



Le mode de nutrition azotée du Pois (*Pisum sativum*) induit-il une modulation de sa réponse à un déficit hydrique du sol ?

Arnaud Fourrey

► To cite this version:

Arnaud Fourrey. Le mode de nutrition azotée du Pois (*Pisum sativum*) induit-il une modulation de sa réponse à un déficit hydrique du sol ?. [Stage] France. Université de Bourgogne (UB), FRA. 2012, 25p. hal-02804456

HAL Id: hal-02804456

<https://hal.inrae.fr/hal-02804456v1>

Submitted on 5 Jun 2020

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.



Agroécologie
Dijon
Unité de Recherche



Université de Bourgogne - Master STS – ETE - Spécialité Biologie des Organismes et des Populations

Mémoire de stage de Master seconde année, année universitaire 2011-2012

Le mode de nutrition azotée du Pois (*Pisum sativum*) induit-il une modulation de sa réponse à un déficit hydrique du sol ?



Photos : Patrick Mathey / Arnaud Fourrey.

Par: Arnaud FOURREY

Réalisé sous la direction de Mme. Marion Prudent,
Chargée de recherche, équipe écophysiologie des légumineuses à graines,
UMR 1347 Agroécologie, INRA Dijon.

REMERCIEMENTS

Dans un premier temps, je tiens à remercier Marion Prudent et Christophe Salon pour m'avoir offert l'opportunité d'effectuer ce stage enrichissant, tant scientifiquement qu'humainement et pour m'avoir permis de découvrir le monde de la recherche.

Je souhaite également remercier Patrick Matey, qui m'a épaulé durant les longues et chaudes journées passées en serre ainsi que lors des expéditions dans la chambre climatisée, à la lueur d'une lampe frontale. Son éternelle bonne humeur et ses blagues me manqueront !

Un grand merci aussi à Vincent Durey, grand expert du câblage de centrale d'acquisition des données, de thermistance, de sonde hygrométrique et de capteurs de rayonnement.

Merci à Christian, pour m'avoir aidé à faire marcher l'analyseur de photosynthèse. Sa technologie (aussi avancée qu'un minitel) venue d'un autre âge m'impressionnera toujours !

Merci à Brice, Anouk, Stephen, Anne-Sophie et Vanessa pour m'avoir apporté leurs précieuses lumières et leur bonne humeur !

Enfin, je tiens à remercier Franck pour son aide précieuse lors du travail en serre.

TABLE DES MATIERES :

INTRODUCTION :	1
MATERIEL ET METHODES :	3
1 : Matériel biologique et conditions de croissance :	3
2 : Design expérimental :	3
<u>2.1 : Traitements azotés :</u>	4
<u>2.2 : Traitements hydriques :</u>	4
3 : Mesures :	5
<u>3.1 : Analyse du statut hydrique des plantes :</u>	5
<u>3.2 : Mesure des caractères structuraux des plantes :</u>	6
<u>3.3 : Mesure des fonctions physiologiques des plantes :</u>	6
4 : Analyse de données :	7
RESULTATS :	7
1 : Effets de l'imposition d'un stress hydrique du sol au stade initiation florale	7
<u>1.1 : En conditions fixatrices de N₂ :</u>	7
<u>1.2 : En conditions assimilatrices de NO₃ :</u>	9
2 : Effets de l'imposition d'un stress hydrique du sol au stade floraison :	9
<u>2.1 : En conditions fixatrices de N₂ :</u>	9
<u>2.2 : En conditions assimilatrices de NO₃ :</u>	9

3 : Résilience du Pois suite à un stress hydrique du sol imposé au stade initiation florale :

10

3.1 : Effets du retour des conditions hydriques favorables en conditions fixatrices de N_2 : 10

3.2 : Réponse du Pois au retour de conditions hydriques favorables : effet du mode de nutrition azotée :

14

DISCUSSION :

15

CONCLUSION :

20

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

21

INTRODUCTION :

Au cours des deux dernières décennies, les indices tendant à montrer une modification globale du climat s'accumulent de manière inquiétante (Pachauri & Reisinger 2007). Ces changements climatiques (modifications des régimes de précipitations, augmentation des occurrences d'épisodes de sécheresse et de leur durée, hausse des températures) engendrent de profondes modifications sur les écosystèmes (modifications de la structure des paysages, augmentation de la sensibilité aux invasions biologiques, etc.), pouvant ainsi bouleverser leurs équilibres (Jeffers et al. 2012; Ooi 2012; Posas 2011; Raj et al. 2012). Certains écosystèmes comme les agrosystèmes (Tassin 2012) se trouvent être particulièrement sensibles à ces changements climatiques du fait de leur fort degré d'anthropisation. Il a déjà été montré que de tels systèmes sont beaucoup plus sensibles aux perturbations et restaurent avec difficulté leurs fonctions et services écosystémiques (Barron et al. 2012; Cutforth et al. 2007; Jeffers et al. 2012; Posas 2011; Raj et al. 2012).

