conductance stomatique à la vapeur d'eau, C_a et C_i les concentrations en CO_2 dans l'atmosphère et à l'intérieur de la feuille avant sa carboxylation dans le chloroplaste. L'efficacité d'utilisation de l'eau est désormais déterminée à l'échelle d'une saison de végétation par l'intermédiaire de C_i , estimée par la composition isotopique du carbone. En effet le degré d'ouverture des stomates contrôle la diffusion de CO_2 dans la feuille et donc C_i . La variation du rapport C_i/C_a pendant une contrainte hydrique provoque une diminution de la discrimination contre le ^{13}C (Farquhar, 1982):

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{feuille}} = \delta^{13}\text{C}_a - a - (b - a) \frac{C_i}{C_a} \quad (\text{C})$$

où $\delta^{13}\text{C}_{\text{feuille}}$ est la composition isotopique relative en ^{13}C et ^{12}C dans les feuilles par rapport à une valeur standard, $\delta^{13}\text{C}_a$ est la composition du CO_2 atmosphérique actuellement (environ -7.8‰), a est la discrimination occasionnée par la diffusion (environ 4.4‰) et b par la carboxylation (27‰). La corrélation entre composition isotopique en ^{13}C et W_i a été peu analysée dans le cadre de différences interspécifique (Bonal et al, 2000; Zhang et al, 1996; Zhang et Cregg, 1996). La signature isotopique reste-t-elle un bon indicateur de l'efficacité d'utilisation de l'eau dans le cadre de comparaisons entre espèces? Ponton et al (2002) ont mis en évidence sur deux espèces de chêne (*Quercus robur* et *petraea*) cultivées sous différents régimes lumineux, une relation positive commune entre $\delta^{13}\text{C}$ des tiges et A/g_s .

Les différences de propriétés hydrauliques entre espèces s'expriment à des niveaux variables selon la disponibilité en eau dans le sol. Notre hypothèse est que, en situation non limitante, le potentiel seuil de cavitation a peu de chance d'être atteint, la conductivité spécifique aura un rôle majeur. Dans ce cas, on peut soupçonner que la conductance hydraulique (g_L) est élevée, qu'elle présente une conductance stomatique (g_s) également élevée et donc une efficacité d'utilisation de l'eau (W_i) plutôt faible. Les espèces présentant des g_L élevées auraient ainsi les W_i les plus faibles. En situation de contrainte, le potentiel seuil de cavitation joue un rôle important; chez les espèces vulnérables à la cavitation, les stomates se ferment tôt induisant W_i élevé, par contre dans le cas d'espèces peu vulnérables, la faible efficacité d'utilisation de l'eau sera liée à une fermeture tardive des stomates. Panek (1996) a démontré qu'il devait y avoir une relation entre W_i et la conductance hydraulique en combinant les équations (A) et (C), la relation entre la discrimination isotopique contre le ^{13}C et l'inverse de la conductance hydraulique spécifique foliaire. Waring et Sylvester (1994), Walcroft et al (1996) et Warren et Adams (2000) ont confirmé l'existence de cette relation faible en comparant la longueur des branches avec $\delta^{13}\text{C}$ et leur conductance hydraulique et Ponton (2001) en corrélant la composition isotopique d'un cerne de bois à son épaisseur chez *Quercus*. Panek l'a validée le long d'un transect allant de conditions climatiques sèches et chaudes à humides et froides chez *Pseudotsuga menziesii*, et Cernusak et Marshall (2001) en faisant varier la conductance hydraulique par des entailles dans les rameaux. La

comparaison interspécifique a été peu envisagée pour l'instant malgré ses conséquences sur l'adaptation des espèces à la sécheresse. Nous nous sommes donc demandé s'il existait une corrélation entre la composition isotopique et les caractéristiques hydrauliques des espèces méditerranéennes en intra et interspécifique et si la conductance hydraulique avait un rôle dans la détermination de l'efficacité d'utilisation de l'eau et de $\delta^{13}\text{C}$.

Pour répondre à ces questions, dans un premier temps nous avons testé la variabilité de la composition isotopique en ^{13}C des aiguilles de *Cedrus atlantica*, *Cupressus sempervirens*, *Pinus halepensis* et *Pinus nigra* dans différentes conditions expérimentales, en plantations et en serre, ainsi que celle de l'efficacité intrinsèque d'utilisation de l'eau et de la conductance hydraulique totale. Puis, après avoir vérifié, par l'étude de la composition isotopique du carbone de l'amidon, que la discrimination isotopique détectée sur les aiguilles étaient bien due à la photosynthèse et non à la différence de métabolisme post photosynthétique ou respiratoire, nous avons recherché l'existence d'une corrélation intraspécifique entre δ et A/g_s , en acclimatant les plants à deux niveaux de disponibilité en eau, ou interspécifique. Dans un dernier temps, nous avons testé l'existence de corrélation entre les caractéristiques hydrauliques et l'efficacité d'utilisation de l'eau.

Matériels et méthodes

1- Plants and growth conditions

En 1997 et 1998, des graines des trois espèces de conifères méditerranéens (*Cupressus sempervirens* L., *Pinus halepensis* Mill. et *Pinus nigra* Arn. ssp. *nigricans* Host. var. *austriaca*) ont été collectées dans des populations naturelles en région méditerranéenne française. Les graines ont été semées dans des pots en plastique de 0.4 litres au printemps 1998 à la pépinière des Milles proche d'Aix-en-Provence, France. Fin mars 1999 (pour les semis de 1997) et fin février 2000 (semis de 1998), les semis ont été transplantés dans des conteneurs de 7 litres, sur un milieu sable/tourbe/terre, (1/2/3, v/v/v) et placés dans une serre climatisée à Avignon. Les pots ont été arrosés une à deux fois par semaine selon le temps et une solution d'engrais liquide (Fertiligène NPK 9/9/9) a été ajoutée une fois par semaine à l'eau d'arrosage (1%). Les plants ont été élevés en serre avec 85% du rayonnement naturel. La température était maintenue en hiver au-dessus de 2°C par chauffage et en été entre 25 à 32°C par ventilation et refroidissement par cooling. Ces conditions de cultures ont été maintenues jusqu'au début de l'année 2000.

2- Experimental conditions and measurements

2-1 Comparaison de $\delta_{\text{aiguilles}}$ en plantation.

Fin juillet 2000, 12 plants des 4 espèces ont été sélectionnés de manière aléatoire dans une plantation comparative de 20-25 ans sur le territoire de la commune de La Bruguière (Gard, France). Sur chaque plant, des aiguilles de l'année ont été récoltées à 2 mètres de haut dans les directions est, ouest et sud.

Composition isotopique: les aiguilles prélevées en plantation ont été séchées à 65°C pendant 3 jours et broyées finement (0.2mm, Mesh). Environ 1mg de cette poudre a été pesée et analysée dans un spectromètre de masse (Finnigan Delta S mass spectrometer, Finnigan-Mat). La composition isotopique du carbone ($\delta^{13}\text{C}$) de l'échantillon d'aiguille entière a été exprimée en ‰ par rapport à celui du standard PDB.

2-2 Comparaison de $\delta_{\text{aiguilles}}$ et A/g sur des jeunes plants.

Traitements hydriques: De début mars 2000 à octobre 2000, les plants de *C. sempervirens*, *P. nigra*, *P. halepensis* et *C. atlantica* ont été soumis à deux traitements hydriques: une alimentation optimale en eau ou une sécheresse modérée (l'humidité volumique dans le pot est fixée à 5% correspondant à des potentiels hydriques dans le sol compris entre -1.2 et -1.5 MPa).

Mesure d'échanges gazeux: Fin juillet 2000, 12 plants par espèce et par traitements ont été arrosés à capacité au champ pendant 2 jours et placés en chambre climatisée (conditions climatiques jour-nuit: CO₂ 360-400 μmol mol⁻¹, humidité relative 70%-95%, température 27°C/27°C, éclairement 750/0 μmol m⁻² s⁻¹ dans le PAR). La conductance stomatique (g_s: mmol m⁻² s⁻¹) et l'assimilation nette de CO₂ (A: μmol m⁻² s⁻¹) ont été mesurées avec un système portable de mesure d'échanges gazeux LI-6200 (Li-Cor Inc., Lincoln, NE) sur les rameaux de l'année. A et g_s sont exprimées en fonction de la surface foliaire projetée. Les échanges gazeux instantanés ont été utilisés pour estimer l'efficacité intrinsèque d'utilisation de l'eau (W_i: μmol mol⁻¹): W_i=A/g_s.

Les aiguilles des rameaux ayant servi aux échanges gazeux ont été prélevées, séchées broyées et pesées. La poudre a été utilisée pour des mesures de discrimination isotopique.

2-3 Corrélation δ_{aiguille}, δ_{amidon} et g_L.

En juillet 2001, deux traitements ont été appliqués à des plants de 3 ans en serre: un traitement témoin, où les plants étaient maintenus à capacité au champ, et un traitement sec obtenu en desséchant des plants jusqu'à une humidité volumique du sol de 5% (mesurée par une sonde de type TDR). Les traitements ont été maintenus pendant 8 jours. La quantité d'eau apportée à chaque pot est dépend en fonction de la transpiration de la journée.

Les expériences ont été menées sur dix plants par traitement et par espèce. Les plants ont été placés en conditions contrôlées pendant 6 jours (conditions climatiques jour- nuit : CO₂, 360-400 mol m⁻² s⁻¹, humidité relative, 80%-95%, température, 25-21°C). Les pots ont été recouverts de plastique pour empêcher les pertes d'eau par évaporation directe du substrat. La première journée, les plants ont été maintenus à l'obscurité pour que les sucres solubles et l'amidon résiduel soient consommés par la respiration. Les jours suivants, l'éclairage était de 750 μmol m⁻² s⁻¹ dans le PAR avec une photopériode de 14 heures. La disponibilité en eau des plants est contrôlée dans la chambre de la même manière qu'en serre.

Etat hydrique: Les potentiels hydriques de base (Ψ_b: MPa) et foliaire (Ψ_L) ont été mesurés pendant 4 jours avec une chambre à pression de type Scholander sur des rameaux latéraux de l'année. La conductance stomatique et l'assimilation nette de CO₂ ont été mesurées à 10h et 15h pendant 4 jours, et aucune différence significative n'a été notée entre les deux heures de mesure. La transpiration totale des plants a été estimée par pesée et rapportée à l'unité de surface projetée d'aiguilles (E: mmol m⁻² s⁻¹). La conductance hydraulique totale (g_L: mmol m⁻² s⁻¹ MPa⁻¹) entre le sol et les aiguilles a été calculée en utilisant la transpiration et la différence de potentiel entre le sol et les aiguilles et exprimée par unité de surface foliaire:

$$g_L = \frac{E}{(\Psi_b - \Psi_L)}$$

Ψ_b étant considéré proche du potentiel hydrique dans le sol si on considère que la transpiration nocturne est nulle.

Composition isotopique des aiguilles entières (δ_{aiguille}) et de l'amidon (δ_{amidon}): Pour chaque plant de l'expérimentation, un échantillon d'aiguilles a été prélevé sur un rameau de l'année et congelé rapidement dans l'azote liquide (-180°C) avant d'être lyophilisé puis finement broyé avec un broyeur à bille (MM2000, Retsch®). Un échantillon d'environ 1 mg de cette poudre a été analysé dans un spectromètre de masse (Finnigan Delta S mass spectrometer, Finnigan-Mat).

La méthode d'extraction de l'amidon a été adaptée de Deléens et Garnier-Dardart (1977). Environ 200 mg de poudre lyophilisée sont placés 20 minutes au bain marie avec 4 ml d'éthanol puis centrifugés 10 minutes à 10 000G (MR22i, Jouan). Après épuisement deux fois à l'eau ultra-pure, le culot est séché dans un évaporateur rotatif (Maxi Dry Plus, Heto). L'amidon contenu dans le culot est alors solubilisé par HCl 6N puis séparé des débris cellulaires par centrifugation 12000G pendant 30 minutes. L'amidon est précipité une nuit à 4°C dans le méthanol 80% avant d'être récupéré et séché. Environ 1 mg est pesé et analysé au spectromètre de masse.

Estimation de la composition isotopique théorique du ^{13}C ($\delta^{13}\text{C}$).

Une composition isotopique théorique δ_{th} a été calculée à partir des échanges gazeux en considérant que les concentrations en CO_2 intercellulaire C_i et aux sites de carboxylation (C_c) sont égales c'est à dire que l'on néglige les résistances mésophyllienne d'après l'équation de Farquhar et al (1982) en considérant pour les quatre espèces $a=4.4\%$, $b=27\%$.

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{th}} = \delta^{13}\text{C}_{\text{air}} - a - (b - a) \frac{C_i}{C_a}$$

La différence entre $\delta^{13}\text{C}$ théorique et $\delta^{13}\text{C}$ mesuré sera directement proportionnel à la conductance au CO_2 des cavités sous stomatiques au stroma chloroplastique.

3- Analyses statistiques

Les effets des traitements expérimentaux ont été testés par une analyse de variance. La significativité des différences entre les moyennes a été estimée par le test de comparaison multiple de moyennes de Duncan ($p < 0.05$) qui autorise des échantillonnages de taille différentes (procédure GLM, SAS, Statistical Analysis System, Cary, NC).

Résultats

Comparaison interspécifique de $\delta_{\text{aiguilles}}$.

Les 4 espèces étudiées présentent des compositions isotopiques en ^{13}C significativement différentes (tab. 1). La gamme de valeurs était comprise entre -27.8 et -22.9‰ avec un écart moyen maximum de 3.22‰. *C. atlantica* présentait la valeur moyenne la plus négative (-27.0‰) devant *P. halepensis* et *P. nigra* (-25.2 et -25.1 ‰), *C. sempervirens* présente les valeurs les moins faibles (-23.8 ‰). Ce classement est conservé quelque soit le prélèvement et l'année, excepté pour *P. nigra* en 2001 qui présentait des valeurs peu négatives, comparables à celles de *C. atlantica* (-27.8). En 2000, les aiguilles des plants en serre soumis à une faible disponibilité en eau pendant toute la saison de végétation présentait des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ significativement moins faibles que les plants élevés dans les mêmes conditions mais non limités en eau sauf chez *C. atlantica*. Ce décalage était de 0.8 à 2‰ selon les espèces.

δ_{amidon} versus $\delta_{\text{aiguilles}}$

Une étroite corrélation ($r^2=0.88$) entre $\delta^{13}\text{C}$ de l'amidon et $\delta^{13}\text{C}$ des aiguilles entières a été détectée (fig.1); pour toutes les espèces, $\delta^{13}\text{C}$ de l'amidon est décalée vers des valeurs moins négatives (de 0.7 ‰ pour les pins à 1.6 pour *C. atlantica* et 2.6 ‰ pour *C. sempervirens*) par rapport au $\delta^{13}\text{C}$ des aiguilles entières. La différence interspécifique est donc bien due à une différence de discrimination pendant la photosynthèse, et non à des différences métaboliques

Comparaison interspécifique d'efficience d'utilisation de l'eau intrinsèque (A/g_s)

Les 4 espèces présentaient des conductances stomatiques, mesurées en chambre climatisée, très différentes (tab. 2). En effet en 2000, g_s variait de 216 $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ chez *C. sempervirens* à 47.0 pour *C. atlantica* avec des valeurs intermédiaires pour les pins. En 2001, *P. nigra* présentait les valeurs de g_s les plus élevées (108 $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) par rapport à *C. sempervirens* et *P. halepensis* (91.5 et 84.7). *C. atlantica* présentait toujours les valeurs significativement les plus faibles. En 2001, une disponibilité en eau limitée (potentiel de base entre -1.5 et -2 MPa) a provoqué la diminution de g_s pour les 4 espèces. A/g_s , efficience intrinsèque d'utilisation instantanée de l'eau, était également différente entre espèces. Elle variait en 2000 de 69.8 μmolmol^{-1} chez *P. nigra* et 67.6 chez *C. atlantica* à 31.7 chez *C. sempervirens* avec une valeur intermédiaire de 55.0 chez *P. halepensis*. En 2001, on a rencontré toujours les valeurs les plus élevées chez les pins (proche de 92 μmolmol^{-1}) alors que *C. atlantica* présentait la valeur la plus faible (59.0). Une faible disponibilité en eau a provoqué une augmentation significative de A/g_s , excepté chez *C. atlantica*.