Les légumineuses représentent une famille végétale à forte valeur agronomique (Bohlool et al. 1992). En effet, ces dernières assurent au sein des agrosystèmes un service d'enrichissement du sol en composés azotés (Verburg et al. 2012) grâce à leur capacité à établir une relation symbiotique avec des bactéries Rhizobiacées lorsque la disponibilité en composés azotés du sol est limitée, offrant ainsi une alternative aux intrants azotés particulièrement intéressante d'un point de vue économique et écologique (Bohlool et al. 1992). Cependant, depuis le début des années 60, les surfaces de légumineuses cultivées à l'échelle Européenne ont chuté drastiquement (Cavaillès 2009). Ces dernières étaient, jusqu'à la fin de la première moitié du XX^{ème} siècle, utilisées préférentiellement en alimentation animale comme source protéique, et ont peu à peu été délaissées et remplacées par des compléments alimentaires issus de l'industrie agroalimentaire comme le tourteau de Soja (Cavaillès 2009). Cette perte d'intérêt est due d'une part à l'augmentation de la disponibilité des engrais minéraux azotés et à la baisse de leurs coûts, d'autre part à une politique agricole peu favorable à l'échelle Européenne et enfin à des problèmes de stabilité des rendements (Cavaillès 2009). L'optimisation de la stabilité des rendements par l'amélioration des variétés cultivées représente un levier d'action sur lequel la recherche agronomique peut se baser pour relancer la culture des Légumineuses. Or l'instabilité des rendements est due à la forte sensibilité des légumineuses aux stress biotiques et abiotiques (Abdelhamid et al. 2011; Arrese-Igor et al. 2011; Ashraf & Iram 2005; Fedorenko, Fernández & Busso 1995). En particulier, l'établissement de la symbiose

permettant aux légumineuses un accès au stock de N_2 atmosphérique (qui sera transformé par la suite au cœur des nodosités) est fortement impacté par un large panel de stress abiotiques (manque d'eau, augmentation de la température, hausse du taux de salinité du sol, etc.) (Manchanda & Garg 2008; Tejera, Soussi & Lluch 2006; Zacarias, Altamirano-Hernandez & Cabriaes 2004; Zhou et al. 2010), ce qui conduit inexorablement à une baisse des rendements des cultures de légumineuses soumises à de tels stress.

Le Pois protéagineux, *Pisum sativum*, employé par les agriculteurs comme source de protéines pour l'élevage du bétail, a été utilisé afin de caractériser le différentiel de réponse des Légumineuses face au stress hydrique du sol. Ses deux modes de nutrition azotée (assimilation du **nitrate** (NO_3) via les racines et fixation du **diazote** (N_2) via les nodosités) sont complémentaires dans l'espace (répartition spatiale des nodules sur les racines) et dans le temps (quinze jours sont nécessaires pour obtenir des nodules efficaces une fois la formation de ces structures initiée), et offrent ainsi une plasticité de réponse à la plante en conditions stressantes (Voisin, Munier-Jolain & Salon 2010). La formation et l'entretien de nodosités par la plante représente un coût énergétique qu'elle n'assume que lorsque la disponibilité en composés azotés du sol devient critique (Jeudy et al. 2010; Kirda, Danso & Zapata 1989; Naudin et al. 2011). En effet, les nodules nécessitent, pour être efficaces, un apport énergétique conséquent sous forme de composés carbonés provenant des réactions photosynthétiques. En retour de cette source d'énergie, les bactéries symbiotiques sont en mesure de fournir à leur plante hôte une forme d'azote utilisable directement par la plante (ammoniaque : NH_3), produit lors de la réaction de fixation du N_2 atmosphérique (Hopkins 2003).

Il apparaît ainsi capital de comprendre quels sont les mécanismes de réponse aux stress abiotiques des Légumineuses en relation avec leur mode particulier de nutrition azotée. Si les effets du stress hydrique sur les végétaux cultivés sont bien documentés (Beard 1989; Bresta et al. 2011; Chaves, Costa & Saibo 2011; Chaves, Maroco & Pereira 2003; Heinemann, Stone & Fageria 2011), l'étude de leur réponse à un stress hydrique du sol en interaction avec le niveau de ressources azotées disponibles dans le sol reste à l'heure actuelle peu documentée (Alamillo et al. 2010; Galvez, Gonzalez & Arrese-Igor 2005; Gonzalez-Dugo, Durand & Gastal 2009). C'est pourquoi l'étude menée au cours de ce stage vise à mieux caractériser les interactions existant entre la réponse d'une légumineuse à graines (le Pois) à un stress hydrique du sol et son mode de nutrition azotée. Les hypothèses posées sont d'une part, le fait que l'imposition d'un stress hydrique du sol devrait affecter négativement la croissance des plantes et, d'autre part, que le mode de nutrition azotée (nutrition de type fixatrice ou nutrition de type

assimilatrice) devrait moduler la réponse des plantes face au stress hydrique. Enfin, les plantes ayant subi un stress hydrique du sol devraient être capables de retrouver une croissance normale une fois le retour des conditions hydriques optimales.

MATERIEL ET METHODES :

1: Matériel biologique et conditions de croissance :

Des graines de Pois (*Pisum sativum*) du génotype Kayanne (obteneur Momont), de type « afila » (chez lequel les folioles sont absentes et remplacées par des vrilles hypertrophiées) ont été calibrées ($0,285\text{g} \pm 0,005\text{g}$) afin d'homogénéiser le statut des plantes au début de l'expérimentation. Pour leur germination, ces graines ont été placées dans des boîtes de Pétri pendant trois jours à température ambiante (20°C) et humidifiées à l'eau osmosée. Après la levée, deux plantules ont été transplantées dans des pots de 2L. Lors de la transplantation, chaque plantule a été inoculée avec une suspension contenant 10^8 rhizobactéries (*Rhizobacterium leguminosarum* bv *viciae*, souche P221). Puis, sept jours après germination, les pots ont été éclaircis afin de ne conserver qu'une plantule par pot.

Le substrat utilisé durant cette expérimentation est constitué d'un mélange composé à 25% de **sable de Biot** (calibre B4, granulométrie = $1,15\text{ mm} \pm 0,45$) et à 75% de **Vermiculite** (calibre fin). Ce mélange a été choisi en raison de son caractère inerte, de sa faible capacité de rétention en eau ainsi que de sa faculté à évaporer rapidement l'eau qu'il contient. Les pots ont été disposés en serre du mois de mars au mois de juin 2012, pendant lesquels ils ont été soumis à une photopériode de 16 heures. Des lampes au Phosphore ont assuré lorsque cela était nécessaire un éclairage complémentaire (PAR moyen = $255\text{ }\mu\text{E.m}^{-2}\text{s}^{-1}$), la température moyenne était de $20,2^{\circ}\text{C} \pm 0,9$ le jour et de $14^{\circ}\text{C} \pm 0,8$ la nuit. La température au sein de la serre a été mesurée par deux sondes PT100 (Pyro-contrôle, Vaulx-en-Velin, France). Le rayonnement utile à la photosynthèse (PAR) a été mesuré par des capteurs au silicium (Solems, Palaiseau, France). Ces mesures ont été enregistrées toutes les 300 secondes dans une centrale d'acquisition de données (DL2e ; Delta-T Devices, Cambridge, England).

2 : Design expérimental :

Deux types de traitements ont été appliqués : un traitement azoté comportant deux conditions contrastées ainsi qu'un traitement hydrique comportant deux conditions et réalisé à

deux stades de développement de la plante (fig.1). La disposition des pots dans la serre a été réalisée après randomisation des différentes conditions.

2.1 : Traitements azotés : Deux solutions nutritives ont été utilisées pour l'irrigation des plantes. La première ne contenait pas de source d'azote (dite **0N**), et était composée de K_2HPO_4 ($0,8 \text{ mmol.L}^{-1}$), MgSO_4 (1 mmol.L^{-1}), CaCl_2 ($0,625 \text{ mmol.L}^{-1}$), K_2SO_4 ($0,075 \text{ mmol.L}^{-1}$), NaCl ($0,2 \text{ mmol.L}^{-1}$), oligo-éléments ($0,05 \text{ mmol.L}^{-1}$), versanate de Fer ($0,05 \text{ mmol.L}^{-1}$). La seconde, dite **14N**, contenait suffisamment d'azote (sous forme de nitrates NO_3) pour inhiber le processus de nodulation (Naudin et al. 2011; Reid et al. 2011; Voisin et al. 2010) et était composée de KNO_3 (14 mmol.L^{-1}), K_2HPO_4 ($0,8 \text{ mmol.L}^{-1}$), $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (14 mmol.L^{-1}), MgSO_4 (1 mmol.L^{-1}), NaCl ($0,2 \text{ mmol.L}^{-1}$), KH_2PO_4 ($0,8 \text{ mmol.L}^{-1}$), $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ (14 mmol.L^{-1}), oligo-éléments ($0,05 \text{ mmol.L}^{-1}$), versanate de Fer ($0,05 \text{ mmol.L}^{-1}$).