Conductances hydrauliques totales

Les conductivités hydrauliques totales (g_L), mesurées en 2001, étaient significativement différentes entre espèces dans le cas d'une bonne alimentation en eau (tab. 3). En effet, les valeurs moyennes variaient de $5.4 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ chez *P. halepensis* à 2.1 chez *C. atlantica*, *P. nigra* et *C. sempervirens* présentaient des valeurs intermédiaires (respectivement 4.4 et $3.8 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Une faible disponibilité en eau a provoqué une diminution de g_L significative pour toutes les espèces sauf *C. atlantica*.

Efficiences intrinsèque d'utilisation de l'eau versus composition isotopique

Une relation linéaire positive intraspécifique a été mise en évidence entre $\delta^{13}\text{C}$ et A/g_s (Tab. 4). Elle a été obtenue en faisant varier la disponibilité en eau sur toute une saison de végétation. Les pentes des régressions linéaires n'étaient pas significativement différentes excepté chez *C. atlantica*. Le r^2 variait de 0.6 chez *C. sempervirens* à 0.47 et 0.38 respectivement chez *P. halepensis* et *P. nigra*. Il était plus faible chez *C. atlantica*.

Aucune relation interspécifique entre $\delta^{13}\text{C}$ et A/g_s n'a pu être mise en évidence quelque soit l'année de mesure (fig. 2).

Relation entre les paramètres hydrauliques et efficacité d'utilisation de l'eau.

Il existe une relation interspécifique faible entre la conductance stomatique et la conductance hydraulique totale (fig.3-a). Une relation interspécifique linéaire positive a été mise en évidence entre A/g_s et g_L (fig.3-b). Elle dépend fortement de l'alimentation en eau des plants.

Comparaison entre δ_{th} et $\delta_{mesuré}$

Les $\delta^{13}\text{C}$ théoriques (δ_{th}) ont été calculés à partir des échanges gazeux obtenus sur les plants bien alimentés en eau en 2001 et comparés aux valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ obtenues sur l'amidon $\delta_{mesuré}$. La valeur théorique est calculée d'après Farquhar (1982) qui considère que la conductance interne au CO_2 (g_i) est infinie (résistance interne nulle). L'écart entre δ_{th} et $\delta_{mesuré}$ (fig. 4) peut être en partie dû à une conductance interne mesurable et significative chez *C. sempervirens* et *C. atlantica* que l'on peut

estimer. Ainsi g_i serait de 0.079 (0.010) $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ et 0.057 (0.004) $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ respectivement chez *C. sempervirens* et *C. atlantica*.

Discussion

Les quatre espèces étudiées diffèrent du point de vue de leurs caractéristiques hydrauliques (Froux et al, 2002). En effet une large gamme de niveaux de vulnérabilité à la cavitation (de -2.8 chez *P. nigra* à -4.9 MPa chez *P. halepensis*) et de conductivités hydrauliques spécifiques foliaires (de 7.11 chez *P. halepensis* à 33.09 mmol m⁻¹ s⁻¹ MPa⁻¹ chez *C. sempervirens*) a été mise en évidence sur les mêmes espèces. Dans le cadre de l'hypothèse d'une relation entre les caractéristiques hydrauliques et l'efficacité d'utilisation de l'eau nous nous sommes demandés si les espèces différaient également du point de vue de leur efficacité intrinsèque d'utilisation de l'eau. Nos résultats montrent qu'il existe une large gamme de composition isotopique en ¹³C dans les aiguilles des espèces de conifères méditerranéens étudiées, de environ -23‰ à -27‰; le classement des espèces reste quasi stable dans des conditions expérimentales contrastées: *C. sempervirens* moins négatif que les pins et *C. atlantica* est toujours le plus négatif sauf en 2001. Une telle gamme de discrimination isotopique dans un même milieu et un classement stable a été précédemment décrite sur *Pinus sylvestris*, *Pinus cembra* et *Larix decidua* provenant des Alpes italiennes (Valentini et al, 1994) et en forêt guyanaise française sur une cinquantaine d'espèces (Bonal, 2000). La composition isotopique des aiguilles entières dépend partiellement de leur composition biochimique. Le carbone des aiguilles est constitué du carbone structurel et du carbone mobilisable issu directement de la photosynthèse (Lajtha et Getz, 1993, Brendel, 2001). Une relation linéaire a été mise en évidence entre la composition isotopique du carbone de l'amidon et des aiguilles entières montrant que le δ¹³C des aiguilles entières reflète bien la discrimination pendant la photosynthèse.

De fortes différences en terme de A/g_s (efficacité intrinsèque d'utilisation de l'eau), ont été mises en évidence. Elles peuvent avoir pour origine des différences d'assimilation nette de CO₂ et/ou de conductance stomatique. En effet, *C. sempervirens* présente une forte conductance stomatique pour une faible assimilation contrairement aux pins. L'effet g_s paraît plus le plus important.

Les variations de discrimination isotopique du ¹³C et de A/g_s sont corrélées à l'intérieur d'une espèce. En effet l'efficacité intrinsèque d'utilisation de l'eau est augmentée en relation avec une augmentation de δ¹³C lorsque les plants se développent sous une contrainte hydrique. La discrimination isotopique est donc, dans ce cas, un bon estimateur de l'efficacité d'utilisation de l'eau. Par contre, aucune relation n'a pu être établie entre δ¹³C et W_i lorsque l'on compare les espèces. Nos résultats contredisent ceux de Knight et al (1994) qui ont établi sur des graminées de prairies canadiennes pendant une saison de végétation une corrélation positive. En considérant la relation intraspécifique précédente, les caractéristiques hydrauliques et les régulations stomatiques, notre hypothèse était que *P. nigra* aurait la valeur la plus élevée d'efficacité de l'eau intrinsèque, corrélée à une composition isotopique en ¹³C peu négative. Au contraire, *P. halepensis* et *C. sempervirens*, sur

les mêmes critères devaient être moins efficient ($\delta^{13}\text{C}$ plus négatif). Plusieurs facteurs peuvent être impliqués dans l'absence de cette relation.

Le premier concerne le problème lié à la comparaison entre une mesure qui intègre toute une saison de végétation et une autre qui concerne une mesure instantanée. Nous avons limité ce problème en effectuant les mesures sur plusieurs jours à des moments différents de la journée: pour chaque plant, la valeur d'efficacité d'utilisation de l'eau représente 7 mesures faites à des moments différents de la journée et sur 4 jours, elle prend donc en compte les fluctuations diurnes ou liées à la répartition de l'eau dans le sol.

Le second facteur pouvant expliquer la dérive par rapport à la relation théorique est l'existence d'une conductance interne variable entre espèce. La différence ($\Delta_{\text{calculé}} - \Delta_{\text{mesuré}}$) est expliquée par l'erreur faite lors de l'estimation de la concentration en CO_2 aux sites de carboxylation (C_c) par C_i . La différence entre les discriminations estimées et calculées est alors directement liée à la conductance mésophyllienne g_i (Evans et Von Caemmerer, 1996), elles sont négligeables dans le cas des pins mais pas dans ceux de *C. sempervirens* ($0.079 \text{ mol m}^{-1} \text{ s}^{-2}$) et *C. atlantica* ($0.057 \text{ mol m}^{-1} \text{ s}^{-2}$).

Le troisième facteur est la différence de discrimination du ^{13}C due à la rubisco. Nous avons considéré que b , les coefficients de fractionnement lors de la carboxylation était stable entre espèces. Toutefois Evans et al (1986) ont émis l'hypothèse de l'existence d'une variation de la fraction de carbone fixé par la phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPc). Dans ce cas, il serait nécessaire de re-paramétrer le modèle de Farquhar.

Quel que soit le moment où les mesures d'échanges gazeux ont été effectuées, W_i de *P. nigra* est toujours plus élevé que *P. halepensis* et la valeur la plus faible est obtenue pour *C. sempervirens* et *C. atlantica*. Ces observations vont dans le sens des valeurs élevées obtenues sur *P. pinaster* (forte sensibilité des stomates à la sécheresse) en comparaison des faibles de *Quercus petraea* (sensibilité stomatique plus faible) (Picon, 1996). Notre hypothèse de départ est donc valable si nous ne prenons en compte que l'efficacité d'utilisation de l'eau intrinsèque mesurée par A/g_s .

Contrairement au résultats de Engelbrecht (2000), la conductance hydraulique des espèces évitantes (*P. nigra*) n'est pas significativement plus élevée que celle de toutes les espèces tolérante. La conductance hydraulique totale des plants, calculée d'après la transpiration est moins précises qu'une mesure par flux mètre à haute pression (HPFM) (Tsuda et Tyree, 2000) ce qui a pu gommer des effets entre espèces dans notre étude. Cette méthode a cependant été utilisée car elle n'est pas destructrice.

Nos résultats montrent comme attendu une relation négative intraspecificque entre W_i et la conductivité hydraulique totale. Par contre entre espèces, cette relation est inversée: une forte

efficience d'utilisation de l'eau est corrélée à une forte efficience de transfert de l'eau. Nous devons être conscient dans cette étude, des limites imposée par la culture en pot. Le développement racinaire peut être limitée, modifiant ainsi la conductance hydraulique totale de la plante. Deux groupes d'espèces se détachent dans la figure 3. Le premier est constitué de *C. atlantica* et *C. sempervirens*, avec de faibles efficacités et de faibles conductances hydrauliques et le second des pins *P. nigra* et *P. halepensis* qui ont une W_i élevé pour une g_L élevée. pour les pins, il semble y a voir une "optimisation" de la consommation de l'eau par une assimilation nette importante. Brodrribb et Field (2000) ont d'ailleurs mis en évidence sur une large gamme d'espèces tropicales, que la capacité photosynthétique maximale était limitée par la conductivité hydraulique des parties aériennes. Chez les pins, l'eau est disponible dans le sol, l'assimilation est importante et une part des assimilats pourrait être mise en réserve pour les périodes de sécheresse où les stomates seront fermés: la conductance stomatique de *P. nigra* diminue tôt pendant le dessèchement du sol (-2 MPa) et chez *P. halepensis* le rapport entre surface évaporante et surface conductrice élevée (Froux et al, 2002) provoque l'existence de fortes tensions en permanence dans le xylème, si elles sont accentuées par une chute du potentiel hydrique du sol, le potentiel seuil de fermeture stomatique sera vite atteint. Ces deux espèces limitent leurs prélèvements d'eau pour en disposer plus longtemps pendant les périodes sèches. *C. sempervirens* et *C. atlantica* n'ont pas ce comportement d'économie, car elles ont la capacité de tolérer des potentiels très négatifs.

Références bibliographiques:

- Bonal D. 2000. Variabilité interspécifique de l'efficacité d'utilisation de l'eau en forêt tropicale humide guyanaise. Goupes fonctionnels, interprétation écophysiological et intégration à l'échelle du couvert. Mémoire de Thèse, Université Henri Poincaré, Nancy I. 100p.
- Bond B.J., Kavanagh K.L. 1999. Stomatal behavior of four woody species in relation to leaf specific hydraulic conductance and threshold water potential. *Tree Physiology* 19, 503-510.
- Brodribb T.J., Field T.S. 2000. Stem hydraulic supply is linked to leaf photosynthetic capacity: evidence from New Caledonian and Tasmanian rainforests. *Plant Cell and Environment* 23, 1381-1388.
- Cernusak L.A., Marshall J.D. 2001. Responses of foliar $d^{13}C$, gas exchange and leaf anatomy to reduced hydraulic conductivity in *Pinus monticola* branches. *Tree Physiology* 21, 1215-1222.
- Cochard H., Bréda N., Granier A. 1996. Whole tree hydraulic conductance and water loss regulation in *Quercus* during drought: evidence for stomatal control of embolism? *Annals of Forest Science* 53, 197-206.
- Engelbrecht B.M.J., Velez V., Tyree M.T. 2000. Hydraulic conductance of two co-occurring neotropical understory species with different habitat preferences. *Annals of forest science*. 57, 201-208.
- Evans J.R., Sharkey T.D., Berry J.A., Farquhar G.D. 1986. Carbon isotope discrimination measured concurrently with gas exchange to investigate CO_2 diffusion in leaves of higher plants. *Australian Journal of Plant Physiology* 13, 281-292.
- Evans J.R., Von Caemmerer S. 1996. Carbon dioxide diffusion inside leaves. *Plant Physiology* 110, 339-346.
- Farquhar G., O'Leary M.H., Berry J.A. 1982. On the relationship between carbon isotope discrimination and intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Australian Journal of Plant Physiology* 9, 121-137.
- Frensch J., Steudle E. 1989. Axial and radial hydraulic resistance to roots of maize (*Zea mays L.*). *Plant Physiology* 91, 719-726.
- Guehl J.M., Aussenac G., Bouachrine J., Zimmermann R., Pennes J.M., Ferhi A., Grieu P. 1991. Sensitivity of leaf exchange to atmospheric drought, soil drought, and water-use efficiency in some Mediterranean *Abies* species. *Canadian Journal of Forest Research* 21, 1507-1515.

- Guehl J.-M., Picon C., Senequier C. 1993. Discrimination isotopique et efficacité d'utilisation de l'eau chez les arbres forestiers. In Utilisation des isotopes stables pour l'étude du fonctionnement des plantes (eds INRA (Les colloques), pp. 84-101. Paris (France).
- Irvine J., Perks M.P., Magnani F., Grace J. 1998. The response of *Pinus sylvestris* to drought: stomatal control of transpiration and hydraulic conductance. *Tree Physiology* 18, 393-402.
- Knight J.D., Livingston N.J., Van Kessel C. 1994. Carbon isotope discrimination and water-use efficiency of six crops grown under wet and dryland conditions. *Plant Cell and Environment* 17, 173-179.
- Kolb T.E., Stone J.E. 2000. Differences in leaf gas exchange and water relations among species and tree sizes in an Arizona pine-oak forest. *Tree Physiology* 20, 1-12.
- Lajtha K., Getz J. 1993. Photosynthesis and water-use efficiency in pinyon-juniper communities along an elevation gradient in northern New Mexico. *Oecologia* 94, 95-101.
- Logullo M.A., Salleo S., Piaceri E.C., Rosso R. 1995. Relation between vulnerability to xylem embolism and xylem conduit dimensions in young trees of *Quercus cerris*. *Plant, Cell and Environment* 18, 661-669.
- Meinzer F.C., Goldstein G., Franco A.C., Bustamante M., Iglar E., Jackson P., Caldas L., Rundel P.W. 1999. Atmospheric and hydraulic limitations on transpiration in Brazilian cerrado woody species. *Functional Ecology* 13, 273-283.
- Meinzer F.C., Grantz D.A. 1990. Stomatal and hydraulic conductance in growing sugarcane : stomatal adjustment to water transport capacity. *Plant, Cell and Environment* 13, 383-388.
- Nardini A., Tyree M.T. 1999. Root and shoot hydraulic conductance of seven *Quercus* species. *Annals of Forest Science* 56, 371-377.
- Panek J.A. 1996. Correlations between stable carbon-isotope abundance and hydraulic conductivity in Douglas-fir across a climate gradient in Oregon, USA. *Tree Physiology* 16, 747-755.
- Panek J.A., Waring R.H. 1995. Carbon isotope variation in Douglas-fir: improving the $\delta^{13}\text{C}$ -climate relationship. *Tree Physiology* 15, 657-663.
- Picon C., Guehl J.-M., 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 and Environment* 19, 182-190.
- Sellin A. 2001. Hydraulic and stomatal adjustment of Norway spruce to environmental stress. *Tree Physiology* 21, 879-888.

- Sperry J.S., Pockman W.T. 1993. Limitation of transpiration by hydraulic conductance and xylem cavitation in *Betula occidentalis*. *Plant, Cell and Environment* 16, 279-287.
- Steudle E. 2000. Water uptake by roots: effects of water deficit. *Journal of Experimental Botany* 51, 1531-1542.
- Tsuda M., Tyree M.T. 2000. Plant hydraulic conductance measured by the high pressure flow meter in crop plants. *Journal of Experimental Botany* 51, 823-828.
- Tyree M.T., Ewers F.W. 1991. Transley Review N°34. The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *New Phytologist* 119, 345-360.
- Valentini R., Anfodillo T., Ehleringer J.R. 1994. Water sources and carbon isotope composition ($\delta^{13}\text{C}$) of selected tree species of the Italian Alps. *Canadian Journal of Forest Research* 24, 1575-1578.
- 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 Physiology* 16, 281-286.
- Waring R.H., Silvester W.B. 1994. Variation in foliar $\delta^{13}\text{C}$ values within the crowns of *Pinus radiata* trees. *Tree Physiology* 14, 1203-1213.
- Warren C.R., Adams M.A. 2000. Water availability and branch length determine $\Delta^{13}\text{C}$ in foliage of *Pinus pinaster*. *Tree Physiology* 20, 637-643.
- Whitehead D., Jarvis P.G., Waring R.H. 1984. Stomatal conductance, transpiration, and resistance to water uptake in a *Pinus sylvestris* spacing experiment. *Canadian Journal of Forest Research* 14, 692-700.