2.2 : Traitements hydriques : Deux conditions hydriques ont été appliquées afin de mettre en évidence la réponse du Pois à un stress hydrique du sol. La première, dite Contrôle (**C**) (40 plantes, 20 recevant la solution 14N, 20 recevant la 0N), correspond à la situation où les plantes ont reçu suffisamment d'eau (75% de la capacité maximale de rétention en eau du substrat) pour croître dans des conditions optimales. La seconde, dite Stress (**S**) (40 plantes, 20 recevant la solution 14N, 20 recevant la 0N), correspond à la situation où les Pois ont reçu un apport restreint en eau (40% de capacité maximale de rétention en eau du substrat). Cette période de déficit en eau est maintenue constante durant 14 jours. Afin de maintenir les conditions hydriques voulues (75% ou 40% de la capacité de rétention maximale en eau du substrat), les pots ont été pesés chaque jour et le volume de solution nutritive à apporter à chacun des pots a été ajusté quotidiennement.

Le stress hydrique du sol a été appliqué séparément à deux stades clefs du développement des plantes. Au premier stade, correspondant au stade **initiation florale**, le stress hydrique, noté **Sif**, est appliqué à 30 plantes (15 recevant la solution 14N, 15 recevant la 0N). Au second, correspondant au stade **floraison**, le stress noté **Sflo**, a été appliqué à 10 plantes (5 recevant la solution 14N, 5 recevant la 0N) (figure 1 ; tableau 1). A l'issue des quatorze jours d'imposition du stress, les plantes ont été placées à nouveau dans la condition hydrique « Contrôle », soit à 75% de la capacité de rétention maximale en eau du substrat.

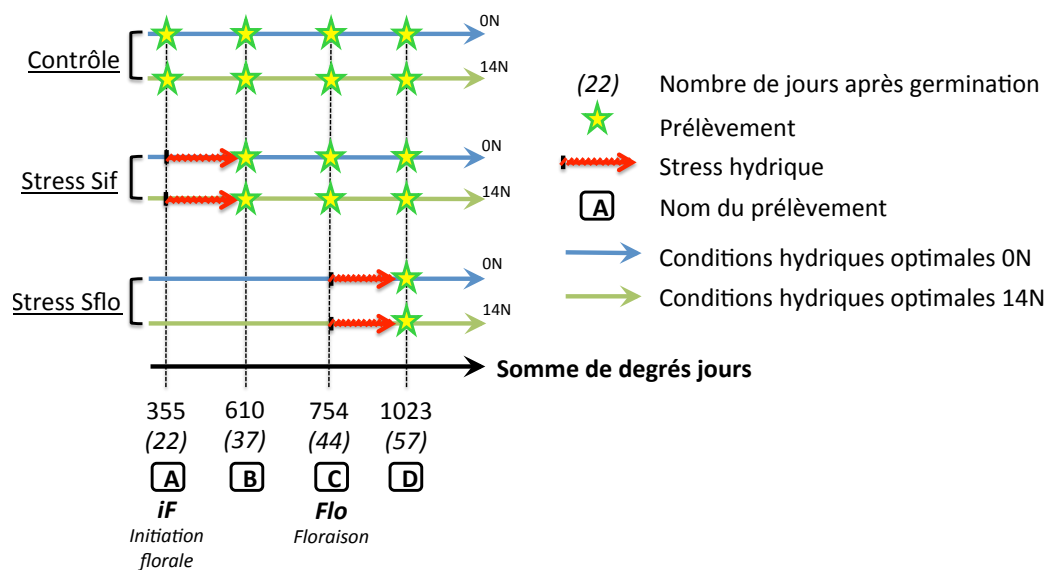


Figure 1 : Design expérimental : Schéma récapitulatif de la répartition temporelle des prélèvements pour les conditions azotées (14N et 0N) et les différentes conditions hydriques (Contrôle, Sif et Sflo).

Tableau 1 : Design expérimental : Nombre de plantes par condition azotée et hydrique :

		traitement hydrique		
		Contrôle	Stress initiation florale	Stress floraison
traitement azoté	0N	20	15	5
	14N	20	15	5

3 : Mesures :

3.1 : Analyse du statut hydrique des plantes : Pour mesurer le potentiel hydrique de base des plantes, celles-ci ont été placées la veille de la mesure dans une chambre noire afin de d'inhiber les réactions photosynthétiques et de pouvoir négliger l'évapotranspiration. Le potentiel hydrique du sol est dans ces conditions équivalent au potentiel hydrique de la feuille. Le potentiel hydrique de la feuille est obtenu en sectionnant une vrille et en soumettant cette dernière à une forte pression au moyen d'une chambre à pression (Scholander 600, IPM, Albany, USA). La valeur du potentiel hydrique correspond à la pression en bars lorsque la sève xylémique sort des vaisseaux conducteurs. La teneur relative en eau des feuilles est estimée grâce au prélèvement de disques foliaires à l'aide d'un emporte pièce (surface de d'échantillonnage= 4,52 cm²). Ceux-ci sont pesés afin d'obtenir leur poids frais puis placés pendant quatre heures dans de l'eau osmosée, laps de temps nécessaire pour qu'ils atteignent leur turgescence maximale. Ils sont alors à nouveau pesés puis placés 48 heures à l'étuve à

80°C avant que leurs poids secs ne soient mesurés. L'équation :

$RWC = \frac{\text{poids frais} - \text{poids sec}}{\text{poids turgescent} - \text{poids sec}}$ donne la valeur de la teneur relative en eau des feuilles pour

un échantillon. La teneur en eau des feuilles est calculée grâce à l'équation :

$$1 - \frac{\text{poids sec feuilles}}{\text{poids frais feuilles}}.$$

3.2 : Mesure des caractères structuraux des plantes : Des relevés phénologiques ont été réalisés quotidiennement sur chacune des plantes. Ils ont permis de repérer les stades clefs du développement du Pois. L'initiation florale a été déterminée par dissection d'apex sous une loupe binoculaire (issus de 10 plantes supplémentaires dédiées à la détermination de ce stade) : le stade initiation florale correspondant à l'évolution du méristème caulinaire en méristème floral. Le stade floraison a été déterminé lorsque 50% des plantes d'une même condition présentaient au moins une fleur bien ouverte. Lors des quatre prélèvements (initiation florale (prélèvement A), initiation florale + 15 jours (prélèvement B), floraison (prélèvement C), floraison + 15 jours (prélèvement D)), la plante a été disséquée et chaque compartiment (racines, nodules fonctionnels et non fonctionnels, tige, feuilles, ramifications, fleurs, cosses et graines) a été individualisé et analysé séparément. Les nodules ont été comptabilisés et séparés entre nodules fonctionnels, de couleur rose (contenant de la Leghémoglobine), et non fonctionnels, de couleur blanche ou verte. La surface du système racinaire des plantes ainsi que le nombre de racines latérales ont été analysés grâce au logiciel d'analyse d'images Winrhizo (Régent instruments Inc., Québec, Canada). Ce même logiciel a permis la détermination de la surface foliaire totale des plantes. Le poids frais des feuilles (stipules + vrilles) de la tige principale a été mesuré au moyen d'une balance de précision. Enfin, chacun des compartiments a été séché à l'étuve (48h à 80°C) puis leur biomasse sèche a été mesurée.

3.3: Mesure des fonctions physiologiques des plantes : L'activité photosynthétique et la conductance stomatique ont été mesurées à chaque récolte au moyen d'un analyseur LCpro+ (ADC Bioscientific Ltd., Hertfordshire, Royaume Unis) au midi solaire. Cet appareil mesure, au sein d'une chambre hermétique dans laquelle est insérée la stipule, la différence entre la teneur en CO₂ interne à cette chambre et la teneur en CO₂ atmosphérique. Une série d'algorithmes complexes lui permet d'estimer l'activité photosynthétique et la conductance stomatique. Des courbes de réponse de la photosynthèse et de la conductance stomatique à une intensité lumineuse croissante (PAR = 100, 200, 400, 800 et 2000 $\mu\text{E.m}^{-2}\text{s}^{-1}$) ont été réalisées (Ögren & Evans 1993).