Légende des figures:

Fig. 1 : Relation en 2001 entre la composition isotopique en ^{13}C obtenues sur des aiguilles entières et sur un extrait d'amidon purifié δ_{amidon} chez *C. atlantica* (triangle, $r^2=0.62$, $\delta_{\text{amidon}} = -26.08 \pm 0.98$), *C. sempervirens* (cercle, $r^2=0.92$, $\delta_{\text{amidon}} = -21.25 \pm 0.97$), *P. halepensis* (carré, $r^2=0.68$, $\delta_{\text{amidon}} = -24.05 \pm 0.59$) et *P. nigra* (losange, $r^2=0.98$, $\delta_{\text{amidon}} = -27.12 \pm 1.12$). La régression sur les 4 espèces donne un $r^2=0.87$. Chaque point représente un plant. La droite pointillée est la bissectrice ($1=1$).

Fig. 2 : Relation entre la composition isotopique en ^{13}C ($\delta^{13}\text{C}$) obtenu sur des aiguilles entières en serre en 2000 (a) sur des plants préconditionnés à une sécheresse modérée (symboles ouverts) ou bien alimenté en eau (symboles fermés) et en 2001 (b) et l'efficacité d'utilisation de l'eau instantanée (A/g) chez 4 conifères. Chaque point représente la moyenne de 10 plants (SEM). Les flèches indiquent la variation de composition isotopique due à la sécheresse.

Fig. 3 : Relation entre conductance hydraulique totale et conductance stomatique (a) et l'efficacité intrinsèque d'utilisation de l'eau (b) chez *C. sempervirens* (cercle), *P. nigra* (triangle en haut), *C. atlantica* (triangle en bas) et *P. halepensis* (carré). Les symboles pleins représentent le traitement sans limitation en eau, les symboles ouverts, le traitement limité en eau. Chaque point représente la moyenne (SEM) de 2 mesures sur 10 plants. En (b), les droites représentent les régressions linéaires pour les 4 espèces et les 2 traitements hydriques: bien alimenté (ligne continue, $r^2=0.74$) et limité en eau (ligne pointillée, $r^2=0.25$).

Fig. 4 : Relation entre la discrimination isotopique théorique contre le ^{13}C , calculée d'après Farquhar et al (1982) (ligne continue), et mesurée dans l'amidon (symboles), et C_i/C_a le rapport des concentrations intercellulaire et atmosphérique en CO_2 chez 4 espèces de conifères méditerranéens. Δ théorique est calculé en estimant la pression partielle au site de carboxylation égale à la pression partielle intercellulaire. Les flèches indiquent la différence entre les deux discriminations. Chaque point est la moyenne de 5 à 10 valeurs.

Tableau 1 : Composition isotopique ($\delta^{13}\text{C}$) des aiguilles de 4 espèces de conifères méditerranéens prélevées sur des arbres de 20 à 25 ans en plantation ou sur des plants de 3 ans élevés en serre dans différentes conditions. Moyenne (écartype), n=10 à 12 individus. $\delta^{13}\text{C}$ de chaque individu en plantation est la moyenne de 3 prélèvements sur l'arbre. Deux lettres différentes indiquent une valeur significativement différente dans une même condition. Une étoile indique une différence significative entre traitements sec et humide en 2000.

	Année 2000			2001	moyenne totale des aiguilles
	plantation	serre		serre	
	(fin juillet)	Traitement humide	Traitement sec	Aiguilles	
<i>C. atlantica</i>	-26.20 ^c (0.50)	-27.81 ^c (1.06)	-27.60 ^c (0.91)	-27.61 ^c (0.97)	-27.01^c (1.24)
<i>C. sempervirens</i>	-23.73 ^a (0.99)	-24.73 ^a (0.71)	-22.93 ^{a*} (0.54)	-23.85 ^a (0.51)	-23.79^a (0.77)
<i>P. halepensis</i>	-25.84 ^c (0.51)	-25.64 ^b (0.67)	-23.13 ^{a*} (0.63)	-24.82 ^b (0.48)	-25.16^b (1.10)
<i>P. nigra</i>	-24.70 ^b (0.44)	-25.27 ^{ab} (0.64)	-24.46 ^{b*} (0.85)	-27.82 ^c (0.75)	-25.13^b (1.21)
Ecart entre les moyennes extrêmes	2.47	3.08	4.67	3.97	3.22

Tableau 2 : Conductance stomatique (gs) et efficacité d'utilisation de l'eau intrinsèque (A/gS) par espèce obtenues en chambre climatisée en 2000 et en 2001 (dans les deux conditions de disponibilité en eau). Moyenne (SEM). Une lettre similaire signifie que deux valeurs ne sont pas significativement différentes pour les comparaisons entre espèces, S et NS montre une différence significative ou non entre traitement à l'intérieur d'une espèce en 2001.

		2000		2001		effet traitement
		$\Psi_{\text{base}} > -1.0\text{MPa}$	$\Psi_{\text{base}} > -1.0\text{MPa}$	$-1.5\text{MPa} < \Psi_{\text{base}} < -2.0\text{MPa}$		
Conductance stomatique ($\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) n=10	<i>C. atlantica</i>	47.0 (7.2) ^d	55,5 (5.7) ^c	30.3 (2.3) ^a	S	
	<i>C. sempervirens</i>	216.0 (9.6) ^a	91.5 (4.9) ^b	43.2 (4.5) ^b	S	
	<i>P. halepensis</i>	155.2 (9.3) ^b	84.7 (9.6) ^b	35.9 (1.7) ^a	S	
	<i>P. nigra</i>	127.8 (11.1) ^c	107.7 (12.3) ^a	46.8 (5.05) ^b	S	
A/gS ($\mu\text{mol mol}^{-1}$) n=10	<i>C. atlantica</i>	67.6 (3.6) ^a	59.0 (4.9) ^c	53.6 (7.0) ^c	NS	
	<i>C. sempervirens</i>	31.7 (3.0) ^b	67.4 (3.5) ^b	92.2 (3.8) ^b	S	
	<i>P. halepensis</i>	55.0 (3.5) ^a	89.7 (5.7) ^a	131.8 (11.0) ^a	S	
	<i>P. nigra</i>	69.8 (3.4) ^a	95.0 (6.3) ^a	104.3 (8.3) ^b	S	

Tableau 3 : Conductance hydraulique totale (g_L ; $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{MPa}$) calculée en 2001 sur des plants de *C. atlantica*, *C. sempervirens*, *P. halepensis* et *P. nigra* dans une conditions de bonne alimentation en eau (humide avec une humidité volumique du sol proche de 20) et limitée en eau (HV proche de 5% pendant 15 jours). g_L a été calculé à partir de la transpiration totale du plant et de la différence de potentiel entre le sol et les feuilles, Moyenne (SEM). Une lettre similaire signifie que deux valeurs ne sont pas significativement différentes pour les comparaisons entre espèces, S et NS montrent une différence significative ou non entre traitements à l'intérieur d'une espèce.

	g_L ($\text{mmolm}^{-2}\text{s}^{-1}\text{MPa}$) n=10		effet traitement
	$\Psi_{\text{base}} > -1.0\text{MPa}$	$-1.5\text{MPa} < \Psi_{\text{base}} < -2.0\text{MPa}$	
<i>C. atlantica</i>	2.13 (0.28) ^b	1.69 (0.49) ^a	NS
<i>C. sempervirens</i>	3.75 (0.21) ^a	1.51 (0.12) ^a	S
<i>P. halepensis</i>	5.38 (0.88) ^a	1.98 (0.20) ^a	S
<i>P. nigra</i>	4.43 (0.69) ^a	2.25 (0.45) ^a	S

Tableau 4 : Régressions linéaires établies en 2000 entre A/gs et $\delta^{13}\text{C}$ englobant pour chaque espèce les valeurs des plants ayant subi une sécheresse longue mais modérée et les plants du traitement témoins. Le nombre d'échantillons par espèce est de 24, a et b sont l'ordonnée à l'origine et la pente de la droite de régression. Les régression obtenues sur l'ensembles des points d'une même espèce sont significatives.

Espèce	a	b	r ²
<i>C. atlantica</i>	-29.00	0.02	0.22
<i>C. sempervirens</i>	-25.86	0.045	0.60
<i>P. halepensis</i>	-27.71	0.049	0.47
<i>P. nigra</i>	-27.19	0.031	0.38