4 : Analyse de données :

Les comparaisons de biomasses (racines, nodosités, tiges, feuilles, ramifications, fleurs, cosses et graines), surfaces (racines, feuilles et ramifications), nombre (nodosités, graines), activité photosynthétique, conductance stomatique, teneur relative en eau, teneur en eau des feuilles et potentiel hydrique ont été réalisées au moyen d'un test de Wilcoxon, Mann et Withney pour échantillons non appariés. Lorsque des comparaisons de pourcentage ont été effectuées, une transformation arc sinus a été réalisée. L'ajustement d'une fonction logarithme au nuage de points correspondant aux courbes de réponses de l'activité photosynthétique à différentes intensités lumineuses a été réalisé au moyen de la fonction nls. L'ensemble des analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R (version 2.15.0).

RESULTATS :

1 : Effet de l'imposition d'un stress hydrique du sol au stade « initiation florale » :

1.1: En conditions fixatrices de N_2 : A ce stade du développement de la plante, le stress hydrique a peu d'effets sur les **structures d'approvisionnement en eau** du Pois que sont les racines. En effet, il n'existe pas de différence significative ni en terme de biomasse de l'appareil racinaire (fig. 2), ni en terme de surface racinaire entre les plantes ayant reçu un apport en eau optimal et celles ayant subi un déficit. Par ailleurs, les caractéristiques architecturales du système racinaire n'ont pas été affectées par le stress hydrique : la profondeur d'enfouissement du système racinaire ainsi que le nombre de racines latérales se sont révélées similaires chez les individus appartenant au lot contrôle et ceux appartenant au lot stress.

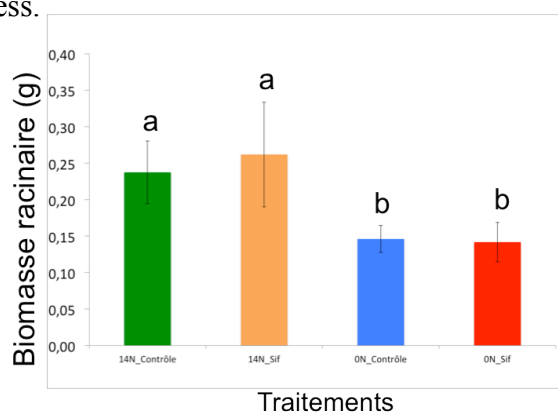


Figure 2 : effets du stress hydrique sur la biomasse racinaire (prélèvement B, i.e. 14 jours après le début du stress).

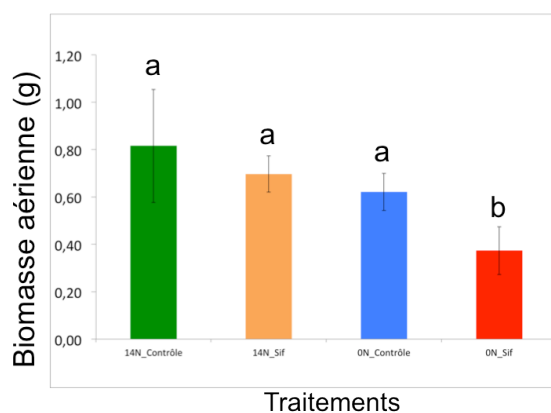
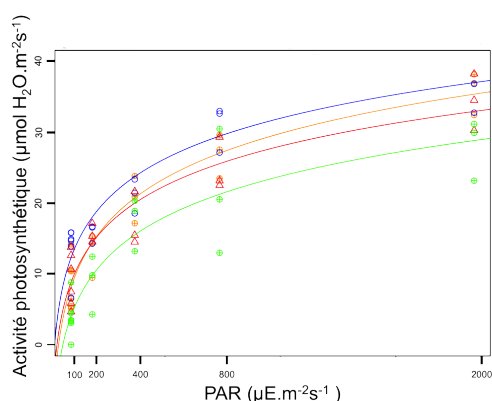


Figure 3 : effets du stress hydrique sur la biomasse foliaire (prélèvement B, i.e. 14 jours après le début du stress).

Les **structures d'acquisition de l'azote** que sont les nodosités sont en revanche affectées par le stress hydrique au stade initiation florale. Le nombre et la masse sèche de nodules diminuent significativement entre les individus appartenant au lot stressé et ceux appartenant au lot contrôle. En revanche, leur taille n'est pas affectée par l'imposition du stress (tableau 2). Les **structures aériennes** (feuilles et tige) de la plante sont quant à elles impactées de manière plus prononcée par le stress hydrique. En effet, la masse sèche aérienne totale des individus stressés est significativement inférieure à celle des individus ayant bénéficié de conditions hydriques optimales (fig. 3). La masse sèche des feuilles suit elle aussi la même tendance. En revanche, la surface foliaire est identique entre les plantes stressées et les plantes « contrôle ».

La teneur en eau des feuilles est significativement augmentée par l'application d'un stress hydrique du sol. En revanche, le potentiel hydrique, variable traduisant le statut hydrique de la plante, ne diffère pas entre les individus « contrôle » et les individus stressés à l'issue des quatorze jours de déficit hydrique. Un autre indicateur du statut hydrique de la plante, la teneur relative en eau des feuilles, n'est elle aussi pas affectée par une modification de condition hydrique du sol. **Les fonctions assurées par la feuille** que sont l'activité photosynthétique et la conductance stomatique ne sont pas affectées par l'application d'un stress hydrique lors de l'initiation florale. En effet, il n'existe pas de différence significative entre les courbes de réponse à différentes intensités lumineuses pour ces deux traitements, les intervalles de confiance (IC) associés aux deux paramètres d'ajustement des courbes se recoupant mutuellement (fig. 4).



Condition	valeur du paramètre a	IC
Contrôle 0N	0,47	-4,14 [a] 5,08
Stress initiation florale 0N	-0,23	-4,45 [a] 3,98
Contrôle 14N	-0,18	-4,52 [a] 4,15
Stress initiation florale 14N	-0,04	-4,56 [a] 4,48
Condition	valeur du paramètre b	IC
Contrôle 0N	-21,3	-46,58 [b] 2,29
Stress initiation florale 0N	-17,29	-41,28 [b] 6,70
Contrôle 14N	-14,62	-39,11 [b] 9,86
Stress initiation florale 14N	-19,99	-44,24 [b] 4,26

Figure 4 : Ajustement logarithme ($\text{activité photosynthétique} = a \log(\text{PAR}) - b$) de courbes de réponse de l'activité photosynthétique à différentes intensités lumineuses pour les plantes issues du prélèvement B. Bleu = Contrôle 0N ; Rouge = Stress if 0N ; Vert = Contrôle 14N ; Orange = Stress if 14N.

1.2 : En conditions assimilatrices de NO₃ : La présence dans la solution nutritive d'une source d'azote, sous forme de nitrates (NO₃) a permis d'inhiber de manière fiable le processus de nodulation. En absence d'azote dans la solution nutritive, le stress hydrique induit, chez les individus ayant été stressés au stade d'initiation florale, une biomasse et une surface racinaire inférieures à celles obtenues au moyen de la solution 14N (tableau 2). Concernant l'appareil végétatif, la réponse au stress varie entre les deux modes de nutrition azotée. L'absence d'une source de nitrates dans la solution nutritive 0N conduit à une baisse de 46% de la biomasse totale aérienne lors de l'application d'un stress hydrique du sol. Il en va de même pour la biomasse, la surface foliaire et la longueur de la tige principale.

Tableau 2 : Effet de l'application du stress hydrique au stade initiation florale sur les variables mesurées lors du prélèvement B. Le degré de significativité du test de Wilcoxon est indiqué pour les différentes variables étudiées : p = 0 :*** ; p < 0.001 :** ; p < 0.01 :*.

$$\text{Effet biologique} = \frac{(\text{Stress initiation florale} - \text{Contrôle})}{\text{Contrôle}} \times 100$$

Variables	Effet du stress hydrique en conditions fixatrices de N ₂ (0N), prélèvement B			Effet du stress hydrique en conditions assimilatrices de NO ₃ (14N), prélèvement B		
	Effet	W	p	Effet	W	p
biomasse racinaire (g)	= -	14	NS	⬇ -46%	0	*
surface racinaire (cm ²)	= -	9	NS	⬇ -30%	1	*
profondeur d'enfouissement (cm)	= -	11	NS	= -	6	NS
nombre de racines latérales	= -	11	NS	= -	3	NS
biomasse nodules fonctionnels (g)	⬇ -45%	20	*	/	/	/
nombre de nodules fonctionnels	⬇ -24%	16	*	/	/	/
taille des nodosités (g.nodule ⁻¹)	= -	9	NS	/	/	/
biomasse aérienne (g)	⬇ -37%	24	*	⬇ -46%	0	*
biomasse feuilles (g)	⬇ -40%	25	*	⬇ -46%	0	*
surface feuilles (cm ²)	= -	16	NS	⬇ -47%	0	*
longueur tige principale (cm)	⬇ -19%	25	*	⬇ -27%	0	*
teneur en eau des feuilles (%)	⬆ 2%	0	*	⬆ 3%	20	*
potentiel hydrique (MPa)	= -	11,5	NS	= -	12	NS
teneur relative en eau (%)	= -	9	NS	= -	16,5	NS
activité photosynthétique (μmol CO ₂ .m ⁻² .s ⁻¹)	= -	6	NS	= -	4	NS
conductance stomatique (μmol H ₂ O.m ⁻² .s ⁻¹)	= -	8,5	NS	= -	3	NS