Figure 1

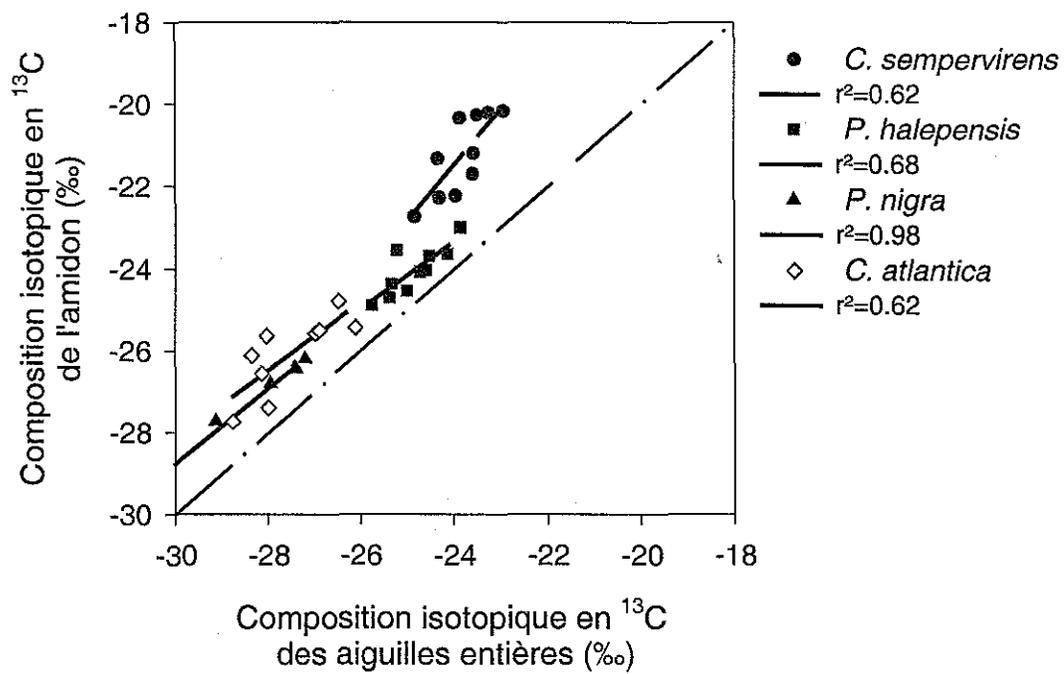


Figure 2

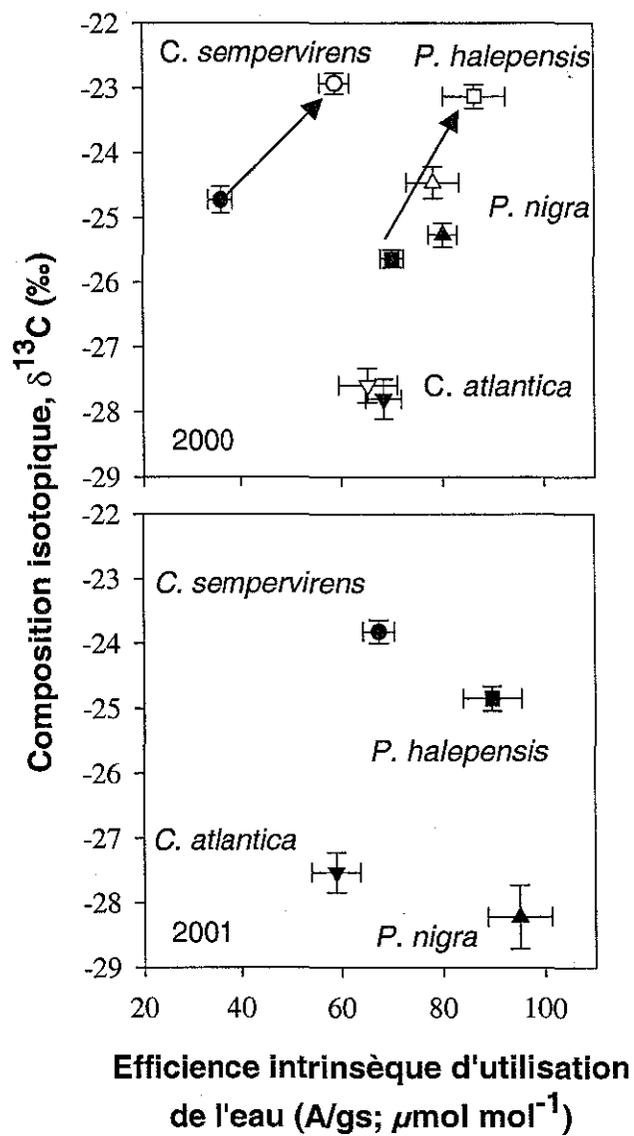


Figure 3

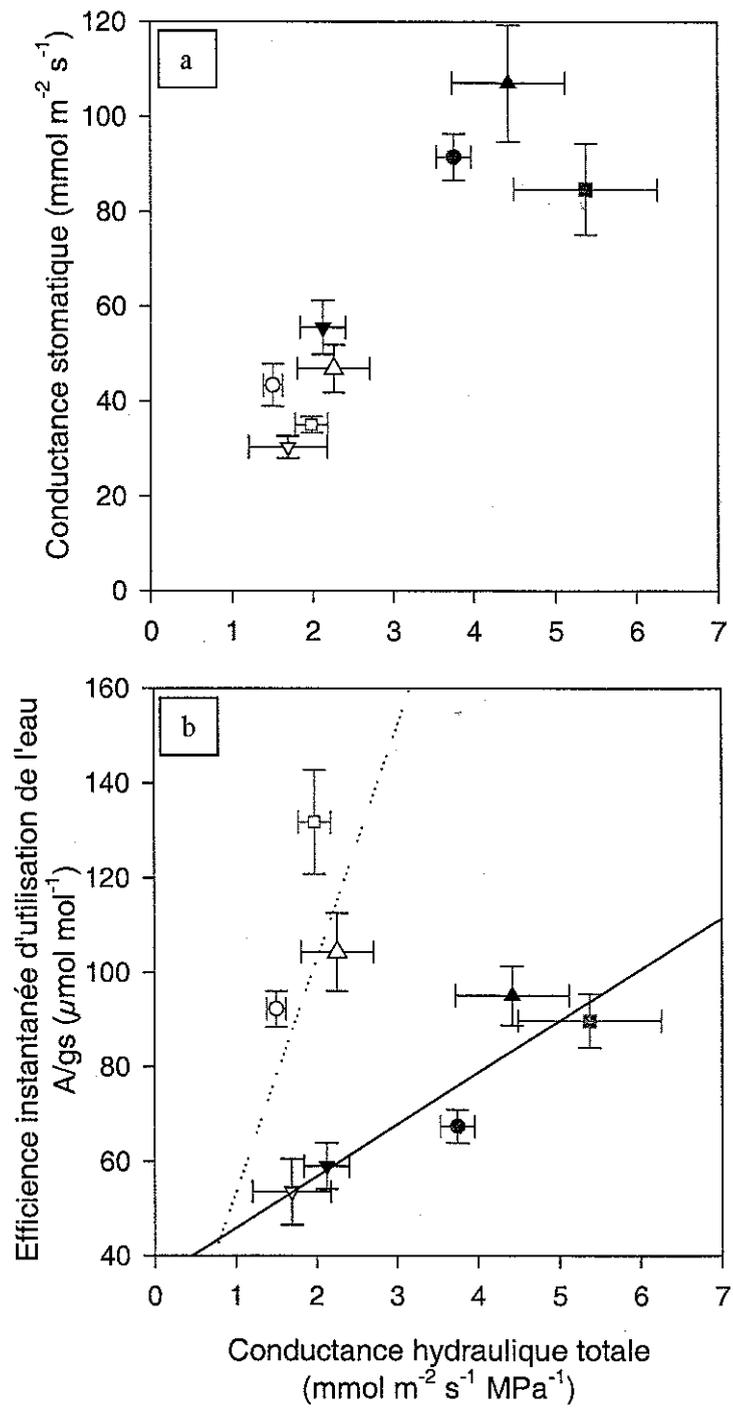
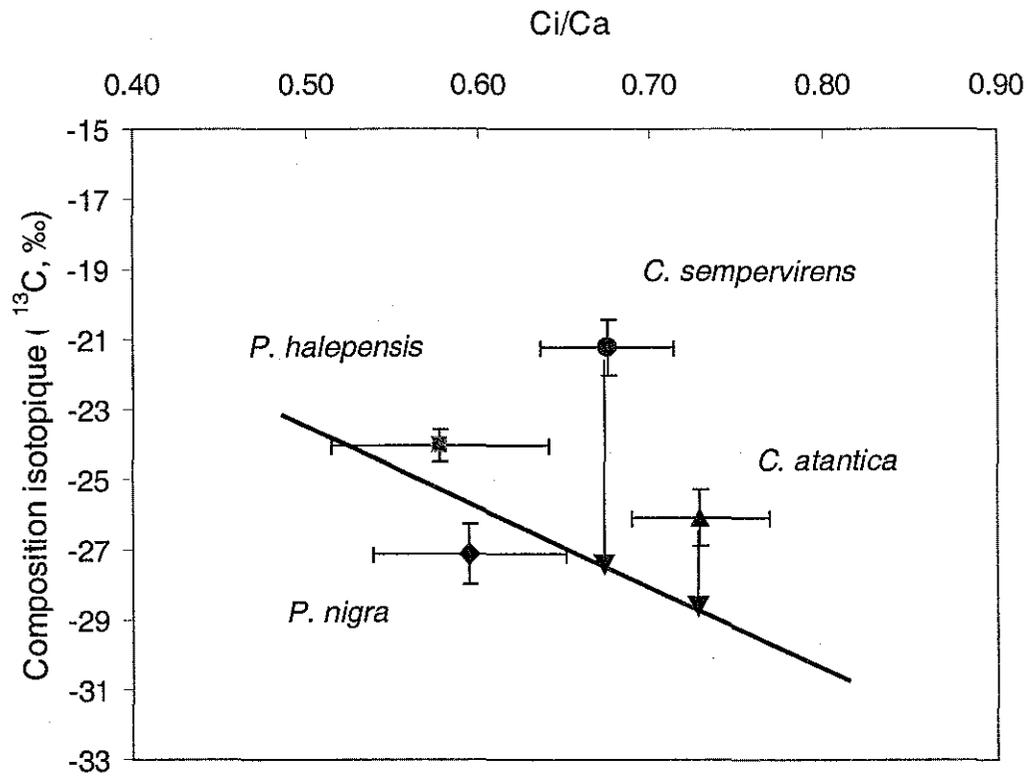


Figure 4



Fabienne Froux , Roland Huc, Erwin Dreyer. Michel Ducrey

Une sécheresse modérée à long terme modifie-t-elle le fonctionnement hydrique de conifères

méditerranéens :

Cupressus sempervirens, Pinus halepensis et P. nigra.

In prep

Une sécheresse modérée à long terme modifie t'elle le fonctionnement hydrique de conifères méditerranéens : *Cupressus sempervirens*, *Pinus halepensis* et *Pinus nigra*.

Fabienne Froux^{1,2}, Roland Huc¹, Erwin Dreyer² Michel Ducrey^{1*}

¹ INRA-Unité de Recherches Forestières Méditerranéennes, Avenue A. Vivaldi, F-84000, Avignon

² UMR INRA-UHP, "Ecologie et Ecophysiologie Forestières", F-54280, Champenoux

Texte: 19

Figures: 3

Tableaux: 6

* auteur correspondant Ducrey@avi-forets.avignon.inra.fr

1- Introduction

La distribution des espèces est limitée par la quantité d'eau du sol, et disponible pour les plantes, (Brodribb et Hill, 1998 ; Koslowski, 1968 ; Koslowski, 1983) qui n'ont pas toutes le même niveau d'adaptation à la contrainte "sécheresse". Progressivement, la sélection naturelle a permis aux espèces les mieux adaptées de survivre dans des milieux secs aux dépens de celles qui l'étaient moins. Les traits adaptatifs impliqués peuvent être des modifications morphologiques, anatomiques ou physiologiques (Kramer, 1983) qui ont pour but de diminuer les risques de dysfonctionnement de la plante. Cela passe notamment par le maintien de l'intégrité du xylème, conditionné par l'architecture hydraulique (conductivité hydraulique et vulnérabilité à la cavitation) et la régulation stomatique. Une plante soumise à une contrainte hydrique subit un stress auquel elle va réagir. L'adaptation, peut se présenter sous différentes formes. Certaines espèces développent des stratégies visant à échapper à la contrainte et d'autres à tolérer ou éviter le dessèchement lié à la sécheresse (Levitt, 1980; Ludlow, 1989).

En région méditerranéenne, la disponibilité en eau varie de manière saisonnière: un été sec et chaud succède à un hiver plus humide (Seigue, 1985). Les espèces adaptées à la sécheresse, subissent ainsi des périodes de fortes contraintes hydriques en alternance avec des périodes plus favorables à la croissance. Le passage d'une condition à l'autre est progressif ce qui peut permettre à la plante de s'acclimater à la contrainte soit en optimisant l'utilisation des ressources lorsqu'elles sont disponibles (Pereira et Chaves, 1993) soit en modifiant son fonctionnement global. La capacité d'ajustement osmotique est un exemple d'adaptation à la sécheresse. L'ajustement osmotique qui se produit lors de l'acclimatation à une sécheresse modérée permet de mieux tolérer une contrainte drastique. En effet la chute du potentiel osmotique dans les cellules, liée à l'accumulation de solutés, permet de maintenir la turgescence des cellules et donc l'activité métabolique plus longtemps pendant une sécheresse intense (Turner et Jones, 1980). Il a été montré que l'amplitude de l'ajustement osmotique est supérieure chez les plants soumis à un pré-conditionnement par la sécheresse (Abrams, 1988). Par ailleurs, pendant une sécheresse modérée, la diminution du gain de carbone peut affecter la plante à différents niveaux. Tout d'abord, la croissance est diminuée avec, en exemple, une biomasse et une surface transpirante plus faible constatées chez *Quercus petraea* et *Pinus pinaster* élevés 3 mois à 40% de la capacité au pot (Guehl *et al.*, 1994). Ensuite, la sécheresse affecte l'anatomie du xylème puisqu'une diminution du diamètre des éléments conducteurs a été notée chez *Quercus macrocarpa* (Woodcock, 1989) et *Vitis vinifera* (Lovisol et Schubert, 1998). Enfin, ces modifications peuvent avoir un impact sur les caractéristiques hydrauliques des espèces (Engelbrecht *et al.*, 2000 ; Panek, 1996) et par conséquent sur le flux d'eau à travers la plante (Edwards et Dixon, 1995; Tyree et Ewers, 1991).

Les études concernant les effets d'une sécheresse à long terme sont rares et renseignent peu sur les modifications apportées au fonctionnement global ou sur les réponses à une contrainte à court terme à laquelle sont soumises fréquemment les espèces vivant en milieu méditerranéen. Parmi ces contraintes, la sécheresse atmosphérique: l'augmentation du déficit de pression de vapeur entre les feuilles et l'atmosphère (VPD) est liée à la diminution de l'humidité relative et à l'augmentation de la température de l'air, le VPD varie de manière importante à l'échelle d'une journée et augmente la demande évaporative. Pour protéger les feuilles du dessèchement, la diminution de la conductance stomatique limite les pertes en eau. Le signal à l'origine de cette régulation est discuté mais deux principales hypothèses sont retenues: le feedforward, action directe du VPD de l'air sur les cellules de garde des stomates (Cowan, 1977) et le feedback, action indirecte par l'intermédiaire du potentiel hydrique foliaire (Schulze *et al.*, 1987). Chez trois espèces de cèdres méditerranéens, un pré-conditionnement par une sécheresse modérée de plusieurs mois induit une plus grande sensibilité des stomates à l'augmentation du VPD, assurant à la plante une économie d'eau, avantage non négligeable pendant une sécheresse (Ladjal, 2001).

Nous nous sommes donc demandé si une sécheresse modérée à long terme pouvait modifier le fonctionnement écophysologique d'espèces adaptées à des milieux à faible disponibilité en eau. Pour cela une sécheresse modérée de 4 mois a été appliquée à 3 espèces de conifères de la zone méditerranéenne française ayant une large gamme de comportements en réponse à une contrainte hydrique: *Cupressus sempervirens* et *Pinus halepensis* (tolérant) et *Pinus nigra* (évitant). Les espèces ont été décrites dans une précédente étude (Froux *et al.*, in prep). Les plants en pots étaient dans leur 3^{ème} année de végétation, et cultivés en serre. La capacité d'acclimatation de chaque espèce a été testée en comparant les caractéristiques hydrauliques, les échanges gazeux, la réponse à une contrainte hydrique édaphique et atmosphérique des plants pré-conditionnés à la sécheresse ou bien alimentés en eau pendant la même période. Pour gommer les effets d'une réponse immédiate à la contrainte, les mesures ont toujours été effectuées sur des plants réhydratés pendant deux jours. Nous avons testé 3 hypothèses: (i) une sécheresse modérée à long terme peut induire des modifications des caractéristiques morphologiques et physiologiques des espèces, (ii) elle peut avoir des effets sur la réponse des plantes à une contrainte à court terme qu'elle soit atmosphérique ou édaphique et (iii) elle peut induire des modifications globales de la tolérance à la contrainte hydrique. Nous discuterons également, au niveau de la plante entière, l'amélioration du degré de tolérance à la sécheresse, provoquée par l'acclimatation progressive à une contrainte hydrique endurée à long terme.

2- Matériels et Méthodes

2-1 Matériel végétal

Trois espèces de conifères méditerranéens qu'il est possible de rencontrer dans le Sud Est de la France ont été étudiées : *Cupressus sempervirens*, *Pinus halepensis* et *Pinus nigra*. *C. sempervirens* est originaire de l'Est de la méditerranée (Proche et Moyen Orient). Il aurait été introduit à Chypre et en Crète par les Phéniciens puis dans l'Ouest de la Méditerranée (France, Espagne, Italie). Cette espèce est typique des paysages du pourtour méditerranéen et donc du paysage rural provençal. En France, on le trouve entre le niveau de la mer et 900 mètres. Il est peu exigeant quant à la nature du sol : il tolère aussi bien des sols calcaires qu'acides s'ils sont profonds. Il est utilisé pour le reboisement des terrains secs car il est très résistant à la sécheresse (250 mm d'eau par an). *Pinus halepensis* est originaire de l'Ouest de la Méditerranée (France, Italie, Espagne). Sa fructification abondante, la bonne dissémination de ses graines et sa capacité à pousser sur des sols pauvres lui donnent un profil de colonisateur des espaces laissés vides à la suite d'un incendie ou d'une exploitation forestière et surtout des zones abandonnées par l'agriculture (Seigue, 1985). Il est assez fréquent en basse altitude, jusqu'à 800m, car il craint le gel hivernal. *P. halepensis* tolère les sols marneux à calcaro-marneux même s'il préfère les sols profonds et facilement accessibles pour son système racinaire. Il est aussi capable de pousser sur un sol calcaire compact notamment en Provence. Cette espèce supporte très bien la sécheresse et est exigeante en chaleur et en lumière. Sa sensibilité au gel l'empêche d'envahir des zones plus au nord de la Provence. L'aire naturelle de *P. nigra* se situe en Autriche et surtout en Yougoslavie (Alpes Dinariques) en basse montagne (250 à 800m) sous un climat chaud et sec en été, froid en hiver. En France, sa résistance au calcaire, à la sécheresse et au froid en a fait une excellente espèce de reboisement en conditions difficiles : il a été utilisé en moyennes montagnes notamment les plateaux calcaires de Lorraine, des Causses et de Bourgogne et en moyennes montagnes méridionales, jusqu'à 1200-1400 m d'altitude, dans les Alpes du Sud (Diois, Baronnies, Alpes de Hautes Provence, Ventoux), les Cévennes et les Pyrénées (Aude).

En 1997, des graines des trois espèces ont été collectées dans des populations naturelles en région méditerranéenne française: le Var pour *C. sempervirens*, les Bouches du Rhône pour *P. halepensis* et les Alpes sèches pour *P. nigra*. Les graines ont été semées dans des pots en plastique de 0.4 litres au printemps 1998 à la pépinière des Milles proche d'Aix-en-Provence, France. Fin mars 1999, Les semis ont été transplantés dans des containers de 7 litres, sur un milieu sable/tourbe/terre, (1/2/3, v/v/v) et placés dans une serre climatisée à Avignon. Les pots ont été arrosés une à deux fois par semaine selon le temps et une solution d'engrais liquide (Fertiligène NPK 9/9/9) a été ajoutée une fois par semaine à l'eau d'arrosage (1%). Les plants ont été élevés en serre avec 85% du rayonnement naturel. La température était maintenue en hiver au-dessus de 2°C par chauffage et en été entre 25 à 32°C par

ventilation et refroidissement par cooling. Ces conditions de cultures ont été maintenues jusqu'au début de l'année 2000.

2-2 Traitements hydriques

Début mars 2000 et jusqu'à fin septembre, les plants de *C. sempervirens*, *P. halepensis* et *P. nigra* ont été soumis à deux traitements hydriques: une première série de plants a bénéficié d'une alimentation en eau considérée comme optimale (témoin, T) et une seconde a subi une sécheresse modérée (SM). L'humidité volumique du substrat mesurée par une sonde TDR et le potentiel hydrique de base du plant, mesuré avec une chambre à pression de type Scholander, ont été utilisés pour ajuster la quantité d'eau et la fréquence d'arrosage nécessaire à chaque espèce et traitement. L'humidité volumique du traitement témoin est ainsi maintenue supérieure à 7% (potentiel de base supérieur à -0.8 MPa) alors que pour le traitement limité en eau, elle est maintenue entre 0 et 7% (potentiel de base entre -1.2 et -1.8 MPa). En pratique, les plants du traitement limité en eau ont reçu entre 1/3 et 1/2 de la quantité d'eau fournie à ceux du traitement témoin.

2-3 Mesures

- Croissance: La hauteur et le diamètre au collet de 20 plants par espèce ont été mesurés en mars 2000 avant l'application des traitements hydriques. En octobre 2000, à la fin de la période de traitement hydrique différencié, 12 plants par espèce ont été mesurés pour estimer l'accroissement moyen en 2000 dans chaque traitement. Les plants mesurés en mars et en octobre ne sont pas les mêmes.

- Caractéristiques hydrauliques: En septembre 2000, 6 à 8 plants de chaque espèce et traitement ont été transportés au laboratoire après avoir été arrosés à capacité du pot. La partie de la tige développée en 2000 a été prélevée et recoupée sous l'eau pour empêcher l'apparition de bulles d'air dans les trachéides. Elle a été ensuite séparée en 2 parties sous l'eau: un segment d'environ 13 cm de long qui a été utilisé pour réaliser les courbes de vulnérabilité et un segment plus petit, d'environ 2 cm, pour les mesures de conductivité. La surface foliaire projetée des aiguilles alimentées par le segment de tige étudié a été mesurée en utilisant un planimètre (System DIAS II, Delta-T-Device). La partie racinaire a été débarrassée du substrat sous l'eau puis on a prélevé une première grosse racine, d'environ 10 cm de long et de 3 à 5 mm de diamètre qui a été utilisée pour réaliser les courbes de vulnérabilité et une seconde de même diamètre et d'environ 2 cm de long pour la conductivité hydraulique. Les segments (de tige ou de racine ainsi obtenus ont été écorcés et recoupés sous l'eau.

La conductivité hydraulique (K_h , $\text{mmol m s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$) a été mesurée d'après la méthode décrite par Sperry et Tyree (1988). Les segments ont été perfusés avec une solution d'eau et d'HCl dissout (pH=2) dégazée et filtrée ($0.1\mu\text{m}$), à une pression de 3.5kPa. A partir de K_h , nous avons calculé pour chaque segment:

i) conductivité spécifique (K_s , mol m⁻¹ s⁻¹ MPa⁻¹)

$$K_s = K_h / S_a$$

ii) Conductivité spécifique foliaire (K_L , mol m⁻¹ s⁻¹ MPa⁻¹)

$$K_L = K_h / L_a$$

iii) Huber Value (HV, m² m⁻²)

$$HV = S_a / L_a$$

où S_a et L_a sont respectivement la surface de la section transversale du segment étudié et la surface foliaire projetée des aiguilles alimentées par ce segment de tige.

La cavitation a été induite dans les tiges et les racines par la méthode de pressurisation (Sperry et Saliendra, 1994). Les segments ont été placés dans des chambres à pression à double entrée en laissant les deux extrémités à l'extérieur pour faciliter les mesures directes de K_h . Les racines sont placées dans des chambres de plus petit diamètre que les tiges à cause de la différence de diamètre entre les deux types. Les segments ainsi préparés sont soumis à une pression de 0.05 MPa pendant la mesure de conductivité pour annuler les fuites latérales d'eau par les cicatrices. Nous avons considéré que l'embolie native était négligeable dans les deux traitements hydriques. La conductivité hydraulique mesurée avant pressurisation a donc été assimilée à la conductivité hydraulique maximale (K_{max}). L'embolie est induite par des pressurisations de 10 minutes à des pressions de 0.8 à 8MPa avec des pas de 0.8MPa pour les tiges et de 0.6 à 6 MPa avec des pas de 0.6 MPa pour les racines. Chaque pressurisation était suivie par une période de 30 minutes de relaxation et d'une mesure K_h . Le pourcentage de perte de conductivité (PLC) a été estimé par:

$$PLC = 100 \times \frac{K_{max} - K_h}{K_{max}}$$

Les potentiels à 10% (Ψ_{PLC10}) et 50% (Ψ_{PLC50}) de perte de conductivité ont été déterminés pour chaque courbe au moyen d'une fonction logistique, décrite dans Froux et al (2002).

- Sensibilité au déficit de pression de vapeur (VPD): Fin juillet des plants ont été arrosés à capacité au champ pendant deux jours puis placés en chambre climatisée dans les conditions jour/nuit : température 25°, CO₂ 360/400ppm, lumière 500/0 μmol m⁻² s⁻¹ et une photopériode de 12 heures. L'humidité relative est modifiée par paliers de 20% au cours de la journée (de 90 à 30%) et est constante la nuit (80%). La bonne hydratation a été vérifiée par des mesures de potentiel de base au moyen d'une chambre à pression de type Scholander sur les rameaux latéraux de l'année. Les échanges gazeux ont été mesurés à chaque palier d'humidité relative après 20 minutes de stabilisation. La conductance stomatique foliaire (gs: mol m⁻² s⁻¹) et l'assimilation nette (A: μmol m⁻² s⁻¹) de CO₂ ont été mesurés avec un système portable de mesure d'échanges gazeux LI-6200 (Li-Cor Inc., Lincoln, NE) sur les rameaux de l'année. A et gs ont été exprimées en fonction de la surface foliaire projetée.

L'efficacité d'utilisation instantanée de l'eau (W_i : $\mu\text{mol mol}^{-1}$) a été estimée en utilisant les échanges gazeux: $W_i=A/g_s$. Le déficit de pression de vapeur VPD de chaque palier a été calculé par LI-6200 à partir de l'humidité relative et de la température : il varie de 12.5 à 26 mbar. Cette expérimentation a été répétée sur 4 jours avec des plants différents, le nombre final de plants mesurés étant de 12 par traitement et par espèce.

- Effet d'une sécheresse drastique: Au début du mois d'août 2000, six plants de *C. sempervirens* et *P. halepensis* de chaque traitement ont été réhydratés à la capacité au champ pendant deux jours et ensuite placés en conditions contrôlées (photopériode: 13h, et conditions jour/nuit: éclairage 750 / 0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, CO_2 360 / 400 ppm, humidité relative: 70/96%, et température : 27°C. L'arrosage des plants a été arrêté. Différentes mesures ont été effectuées chaque jour pendant le dessèchement du substrat : potentiel de base, potentiels hydriques foliaire et de xylème en milieu de journée, assimilation nette et conductance stomatique après deux heures d'éclairage dans la chambre climatique. La même expérimentation a été menée ensuite sur des plants de *P. nigra*, dans les mêmes conditions que la précédente. Trois lots de 6 plants par traitement ont été étudiés car le pin noir est une espèce monocyclique et il ne possédait pas assez de ramifications pour les prélèvements nécessaires. Chaque lot était donc mesuré un jour sur trois.

Les plants ont été réhydratés lorsque l'assimilation nette était nulle ou proche de 0 pendant 2 jours. L'assimilation nette, la conductance stomatique et les potentiels hydriques ont ensuite été mesurés pendant 2 jours pour estimer la capacité de récupération après une sécheresse drastique.

3- Résultats

3-1 Suivi de la sécheresse modérée

Les potentiels hydriques de base mesurés pendant la saison de végétation, avant arrosage ont montré une différence entre les deux traitements (fig. 1). Chez les témoins, le potentiel hydrique bien que variable était en moyenne de -1.0, -0.8 et -0.7 MPa respectivement pour *C. sempervirens*, *P. halepensis* et *P. nigra*. Chez les plants en sécheresse modérée, il était en moyenne de -1.5, -1.3, et -1.1 MPa pour ces mêmes espèces. Nous avons estimé que les traitements hydriques étaient différenciés pour les trois espèces. Cependant en raison du faible rapport entre la biomasse foliaire de *P. nigra* et le volume du conteneur, la contrainte hydrique a été moindre pour *P. nigra* que pour les autres espèces. En effet, chez *P. nigra*, le maintien des deux traitements a été rendu difficile par la faible surface évaporante des plants qui induisait un long temps de dessèchement du substrat entre deux arrosages. Les plants en traitement sécheresse modérée ont subi moins de cycles de dessèchement que ceux de *P. halepensis* et *C. sempervirens*.

3-2 Croissance

La hauteur initiale des plants en mars 2000 était variable suivant les espèces (tab. 1). L'accroissement en hauteur de la tige principale pendant la saison de végétation 2000 a été plus fort chez *P. halepensis* que *C. sempervirens* et très faible chez *P. nigra*. Cet accroissement a été affecté par la sécheresse modérée du traitement SM chez *P. halepensis* et *C. sempervirens* où il est diminué de moitié par rapport aux témoins. L'accroissement en hauteur de *P. nigra* n'a pas été affecté par la sécheresse modérée. L'accroissement moyen en diamètre a également été affecté chez les plants SM. Il a été environ deux fois plus faible chez *C. sempervirens* et *P. halepensis*. Chez *P. nigra*, la différence entre les accroissements était plus faible mais visible.

3-3 Caractéristiques hydrauliques

Les caractéristiques hydrauliques ont été décrites ici par les conductivités hydrauliques l'indice de "Huber value" et la vulnérabilité à la cavitation. La conductivité hydraulique spécifique des racines variait de 34.6 à 48.4 mol m⁻¹ s⁻¹ MPa⁻¹ (tab. 2). Il n'y avait pas de différences significatives, ni entre espèces ni entre traitements hydriques. La conductivité hydraulique des tiges était toujours inférieure à celle des racines à l'exception de *P. halepensis* en traitement SM où on a observé l'inverse. Les tiges de *P. halepensis* présentaient une Ks plus élevée que celle de *C. sempervirens* et *P. nigra* aussi bien en traitement sec que humide.

La "Huber Value" n'était statistiquement pas différente d'une espèce à l'autre mais les valeurs du traitement SM étaient supérieures à celle du traitement T : à section identique, les tiges des plants SM alimentent moins de surface d'aiguilles que les plants humides.

Dans les racines, le potentiel à 10% de perte de conductivité a varié de -0.67 à -2.08 MPa (tab.3). Il n'y avait pas de différences significatives ni entre espèces ni entre traitements exception faite de *P. halepensis* qui présentait des valeurs plus élevées pour le traitement SM que T (-0.67 au lieu de -2.08). Ψ_{PLC50} dans les racines a varié de -1.60 à -3.49 MPa. *P. nigra* est plus vulnérable que *P. halepensis* et *C. sempervirens* en traitement T. En traitement SM, *P. nigra* et *P. halepensis* sont plus vulnérables que *C. sempervirens*. Aucune différence significative n'a été notée entre les deux traitements hydriques en ce qui concerne Ψ_{PLC50} .

Dans les tiges, Ψ_{PLC10} varie de -1.2 à -3.5 MPa, aucune différence ni entre espèce ni entre traitement n'est notée, il existait une grande variabilité intraspécifique. Ψ_{PLC50} a varié de -2.6 MPa pour *P. nigra* à des valeurs proches de -5.5 MPa chez *C. sempervirens* et *P. halepensis* qui étaient les moins vulnérables. Il n'existe aucune différence entre traitement.

Les différences entre organe ne sont visibles que pour les valeurs de Ψ_{PLC50} : les racines sont toujours plus vulnérables que les tiges de -1.0 à -3.3 MPa.

3-4 Echanges gazeux

341 Comparaison en conditions optimales

Les conditions optimales pour les échanges gazeux sont les conditions avant l'application de la contrainte hydrique atmosphérique ou du dessèchement. A un VPD de 12.5mb, chez les plants témoins, l'assimilation nette varie de 6.7 à 8.91 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Elle est plus faible chez *C. sempervirens* que chez les pins (tab. 4a). La conductance stomatique est plus élevée chez *C. sempervirens*, intermédiaire chez *P. halepensis* et faible chez *P. nigra*. A/g_s varie de 31.7 chez *C. sempervirens* à 55.0 chez *P. halepensis* et enfin à 69.8 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ chez *P. nigra*. La sécheresse modérée à long terme provoque une diminution systématique de la conductance stomatique et de l'assimilation chez *P. halepensis*. L'assimilation n'est pas significativement modifiée chez *C. sempervirens* et *P. nigra*. La sécheresse modérée provoque une augmentation de A/g_s chez *C. sempervirens* et *P. halepensis* respectivement de 75.7 et 47.3%. Chez *P. nigra* l'augmentation n'est pas significative.

Avant l'arrêt d'arrosage, chez les plants témoins, l'assimilation nette est supérieure chez *P. halepensis* par rapport à *C. sempervirens* et *P. nigra* (tab.4b). La conductance stomatique est plus faible chez *P. nigra* que chez *C. sempervirens* et *P. halepensis*. A/g_s est faible chez *C. sempervirens* (66.96 $\mu\text{mol mol}^{-1}$) par rapport aux pins (environ 90 $\mu\text{mol mol}^{-1}$). La sécheresse modérée à long terme

provoque une diminution non significative de l'assimilation nette mais significative de g_s quelque soit l'espèce. A/g_s est augmentée chez toutes les espèces sauf *P. nigra* où elle est diminuée.

De manière générales, les valeurs d'assimilation nette et de conductance stomatique avant le dessèchement en août sont supérieures à celles obtenues pendant l'expérimentation VPD en juillet. Les conditions de lumière et de température dans la chambre en sont responsables.

342 Sensibilité à l'augmentation de VPD

L'augmentation de VPD de 12.5 à 26 mb provoque pour toutes les espèces une diminution de l'assimilation nette et de la conductance stomatique dans des proportions différentes (Fig. 2). L'assimilation nette chute de 7.8 et 30% respectivement pour *C. sempervirens* et pour les 2 espèces du genre *Pinus* (Tab. 5). La diminution de conductance stomatique est plus importante, de 40.8% pour *C. sempervirens*, et 47.1% chez *P. nigra* à 60.1% chez *P. halepensis*. L'augmentation du VPD provoque chez des plants en traitement "sécheresse modérée" la même diminution de l'assimilation que des plants témoins par contre la chute de la conductance stomatique est moins importante pour *C. sempervirens* et *P. halepensis*.

En réponse à une augmentation de VPD (fig.3), la concentration interne en CO_2 diminue quelle que soit l'espèce. Chez les plants de *C. sempervirens* et *P. halepensis* du traitement SM, les concentrations internes en CO_2 sont plus faibles que chez les témoins. Aucune différence n'est notée pour *P. nigra*. L'évolution de la transpiration varie avec l'espèce. Chez *C. sempervirens*, elle est élevée et augmente de manière significative avec le VPD, chez *P. nigra*, les valeurs sont constantes et chez *P. halepensis*, on observe une légère diminution. Le traitement SM ne modifie pas la réponse au VPD de la transpiration chez *P. nigra*, ni chez *C. sempervirens* malgré le niveau plus faible de transpiration, alors que pour *P. halepensis*, on observe une légère augmentation de la transpiration. L'augmentation du VPD a pour effet d'augmenter l'efficacité d'utilisation de l'eau des 3 espèces. L'effet est le même pour les plants SM malgré le fait que les valeurs soient plus élevées.

343 Effet d'une sécheresse drastique

Une sécheresse drastique appliquée aux 3 espèces dans les deux traitements hydriques provoque la diminution du potentiel hydrique, la fermeture progressive des stomates et une assimilation nette nulle en environ 11 jours chez *C. sempervirens* et *P. halepensis* et 13 jours pour *P. nigra*. Les potentiels hydriques de base pour lesquels les échanges gazeux sont quasi nuls dépendent de l'espèce avec des valeurs de -1.7 MPa pour *P. nigra*, -3.2 MPa pour *P. halepensis*, et -4.6MPa pour *C. sempervirens* (table 6). Aucune différence de potentiel induisant une assimilation nette proche de 0 n'est notée entre les deux traitements. Cependant l'annulation de l'assimilation nette est plus complète chez les plants T

et la perte de conductance stomatique n'est pas équivalente entre traitement. Une diminution de 86.1 à 96.6% de l'assimilation provoque une diminution de la conductance stomatique de 82.5 à 91.5% pour le traitement T et seulement de 54.6 à 82.4% pour SM.

Les plants déshydratés à des potentiels hydriques qui provoquent l'annulation des échanges gazeux se réhydratent rapidement et le potentiel de base est proche de -1 MPa après 36h de réhydratation quelle que soit l'espèce et le traitement (table 6). En 36h, l'assimilation nette a retrouvé de 72.1 à 79.4% de la valeur qu'elle avait avant la sécheresse chez les plants du traitement humide alors que les plants issus du traitement sec ont récupéré plus de 94%. Cette meilleure capacité de récupération est également valable pour la conductance stomatique.

4- Discussion

4-1 Modifications des caractéristiques des espèces

Une sécheresse modérée à long terme appliquée dès le début de la saison de végétation à 3 espèces de conifères méditerranéens (*C. sempervirens*, *P. halepensis* et *P. nigra*) cultivés en pot en serre, est responsable de la modification de certaines de leurs caractéristiques. La croissance en hauteur et en diamètre a été affectée chez *C. sempervirens* et *P. halepensis*, il y a donc eu limitation de l'assimilation entre deux cycles d'arrosage. Chez *P. nigra*, seule la croissance en diamètre a été modifiée faiblement. D'une part, chez cette espèce, la contrainte hydrique a été en moyenne plus faible; le potentiel de base moyen n'était que de -1.1 MPa alors qu'il était de -1.3 et -1.5 MPa pour les autres espèces. D'autre part, *P. nigra* est une espèce à croissance monocyclique courte. Elle ne fait qu'une pousse dans l'année, et son élancement est fortement lié aux conditions hydriques de l'année précédente (Guyon, 1986). Il n'est donc pas surprenant qu'il n'y ait que des différences d'accroissement en diamètre entre les deux traitements, cette observation a également été faite sur *P. nigra corsica* et *calabrica* (Lebourgeois *et al.*, 1998). *P. halepensis* est une espèce polycyclique, les unités de croissances (UC) produites pendant la sécheresse sont affectées par la sécheresse: il y a moins d'UC et elles sont plus courtes. *C. sempervirens* a une croissance quasi continue dans des conditions optimales, une sécheresse va fortement réduire cette croissance. La sécheresse a également un effet sur la surface foliaire des plants: le rapport entre la surface de section d'un rameau et la surface foliaire (Huber value) qu'il alimente en sève est plus faible chez SM. Des résultats analogues ont été obtenus sur *Pinus sylvestris* par Mencuccini et Grace (1995) et sur *Quercus* par Villar-Salvador *et al.* (1997).

Les caractéristiques hydrauliques ont été peu modifiées par la sécheresse modérée appliquée pendant 4 mois. La conductivité hydraulique racinaire est stable avec les traitements et généralement supérieure à la conductivité dans les tiges. Des études sur d'autres espèces rapportent de telles différences (Sperry et Saliendra, 1994; Alder *et al.*, 1996) et Sperry et Ikeda, 1997) corrélient cette forte conductivité aux diamètres des trachéides, plus élevés dans les racines chez *Pseudotsuga menziesii* et *Abies concolor*. La plus faible conductivité dans les racines que dans les tiges des plants SM de *P. halepensis* est surprenante. Elle peut être due à des différences de maturité physiologique des racines étudiées. Il faut rappeler ici que dans les racines l'eau circule d'abord de manière radiale et ensuite axiale et que la limitation est principalement lors du trajet extra-fasciculaire (Passioura, 1988). De fortes différences de conductivité hydraulique dans les grosses racines auront donc un faible impact sur la conductivité totale d'un plant.

Dans les tiges, il existe deux type de réponses au traitement SM. Chez *P. halepensis* et *C. sempervirens*, l'augmentation de K_s des tiges du traitement SM, va dans le sens d'une tolérance plus élevée à la sécheresse: une conductivité hydraulique élevée provoque une faible chute du potentiel

hydrique foliaire pendant la transpiration et donc le maintien de l'assimilation. Par contre chez *P. nigra*, c'est le phénomène opposé qui se produit avec une tendance à un évitement plus important de la sécheresse (diminution de K_s). Des résultats similaires ont été obtenus sur différentes espèces de *Quercus* par Nardini et Tyree (1999). Ces résultats sont à valider avec l'étude des modifications de conductance hydraulique totale de la plante entière. Engelbrecht *et al.* (2000) ont montré sur des espèces néotropicales (*Piper trigonum* et *P. cordulatum*), soumises à une sécheresse proche du point de flétrissement permanent pendant 3.5 mois, une conductance hydraulique plus faible que pour des témoins bien alimentés en eau et concluent dans les deux cas à un décalage vers un évitement plus important.

La vulnérabilité à la cavitation cependant ne va pas dans le sens des modifications de comportement en réponse à la sécheresse. Le classement des espèces en traitement témoin est comparable à celui obtenu dans une précédente étude sur des plants de 2 ans (Froux *et al.*, 2002, in press): *P. nigra* est toujours plus vulnérable par rapport à *C. sempervirens* et *P. halepensis*. Avec le traitement SM, nous nous attendions à une diminution systématique de la vulnérabilité à la cavitation alors qu'il n'y a pas de différences avec le témoin. Nos résultats sont différents de ceux de Lemoine *et al.* (2001) sur les parties aériennes de *Fraxinus excelsior*. La vulnérabilité de plants issus d'un milieu humide (bord d'une rivière) était plus élevée que celle de plants issus de milieu plus secs (flanc d'une colline). Mais ils s'agissaient là de plants vivant en permanence dans des milieux différents, alors que nos plants n'ont été acclimatés à la sécheresse que pendant 4 mois.

4-2 Modification de la réponse à une contrainte instantanée.

L'augmentation transitoire des tensions dans le xylème peut être due d'une part à une augmentation du déficit de pression de vapeur (VPD) et d'autre part à la diminution de la disponibilité en eau du sol.

La réponse des stomates au VPD a été beaucoup étudiée (voir revue de Schulze, 1986) et Grantz, 1990). Les conifères sont très sensibles à l'augmentation du VPD (Darlington *et al.*, 1997) et de manière générale, ils réagissent à une augmentation de la demande transpiratoire en fermant leurs stomates (Sandford et Jarvis, 1986). Dans ce cas, le signal de fermeture, en feedforward (réponse directe des stomates à l'humidité de l'air) ou en feedback (dépendante du potentiel hydrique foliaire) est, comme pour le signal de fermeture stomatique lié à une sécheresse du sol, mal connu et encore discuté (Farquhar, 1978; Franks *et al.*, 1997 ; Monteith, 1995 ; Sandford et Jarvis, 1986). Dans notre cas, l'augmentation du VPD de 12 à 26 mb provoque une diminution de la conductance stomatique et de l'assimilation nette de CO_2 . Elle est cependant moins affectée que g_s dans les deux traitements. Cette observation est conforme à celle de Day (2000) sur *Picea rubens* soumis à différents niveaux de VPD. Cette absence de relation directe entre l'assimilation et la conductance stomatique confirme notre hypothèse que lorsque l'eau n'est pas une contrainte pour la plante, il y a une consommation "de

luxe". La diminution de la conductance stomatique en réponse à l'augmentation de VPD que l'on peut définir comme une sensibilité au VPD, n'est pas plus importante chez SM contrairement aux résultats de Ladjal (2001) qui montre sur différents *Cedrus atlantica* une sensibilité plus forte aux VPD. Certains auteurs décrivent une augmentation de la transpiration malgré la fermeture stomatique (Yong *et al.*, 1997) (Woledge *et al.*, 1989) qui pourrait être lié au décalage entre l'augmentation de VPD et la fermeture stomatique. L'efficacité du contrôle stomatique de la transpiration est variable avec les espèces. Chez *P. nigra* et *P. halepensis*, la transpiration reste stable, cela va dans le sens de la théorie de Farquhar (1978) sur l'existence d'une réponse en feedforward. Ceci est le résultat d'un contrôle stomatique efficace de ces espèces face à une variation de VPD. Chez *C. sempervirens*, le contrôle stomatique est moins efficace et la transpiration tend à augmenter avec le VPD. Nos résultats sont cependant en contradiction avec ceux de Yong *et al.* (1997) et Oren *et al.* (1999) qui observent une plus grande sensibilité des stomates chez les espèces ayant une conductance stomatique élevée à des VPD faibles. La conductance stomatique est plus élevée chez *C. sempervirens* et cependant son pourcentage de diminution entre 12.5 et 26 mb est moins important que *P. halepensis*. Chez *P. halepensis*, la conductivité hydraulique spécifique est la plus élevée, on peut supposer que cette espèce fonctionne avec des tensions peu négatives dans le xylème; une régulation stomatique efficace lui permet de limiter la chute des tensions à fort VPD. Cette hypothèse va dans le sens de Franks et Farquhar (1999) qui voient dans une forte régulation stomatique la compensation d'une conductance hydraulique élevée. Nous n'avons pas suivi l'évolution du potentiel hydrique foliaire avec l'augmentation de VPD. Des études dans ce sens seront nécessaires pour valider nos résultats.

La réponse à une sécheresse drastique n'est pas différente entre traitement si on suit les différents paramètres par rapport au potentiel hydrique de base. La fermeture stomatique intervient au même potentiel hydrique que pour les plants témoins. Cependant chez les plants issus du traitement SM, l'assimilation nette a rarement atteint des valeurs proches de 0. Elle a chuté d'environ 90% jusqu'à une valeur seuil puis a maintenue cette valeur pendant plusieurs jours. Ceci explique un pourcentage d'inhibition plus faible. Nous pouvons en déduire que, pour atteindre une assimilation nette nulle, des potentiels hydriques plus négatifs sont nécessaires pour les conditions SM que pour les plants T. L'acclimatation ralentit la transpiration, la consommation d'eau étant minimisée, la chute du potentiel hydrique est plus lente ce qui permet à la plante de disposer d'eau plus longtemps dans les plants SM. La marge de sécurité décrite par Alder *et al.* (1996), écart entre le potentiel de fermeture stomatique et d'initiation de l'embolie est la même pour les plants T et SM et est discutée par ailleurs (Froux *et al.*, in prep).

Après une sécheresse drastique, ces plants acclimatés se distinguent des témoins par leur meilleure capacité de récupération de l'assimilation (presque 100%) alors que les plants témoins ne récupèrent que 72 à 79% dans le même laps de temps. On peut penser que les plants témoins s'acclimatent rapidement à des conditions de faibles disponibilités en eau, on pourrait parler ici d'un arrière effet de

la sécheresse. D'autre part, la capacité de récupération après une contrainte hydrique importante fait partie des mécanismes de résistance à la sécheresse. Les plants témoins ont une récupération moins importante après réhydratation que les plants en sécheresse modérée, ceci peut suggérer que les plants T aient été plus affectés par la sécheresse et que les dommages à l'appareil photosynthétiques ont été plus importants, et la réparation nécessite une synthèse protéique (Kirschbaum, 1988).

En conclusion, les effets d'une sécheresse modérée sont visibles principalement au niveau des échanges gazeux et de la croissance mais également au niveau des conductivités hydrauliques des tiges.

4-3 Fonctionnement global de la plante.

Chez les plants acclimatés à une sécheresse modérée, on note de manière générale une tendance à la diminution de la consommation en eau qui sera donc disponible plus longtemps dans le sol si la plante n'est pas en compétition avec des espèces à comportement différent. L'indice le plus évident est l'augmentation de l'efficacité d'utilisation de l'eau intrinsèque (A/g_s) que l'on constate dans chacune des expérimentations. Pour une quantité d'assimilats fixée, les plants en sécheresse modérée consommeront moins d'eau. En conditions de sécheresse atmosphérique, g_s plus faible permet en plus de maintenir un potentiel hydrique élevé, d'économiser de l'eau. Au niveau de la plante entière, la diminution de la disponibilité en eau du sol va provoquer la diminution des conductances hydrauliques à l'interface sol racine et donc de la conductance hydraulique totale qui contrôle en partie la transpiration (Meinzer et Grantz, 1990 ; Sperry *et al.*, 1993). Pour les 3 espèces on note une tendance à l'augmentation de la Huber value: pour une même surface conductrice, la surface foliaire à alimenter en eau est plus faible, les tensions vont donc être moins fortes au niveau des feuilles (Mencuccini et Grace, 1995; Villar-Salvador *et al.*, 1997).

Le fonctionnement global de chaque espèce sans contrainte hydrique est variable. *P. halepensis* est caractérisé d'une part, par une forte conductivité hydraulique qui lui permet de supporter la transpiration sans que le potentiel hydrique foliaire ne diminue de manière importante. D'autre part, cette espèce a une plus forte assimilation que *P. nigra* et *C. sempervirens* qui lui permet d'avoir une croissance rapide; cela malgré des niveaux faibles de conductance stomatique et de transpiration, également constaté sur cette espèce dans différentes conditions hydriques par Villar-Salvador *et al.* (1999). Le contrôle efficace des pertes en eau lui assure une efficacité d'utilisation de l'eau toujours élevée. *P. halepensis* a également une faible vulnérabilité à la cavitation corrélée à une fermeture tardive des stomates qui lui assure une croissance même à des contraintes hydriques élevées. Elle est d'ailleurs décrite comme colonisatrice des milieux laissés libre à la suite d'une exploitation forestière ou d'un incendie (Seigue, 1985) dans des zones méditerranéennes sèches. Une acclimatation par une

sécheresse modérée pendant toute la saison de végétation lui permet de diminuer ses pertes en eau et surtout d'augmenter sa conductivité hydraulique dans les tiges et avoir des tensions peu négatives dans les feuilles et ainsi maintenir l'assimilation plus longtemps pendant le dessèchement. Cette espèce semble optimiser la disponibilité en eau dans le sol et se mettre en position d'attente pendant une contrainte drastique.

P. nigra est une espèce évitante, elle a une activité photosynthétique importante (assimilation nette élevée) tant qu'elle se trouve dans des conditions favorables. La période de croissance de *P. nigra* se situe entre mars et juin, période favorable en milieu méditerranéen. Ses caractéristiques hydrauliques (forte vulnérabilité et faible K_s) la poussent à éviter la contrainte en fermant ses stomates de manière précoce (potentiel hydrique foliaire proche de -1.7MPa). Cet évitement semble accentué par l'acclimatation à la sécheresse modérée. En effet, l'augmentation de K_s provoque des tensions plus importantes mais également une consommation plus lente de l'eau du substrat. Ce comportement est inutile si cette espèce prélève l'eau au même niveau que des espèces plus consommatrices. Pour être bénéfique, ce comportement d'économie de l'eau doit être couplé à une capacité de prélèvement d'eau importante ou à des profondeurs où les autres espèces n'ont pas accès. *P. nigra* est d'ailleurs décrit comme une espèce à enracinement profond (Debazac, 1964).

C. sempervirens a une vulnérabilité à la cavitation faible et une fermeture stomatique totale à des potentiels de l'ordre de -4.6MPa qui lui assurent l'intégrité du xylème. En conditions optimales, *C. sempervirens* a une efficacité d'utilisation de l'eau faible avec une consommation d'eau importante (de luxe) pour une assimilation inférieure aux deux autres espèces. Sa faible conductivité hydraulique induit un fonctionnement à des potentiels hydriques très négatifs. L'acclimatation induite par une sécheresse modérée à long terme ne semble modifier que la consommation en eau par la limitation stomatique. *C. sempervirens* améliore sa tolérance à la contrainte hydrique seulement en limitant ses pertes en eau.

D'autres critères peuvent jouer un rôle important et seront à étudier dans une future expérimentation pour compléter notre étude sur l'acclimatation à la sécheresse, notamment la capacité d'exploration du sol, la capacité de rétention d'eau dans les tissus et la conductance totale entre le sol et les aiguilles. Une connaissance sur la compétition pour l'eau entre des espèces évitantes et tolérantes est également nécessaire pour mieux comprendre les avantages que les plantes peuvent tirer des phénomènes d'acclimations.

5- Références bibliographiques

- Abrams M.D. 1988. Sources of variation in osmotic potentials with special reference to North American tree species. *Forest Science* 34, 1030-1046.
- Alder N.N., Sperry J.S., Pockman W.T. 1996. Root and stem xylem embolism, stomatal conductance, and leaf turgor in *Acer grandidentatum* populations along a soil moisture gradient. *Oecologia* 105, 293-301.
- Brodribb T.J., Hill R.S. 1998. The photosynthetic drought physiology of a diverse group of southern hemisphere conifer species is correlated with minimum seasonal rainfall. *Functional Ecology* 12, 465-471.
- Darlington A.B., Halinska A., Dat J.F., Blake T.J. 1997. Effects of increasing saturation vapour pressure deficit on growth and ABA levels in black spruce and jack pine. *Trees* 11, 223-228.
- Day M.E. 2000. Influence of temperature and leaf-to-air vapor pressure deficit on net photosynthesis and stomatal conductance in red spruce (*Picea rubens*). *Tree Physiology* 20, 57-63.
- Debazac E.F. 1964. Manuel des conifères. 2ème édition, ENGREF, 1977, 172 p.
- Edwards D.R., Dixon M.A. 1995. Mechanisms of drought response in *Thuja occidentalis* L. I. Water stress conditioning and osmotic adjustment. *Tree Physiology* 15, 121-127.
- Engelbrecht B.M.J., Velez V., Tyree M.T. 2000. Hydraulic conductance of two co-occurring neotropical understory with different habitat preferences. *Annals of forest science*. 57, 201-208.
- Farquhar G.D. 1978. Feedforward responses of stomata to humidity. *Australian Journal of Plant Physiology* 5, 787-800.
- Franks P.J., Cowan I.R., Farquhar G.D. 1997. The apparent feedforward response of stomata to air vapour pressure deficit: information revealed by different experimental procedures with two rainforest trees. *Plant, Cell and Environment* 20, 142-145.
- Franks P.J., Farquhar G.D. 1999. A relationship between humidity response, growth form and photosynthetic operating point in C3 plants. *Plant, Cell and Environment* 22, 1337-1349.
- Grantz D.A. 1990. Plant response to atmospheric humidity. *Plant, Cell and Environment* 13, 667-679.
- Guehl J.-M., Picon C., Aussenac G., Gross P. 1994. Interactive effects of elevated CO₂ and soil drought on growth and transpiration efficiency and its determinants in two European forest tree species. *Tree Physiology* 14, 707-724.

- Guyon J.-P. 1986. Influence du climat sur l'expression des composantes de la croissance en hauteur chez le pin noir d'Autriche (*Pinus nigra* Arn. ssp *nigricans*). Annales des Sciences Forestières 43, 207-226.
- Kirschbaum M.U.F. 1988. Recovery of photosynthesis from water stress in *Eucalyptus pauciflora*: a process in two stage. Plant, Cell and Environment 11, 685-694.
- Koslowski T.T. 1968. Water deficits and plant growth. I- Development, control, and measurement. Kozlowski, T. T. Academic Press. 390 p.
- Koslowski T.T. 1983. Water deficit and plant growth. VII- Additional woody crop plants. Academic Press, 251 p.
- Kramer P.J. 1983. Water relations of plants. Academic Press Inc. New York. 489p.
- Ladjal, M. 2001. Variabilité de l'adaptation à la sécheresse des cèdres méditerranéens (*Cedrus atlantica atlantica*, *C. brevifolia* et *C. libani*), aspects écophysiologicals. Thèse, Université de Nancy I, 212p.
- Lebourgeois F., Lévy G., Aussenac G., Clerc B., Willm F. 1998. Influence of soil drying cycle on leaf water potential, photosynthesis, stomatal conductance and growth in two black pine varieties. Annals of Forest Science 55, 287-299.
- Lemoine D., Peltier J.-P., Marigo G. 2001. Comparative studies of water relation and hydraulic characteristics in *Fraxinus excelsior*, *Acer pseudoplatanus* and *A. opalus* trees under soil water contrasted conditions. Annals of Forest Science 58, 723-731.
- Levitt J. 1980. Responses of plants to environmental stress. vol. 2. Water, radiation, salt and other stresses. Ed. Academic Press, New York, 607p.
- Lovisol C., Schubert A. 1998. Effects of water stress on size and xylem hydraulic conductivity in *Vitis vinifera* L. Journal of Experimental Botany 49,
- Ludlow M.M. 1989. Strategies of response to water stress. In Structural and functional responses to environmental stresses. eds K. H. Kreeb, H. Richter and T. M. Hinckley. Academic Publishing. The Hague, pp. 269-281.
- Meinzer F.C., Grantz D.A. 1990. Stomatal and hydraulic conductance in growing sugarcane : stomatal adjustment to water transport capacity. Plant, Cell and Environment 13, 383-388.
- Mencuccini M., Grace J. 1995. Climate influences the leaf area/sapwood area ratio in Scots pine. Tree Physiology 15, 1-10.
- Monteith J.L. 1995. A reinterpretation of stomatal responses to humidity. Plant, Cell and Environment 18, 357-364.

- Nardini A., Tyree M.T. 1999. Root and shoot hydraulic conductance of seven *Quercus* species. *Annals of Forest Science* 56, 371-377.
- Oren R., Sperry J.S., Katul G.G., Pataki D.E., Ewers F.W., Phillips N., Schafer K.V.R. 1999. Survey and photosynthesis of intra- and interspecific variation in stomatal sensitivity to vapour pressure deficit. *Plant, Cell and Environment* 22, 1515-1526.
- Panek J.A. 1996. Correlations between stable carbon-isotope abundance and hydraulic conductivity in Douglas-fir across a climate gradient in Oregon, USA. *Tree Physiology* 16, 747-755.
- Passioura J.B. 1988. Water transport in and to roots. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 39, 245-265.
- Pereira J.S., Chaves M.M. 1993. Plant water deficit in Mediterranean ecosystems. In *Water deficit; plant relation from cell to community*. Eds J. A. C. Smith and H. Griffiths, BIOS Scientific Publishers, Oxford. pp. 237-251
- Sandford A.P., Jarvis P.G. 1986. Stomatal responses to humidity in selected conifers. *Tree Physiology* 2, 89-103.
- Schulze E.-D. 1986. Carbon dioxide and water vapor exchange in response to drought in the atmosphere and in the soil. *Annual Review of Plant Physiology* 37, 247-274.
- Schulze E.-D., Turner N.C., Gollan T., Shackel K.A. 1987. Stomatal responses to air humidity and to soil drought. In *Stomatal function*. Chapter 14. eds E. Zeiger, G. D. Farquhar and I. R. Cowan. Stanford University Press, Stanford, California. pp 31-321.
- Seigue A. 1985. *La Forêt circumméditerranéenne et ses problèmes*. Maisonneuve et Larose, 503 p.
- Sperry J.S., Alder N.N., Eastlack S.E. 1993. The Effect of Reduced Hydraulic Conductance on Stomatal Conductance and Xylem Cavitation. *Journal of Experimental Botany* 44, 1075-1082.
- Sperry J.S., Ikeda T. 1997. Xylem cavitation in roots and stems of Douglas-fir and white fir. *Tree Physiology* 17, 275-280.
- Sperry J.S., Saliendra N.Z. 1994. Intra- and inter-plant variation in xylem cavitation in *Betula occidentalis*. *Plant, Cell and Environment* 17, 1233-1241.
- Turner N.C., Jones M.M. 1980. Turgor maintenance by osmotic adjustment: a review and evaluation. In *Adaptation of plants to water and high temperature stress*. eds N. C. Turner and P. J. Kramer, Wiley-Inter-science, New-York. pp. 87-103.
- Tyree M.T., Ewers F.W. 1991. *Transley Review N°34*. The hydraulic architecture of trees and others woody plants. *New Phytologist* 119, 345-360.

-
- Villar-Salvador P., Castro-Diez P., Pérez-Rontomé C., Montserrat-Martí G. 1997. Stem xylem features in three *Quercus* (Fagaceae) species along a climatic gradient in NE Spain. *Trees* 12, 90-96.
- Villar-Salvador P., Ocaña L., Peñuelas J., Carrasco I. 1999. Effect of water stress conditioning on the water relations, root growth capacity, and the nitrogen and non-structural carbohydrate concentration of *Pinus halepensis* Mill. (Aleppo pine) seedlings. *Annals of Forest Science* 56, 459-465.
- Woledge J., Bunce J.A., Tewson V. 1989. The effect of air humidity on photosynthesis of ryegrass and white clover at three temperatures. *Annals of Botany* 63, 271-279.
- Woodcock D.W. 1989. Climate sensitivity of wood anatomical features in a ring-porous oak (*Quercus macrocarpa*). *Canadian Journal of Forest Research* 19, 639-644.
- Yong J.W.H., Wong S.C., Farquhar G.D. 1997. Stomatal responses to change in vapour pressure difference between leaf and air. *Plant, Cell and Environment* 20, 1213-1216.

Légendes des figures

Figure 1 : Potentiel hydrique de base au cours de la saison de végétation de *P. nigra*, *P. halepensis* et *C. sempervirens* pour le traitement témoin (symboles fermés) et sécheresse modérée (symboles ouverts). Chaque valeur est la moyenne (SEM) de 6 mesures faites avant le lever du soleil, quelques heures avant l'arrosage.

Figure 2 : Evolution de l'assimilation nette, la conductance stomatique, la transpiration, la concentration interne en CO₂ et du rapport A/gs pour des plants issus d'une sécheresse modérée (symboles ouverts) ou non (symboles fermés) pendant l'augmentation du déficit de pression de vapeur (mb) Chaque point est la moyenne (SEM) de 12 mesures sur des plants différents.

Tableau 1 : Hauteurs et diamètres moyens en mars 2000 et accroissement moyen entre mars et octobre 2000 de *C. sempervirens*, *P. halepensis* et *P. nigra* pour les plants bien alimentés en eau (témoins) ou soumis à une sécheresse modérée pendant cette période. Chaque valeur est la moyenne de 12 à 20 mesures (SEM).

		Moyenne mars 2000	Accroissement moyen		effet traitement
			Témoin	Sécheresse modérée	
Hauteur (cm)	<i>C. sempervirens</i>	89.7 (1.1)	48.1	23.6	S
	<i>P. halepensis</i>	48.5 (0.1)	83.5	49.4	S
	<i>P. nigra</i>	22.3 (0.2)	14.6	14.0	NS
Diamètre (mm)	<i>C. sempervirens</i>	16.5 (0.2)	8.2	4.3	S
	<i>P. halepensis</i>	11.6 (0.1)	9.5	4.0	S
	<i>P. nigra</i>	11.6 (0.2)	2.2	1.7	NS

Tableau 2 : Conductivités hydrauliques spécifiques K_s ($\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$) dans les grosses racines et les tiges de l'année de l'axe principal et Huber Value ($\text{HV} \times 10^5, \text{m}^2 \text{m}^{-2}$) pour les plants élevés dans des conditions hydriques témoins ou de sécheresse modérée. Chaque valeur représente la moyenne (SEM) de mesures effectuées sur 4 à 8 plants différents. Les différences significatives ou non entre traitements sont notées respectivement S et NS ($p=0.05$; test de Duncan). Des lettres différentes montrent entre espèces pour chaque combinaison organe et traitement, des différences significatives ($p=0.05$; test de Duncan).

		Témoin	Sécheresse modérée (SM)	effet traitement
K_s racines	<i>C. sempervirens</i>	38.21 (4.61) a	45.14 (6.62) a	NS
	<i>P. halepensis</i>	42.00 (4.89) a	34.59 (7.93) a	NS
	<i>P. nigra</i>	48.41 (6.01) a	39.51 (4.19) a	NS
K_s tiges	<i>C. sempervirens</i>	19.82 (2.58) a	28.45 (7.16) ab	NS
	<i>P. halepensis</i>	32.38 (7.04) a	45.76 (7.20) a	NS
	<i>P. nigra</i>	20.98 (3.09) a	14.99 (1.55) b	NS
Huber Value	<i>C. sempervirens</i>	20.3 (2.0) a	23.1 (5.2) a	NS
	<i>P. halepensis</i>	23.9 (2.5) a	25.5 (9.2) a	NS
	<i>P. nigra</i>	16.8 (5.5) a	17.2 (5.8) a	NS

Tableau 3 : Potentiel hydrique du xylème à 10% (ψ_{PLC10}) et 50% (ψ_{PLC50}) de perte de conductivité pour les plants témoins (T) et les plants soumis à une sécheresse modérée pendant 6 mois (SM) dans les grosses racines et dans les tiges de l'année (axe 1). La moyenne et l'erreur standard sur la moyenne (SEM) sont issues de 3 à 6 mesures sur des plants différents. Des lettres différentes montrent pour chaque combinaison organe et traitement, des différences significatives entre espèces ($p=0.05$, test de Duncan). Les différences significatives ou non entre traitements sont notées respectivement S et NS ($p=0.05$; test de Duncan).

	organes	espèces	T	SM	Effet traitement
			Moyenne (SEM)	Moyenne (SEM)	
ψ_{PLC10}	Racines	<i>C. sempervirens</i>		-1.5 (0.70) ^a	NS
		<i>P. halepensis</i>	-2.08 (1.13) ^a	0.8 (0.60) ^a	S
		<i>P. nigra</i>	-0.91 (0.40) ^a	-0.67 (0.12) ^a	NS
	Tiges	<i>C. sempervirens</i>	-2.05 (2.05) ^a	-1.30 (1.59) ^a	NS
		<i>P. halepensis</i>	-3.46 (0.86) ^a	-2.1 (0.51) ^a	NS
		<i>P. nigra</i>	-1.35 (0.45) ^a	-1.21 (0.50) ^a	NS
ψ_{PLC50}	Racines	<i>C. sempervirens</i>	-2.81 (0.54) ^{ab}	-3.18 (0.71) ^a	NS
		<i>P. halepensis</i>	-3.49 (0.64) ^a	-1.79 (0.99) ^b	NS
		<i>P. nigra</i>	-1.68 (0.20) ^b	-1.60 (0.14) ^b	NS
	Tiges	<i>C. sempervirens</i>	-5.80 (0.73) ^a	-5.83 (0.88) ^a	NS
		<i>P. halepensis</i>	-5.22 (0.64) ^a	-4.88 (0.51) ^a	NS
		<i>P. nigra</i>	-2.63 (0.14) ^b	-2.60 (0.37) ^b	NS

Tableau 4a : Assimilation nette ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), conductance stomatique ($\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$) et A/gs ($\mu\text{mol mol}^{-1}$) chez *C. sempervirens*, *P. halepensis* et *P. nigra* élevés dans les conditions hydriques témoins (T) ou sécheresse modérée (SM) et mesurés à un déficit de pression de vapeur de 12,5 mb; ainsi que le pourcentage de diminution. Chaque valeur est la moyenne de 12 mesures faites sur des individus différents (SEM). Les lettres différentes indiquent des différences significatives (Duncan test $p=0.05$) entre espèces à l'intérieur d'un même traitement. S et NS soulignent des différences significatives ou non entre traitements hydriques (Duncan test $p=0.05$).

	Espèces	Témoin	Sécheresse modérée	Effet traitement	% de diminution
Assimilation nette	<i>C. sempervirens</i>	6.70 (0.55) ^b	6.29 (0.13) ^b	NS	6.1%
	<i>P. halepensis</i>	8.38 (0.60) ^{ab}	6.50 (0.84) ^b	S	22.4%
	<i>P. nigra</i>	8.95 (0.87) ^a	7.91 (0.65) ^a	NS	11.6%
Conductance stomatique	<i>C. sempervirens</i>	0.216 (0.010) ^a	0.121 (0.009) ^a	S	44.0%
	<i>P. halepensis</i>	0.155 (0.009) ^b	0.083 (0.006) ^b	S	46.6%
	<i>P. nigra</i>	0.128 (0.011) ^c	0.111 (0.012) ^a	NS	13.1%
A/gs	<i>C. sempervirens</i>	31.7 (3.0) ^b	55.66 (5.0) ^b	S	-75.7%
	<i>P. halepensis</i>	55.0 (3.5) ^a	81.0 (6.2) ^a	S	-47.3%
	<i>P. nigra</i>	69.8 (3.4) ^a	75.90 (5.7) ^a	NS	-8.7%

Tableau 4b : Assimilation nette ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), conductance stomatique ($\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$) et A/gs ($\mu\text{mol mol}^{-1}$) chez *C. sempervirens*, *P. halepensis* et *P. nigra* élevés dans les conditions hydriques témoins (T) ou sécheresse modérée (SM) et mesurés en août, avant le début du dessèchement; ainsi que le pourcentage de diminution. Chaque valeur est la moyenne de 12 mesures faites sur des individus différents (SEM). Les lettres différentes indiquent des différences significatives (Duncan test $p=0.05$) entre espèces à l'intérieur d'un même traitement. S et NS soulignent des différences significatives ou non entre traitements hydriques (test de Duncan, $p=0.05$).

	Espèces	Témoin	Sécheresse modérée	Effet traitement	% de diminution
Assimilation nette	<i>C. sempervirens</i>	8.88 (0.92) ^b	7.05 (0.45) ^a	NS	20.6%
	<i>P. halepensis</i>	11.35 (1.84) ^a	8.81 (1.52) ^a	NS	22.4%
	<i>P. nigra</i>	8.29 (2.24) ^{ab}	5.05 (1.52) ^{ab}	NS	39.1%
Conductance stomatique	<i>C. sempervirens</i>	0.134 (0.020) ^a	0.088 (0.010) ^a	S	34.3%
	<i>P. halepensis</i>	0.131 (0.024) ^a	0.085 (0.019) ^a	S	35.1%
	<i>P. nigra</i>	0.088 (0.016) ^b	0.059 (0.016) ^b	NS	33.0%
A/gs	<i>C. sempervirens</i>	67.0 (4.4) ^b	80.8 (6.0) ^b	S	-20.6%
	<i>P. halepensis</i>	87.0 (5.0) ^a	105.78 (7.9) ^a	S	-21.6%
	<i>P. nigra</i>	92.78 (17.0) ^a	86.5 (18.5) ^{ab}	NS	6.7%

Tableau 5 : Pourcentage de diminution d'assimilation nette et de conductance stomatique chez *C. sempervirens*, *P. halepensis* et *P. nigra* élevés dans les conditions hydriques témoins (T) ou sécheresse modérée (SM) à la suite de l'augmentation du VPD (de 12.5mb à 26 mb). Chaque valeur est calculée à partir de la moyenne de 12 mesures faites sur des individus différents (SEM). Des lettres différentes signifient des différences significatives (Duncan test $p=0.05$) entre espèces à l'intérieur d'un même traitement. S et NS soulignent des différences significatives ou non entre traitements hydriques.

	Espèces	Pourcentage de diminution		effet traitement
		Traitement témoin T	Sécheresse modérée SM	
Assimilation nette	<i>C. sempervirens</i>	7.8 (3.3) ^b	13.3 (1.6) ^b	NS
	<i>P. halepensis</i>	29.5 (10.5) ^a	27.0 (6.5) ^a	NS
	<i>P. nigra</i>	29.9 (6.5) ^a	31.5 (4.2) ^a	NS
Conductance stomatique	<i>C. sempervirens</i>	40.8 (2.9) ^b	31.0 (3.5) ^a	S
	<i>P. halepensis</i>	60.1 (3.9) ^a	36.5 (5.2) ^a	S
	<i>P. nigra</i>	47.1 (3.9) ^b	42.0 (4.2) ^a	NS

Tableau 6 : Potentiel hydrique de base minimum, pourcentage maximum de perte d'assimilation et de conductance stomatique atteint pendant la déshydratation et potentiel de base, pourcentage de récupération de assimilation et de la conductance stomatique après 36 heures de réhydratation chez des plants *C. sempervirens*, *P. halepensis* et *P. nigra* en conditions témoins ou de sécheresse modérée. Les valeurs sont les moyenne (SEM) sur 6 à 18 mesures sur des plants différents. S et NS indiquent des différences significatives ou non entre traitement ($p=0.05$; test de Duncan). Le symbole * montre des différences significatives entre espèces ($p=0.05$; test de Duncan).

	Espèces	Traitement hydrique		Effet traitement hydrique
		témoin	sécheresse modérée	
Potentiel hydrique de base minimum (MPa)	<i>P. nigra</i>	-1.7 (0.1) *	-1.6 (0.1) *	NS
	<i>P. halepensis</i>	-3.2 (0.) *	-2.9 (0.1) *	NS
	<i>C. sempervirens</i>	-4.6 (0.2) *	-4.4 (0.2) *	NS
Potentiel de base après 36h (MPa)	<i>P. nigra</i>	-0.8 (0.0)	-0.7 (0.1)	NS
	<i>P. halepensis</i>	-0.9 (0.0)	-0.8 (0.0)	NS
	<i>C. sempervirens</i>	-1.0 (0.1)	-0.9 (0.1)	NS
Assimilation nette de CO ₂	<i>P. nigra</i>	95.7 (3.0)	86.1 (4.3)	NS
	<i>P. halepensis</i>	96.6 (1.4)	92.1 (3.0)	NS
	<i>C. sempervirens</i>	96.2 (0.6)	89.4 (2.6)	S
% de diminution	<i>P. nigra</i>	72.1(1.7)	101.0 (13.0)	S
	<i>P. halepensis</i>	75.7 6.3)	97.9 (12.1)	S
	<i>C. sempervirens</i>	79.4 (4.8)	94.4 (4.4)	S
% de récupération	<i>P. nigra</i>	82.5 (1.7)	54.6 (7.07)	S
	<i>P. halepensis</i>	89.8 (0.9)	76.9 (3.4)	S
	<i>C. sempervirens</i>	91.5 (0.7)	82.4 (1.7)	S
conductance stomatique	<i>P. nigra</i>	68.9 (5.0)	93.2 (11.1)	S
	<i>P. halepensis</i>	58.5 (4.2)	90.1 (6.3)	S
	<i>C. sempervirens</i>	53.9 (3.8)	80.6 (5.1)	S

Figure 1

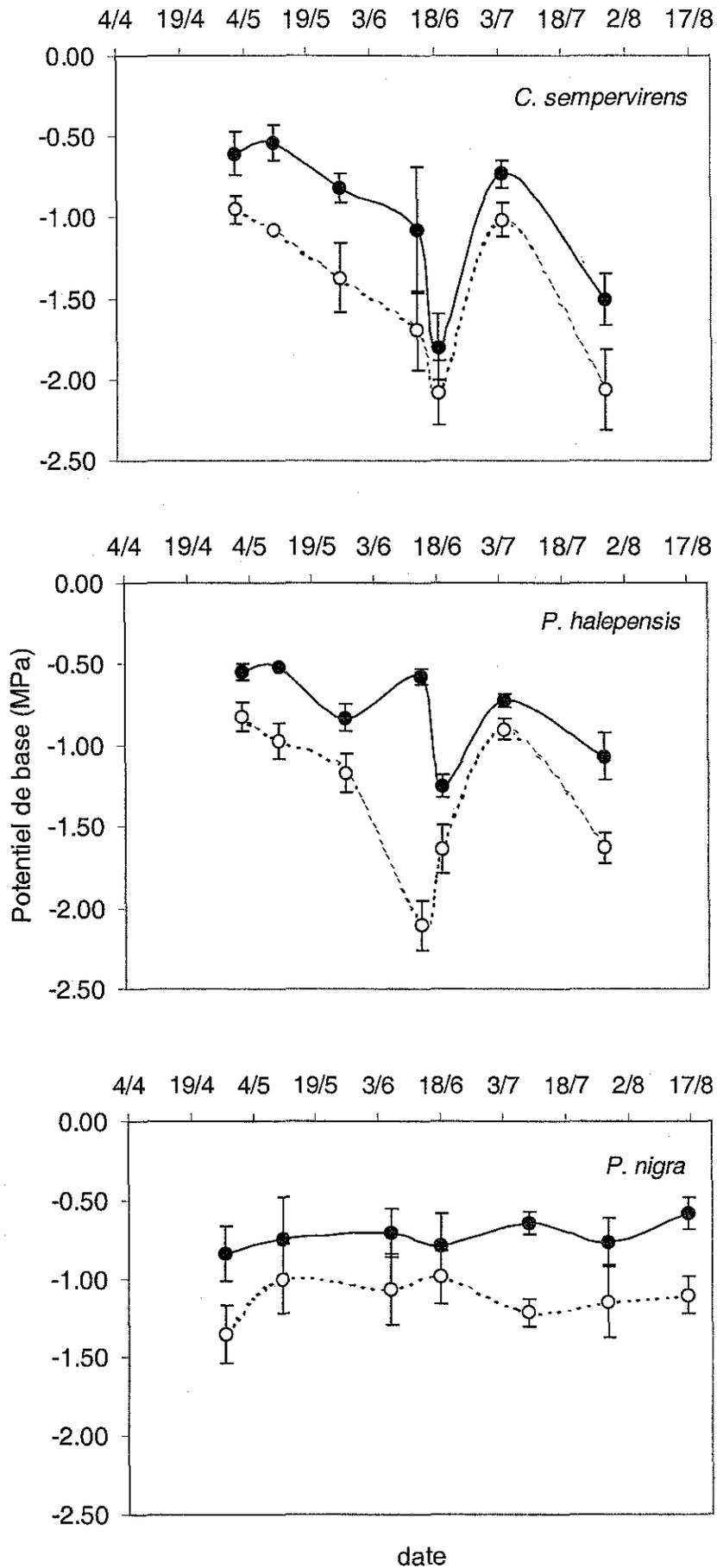
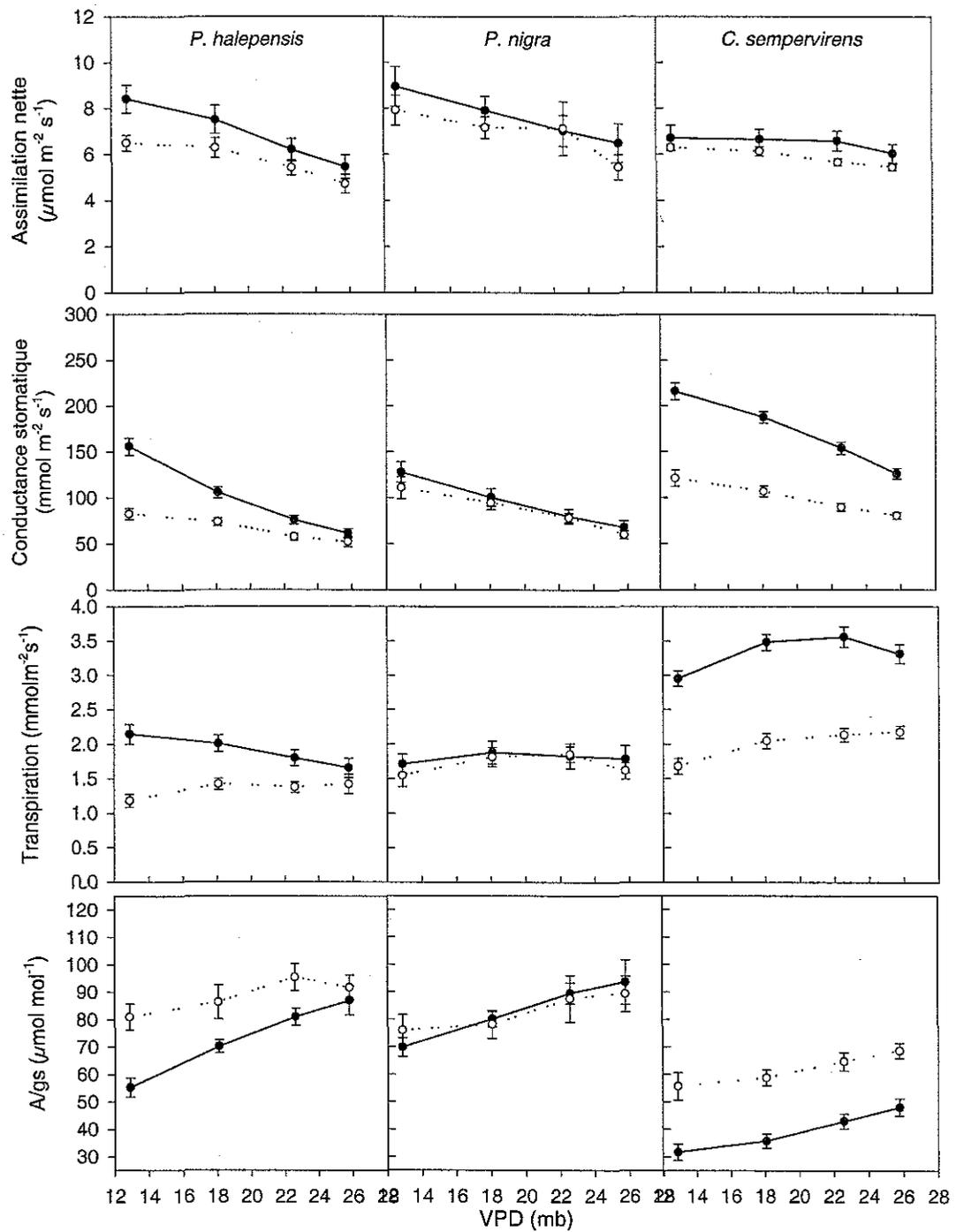


Figure 2



Mademoiselle FROUX Fabienne

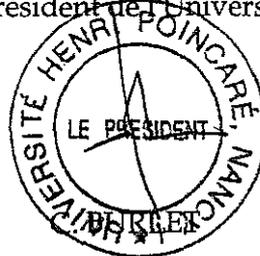
DOCTORAT de l'UNIVERSITE HENRI POINCARÉ, NANCY 1

en BIOLOGIE FORESTIERE

VU, APPROUVÉ ET PERMIS D'IMPRIMER

Nancy, le 16 JUIL. 2002

Le Président de l'Université



Résumé :

Nous avons analysé la variabilité interspécifique, les caractéristiques hydrauliques, la régulation stomatique et l'efficacité d'utilisation de l'eau (W_i) d'espèces présentant différentes stratégies de réponse à la sécheresse. Les mesures ont été réalisées sur 4 conifères méditerranéens de 2 et 3 ans, cultivés en pots en conditions contrôlées : une évitante, *P. nigra*, espèce de montagne, et des espèces tolérantes telles que *C. atlantica* (montagne), *C. sempervirens* et *P. halepensis* (plaine). Ces espèces représentent une large gamme de conductivités hydrauliques et de vulnérabilités à la cavitation allant d'une grande vulnérabilité (*P. nigra*) à une faible (*C. atlantica*) et même très faible vulnérabilité (*P. halepensis* et *C. sempervirens*). Aucun compromis n'a été détecté entre l'efficacité du transfert hydrique et la sécurité du xylème. Hors contrainte hydrique, la conductance stomatique était corrélée à la conductance hydraulique spécifique totale et, pendant une sécheresse drastique, le potentiel hydrique induisant 10 % de perte de conductivité hydraulique était proche de celui pour lequel la fermeture stomatique est totale. Ce dernier résultat a confirmé le rôle de la régulation stomatique dans le contrôle du développement de l'embolie dans le xylème. Des différences d'efficacité intrinsèque d'utilisation de l'eau (A/g_s) et de $\delta^{13}C$, estimateur de l'efficacité d'utilisation de l'eau ont été mises en évidence. Ces différences sont restées stables dans différentes conditions de cultures. Une relation a été détectée entre A/g_s et $\delta^{13}C$ à l'échelle intraspécifique mais pas à l'échelle interspécifique. La conductance hydraulique totale et A/g_s sont faiblement corrélés, ce qui va à l'encontre de notre hypothèse sur le rôle des caractéristiques hydrauliques dans le déterminisme de A/g_s . Nos données ont été utilisées pour proposer un modèle intégré de fonctionnement hydrique à l'échelle de la plante.

Mots clés: conifères méditerranéens, efficacité d'utilisation de l'eau, régulation stomatique, vulnérabilité à la cavitation, conductivité hydraulique, relations hydriques, comparaison interspécifique, sécheresse.

Discipline- Spécialité doctorale : Sciences et Techniques Biologiques, Biologie Forestière

Laboratoires d'accueil:

UMR 1137, Ecologie et Ecophysiologie Forestières, INRA, 54280 Champenoux

INRA-URFM d'Avignon, Equipe Ecophysiologie, 84000 Avignon

Résumé : Nous avons analysé la variabilité interspécifique, les caractéristiques hydrauliques, la régulation stomatique et l'efficacité intrinsèque d'utilisation de l'eau (W_i) de 4 conifères méditerranéens présentant différentes stratégies de réponse à la sécheresse. Les espèces représentent une large gamme de conductivités hydrauliques et de vulnérabilités à la cavitation du xylème, allant d'espèces vulnérables (*P. nigra*) à peu vulnérables (*C. atlantica*, *C. sempervirens* et *P. halepensis*). Pendant un dessèchement du sol, la fermeture totale des stomates intervient à un potentiel hydrique du xylème proche du seuil de cavitation. Ces résultats confirment le rôle des stomates dans la limitation du développement de l'embolie. Des différences de discrimination isotopique et de W_i existent, ces différences restent stables dans différentes conditions expérimentales mais aucune relation interspécifique n'a été détectée entre ces deux paramètres. W_i est faiblement corrélée à la conductance hydraulique spécifique des plants. A partir de nos résultats, un modèle intégré de fonctionnement hydrique a été proposé.

Mots clés: conifères méditerranéens, efficacité d'utilisation de l'eau, régulation stomatique, vulnérabilité à la cavitation, conductivité hydraulique, relations hydriques, comparaison interspécifique, sécheresse.

Title : Hydraulic properties, stomatal regulation and water use efficiency in four Mediterranean conifer species (*Cedrus atlantica*, *Cupressus sempervirens*, *Pinus halepensis* and *Pinus nigra*).

Abstract : Interspecific variability, xylem hydraulic traits, stomatal regulation and intrinsic water use efficiency (W_i) have been studied in four Mediterranean conifer species, chosen for their response to drought stress. They have presented large differences in hydraulic conductivity and vulnerability to cavitation, ranking from the most (*P. nigra*) to the least vulnerable species (*C. atlantica*, *P. halepensis* and *C. sempervirens*). During soil drought, stomatal closure occurred at xylem water potentials close to the threshold water potential of cavitation vulnerability. These results confirm the implication of stomata in limiting the development of the xylem embolism. Differences among species in $\delta^{13}\text{C}$ and W_i were detected, with similar ranking for different experimental conditions. When, for each experimental condition, the data of all species were merged, a weak correlation was found between W_i and hydraulic conductance, however no such correlation was found between W_i and $\delta^{13}\text{C}$. Our results were used to propose an integrated hydraulic model.

Keywords : Mediterranean conifer, water use efficiency, stomatal regulation, xylem cavitation, water relation, hydraulic conductivity, interspecific comparison, drought stress.

Discipline- Spécialité doctorale : Sciences et Techniques Biologiques, Biologie Forestière

UMR 1137, Ecologie et Ecophysiologie Forestières, INRA, 54280 Champenoux

INRA-URFM d'Avignon, Equipe Ecophysiologie, 84000 Avignon