2 : Effet de l'imposition d'un stress hydrique du sol au stade floraison :

2.1 : En conditions fixatrices de N₂ : La profondeur d'enfouissement du système racinaire est inférieure chez les individus stressés par rapport à ceux ayant bénéficié de conditions hydriques optimales. Concernant le système aérien, la biomasse sèche totale du système aérien varie significativement entre les individus stressés et les individus ayant bénéficié de conditions hydriques satisfaisantes. Cette variation est due à la différence de biomasse de tige, qui se trouve être inférieure chez les individus ayant été soumis au stress hydrique à floraison (tableau 3).

2.2 : En conditions assimilatrices de NO₃ : L'apport, via la solution nutritive, de nitrates (NO₃) induit une modification de la réponse de la plante face à un stress hydrique de quatorze jours (tableau 3). Le stress hydrique, en condition assimilatrice, induit une diminution des biomasses et surfaces racinaires ainsi que des biomasses des ramifications. L'impact du stress hydrique sur les variables observées est plus important chez les individus ayant reçu la solution nutritive contenant une source d'azote que chez les individus fixateurs. En réponse au stress hydrique du sol, les individus « fixateurs » présentent des biomasses des parties reproductives supérieures à celle des individus « assimilateurs ». La teneur relative en eau des feuilles varie également entre les deux traitements : elle est plus importante pour celui ayant reçu la solution nutritive contenant du nitrate.

Tableau 3 : Effet de l'application du stress hydrique au stade floraison sur les variables mesurées lors du prélèvement D. Le degré de significativité du test de Wilcoxon est indiqué pour les différentes variables étudiées : p = 0 :*** ; p < 0.001 :** ; p < 0.01 :*.

$$\text{Effet biologique} = \frac{(\text{Stress initiation florale} - \text{Contrôle})}{\text{Contrôle}} \times 100$$

Variables	Effet du stress hydrique en conditions fixatrices de N ₂ (0N), prélèvement D			Effet du stress hydrique en conditions assimilatrices de NO ₃ (14N), prélèvement D		
	Effet	W	p	Effet	W	p
biomasse racinaire (g)	= -	19	NS	⬇ -56%	0	*
surface racinaire (cm ²)	= -	10	NS	⬇ -42%	0	*
profondeur d'enfouissement	⬇ -19%	23	*	= -	8,5	NS
nombre de racines latérales	= -	14	NS	= -	12	NS
biomasse nodules fonctionnels (g)	= -	15	NS	/ / / /	/	/
nombre de nodules fonctionnels	= -	14	NS	/ / / /	/	/
biomasse nodules non fonctionnels (g)	= -	14	NS	/ / / /	/	/
nombre nodules non fonctionnels	= -	15	NS	/ / / /	/	/
biomasse aérienne (g)	⬇ -26%	24	*	= -	3	NS
biomasse feuilles (g)	= -	17	NS	= -	4	NS
surface feuilles (cm ²)	= -	22	NS	= -	7	NS
longueur tige principale (cm)	= -	22	NS	= -	14	NS
biomasse ramifications (g)	= -	19	NS	⬇ -88%	1	NS
biomasse graines (g)	= -	5	NS	⬆ 77%	25	*
teneur en eau des feuilles (%)	= -	14	NS	= -	3	NS
potentiel hydrique (MPa)	= -	20	NS	= -	12	NS
teneur relative en eau (%)	= -	18	NS	⬇ -24%	1	*
activité photosynthétique (μmol CO ₂ .m ⁻² .s ⁻¹)	= -	1	NS	= -	9	NS
conductance stomatique (μmol H ₂ O.m ⁻² .s ⁻¹)	= -	0,5	NS	= -	5,5	NS

3 : Résilience du Pois suite à un stress hydrique du sol imposé au stade initiation florale :

3.1 : Effets du retour des conditions hydriques favorables en conditions fixatrices de N₂ :

3.1.1 : effets à court terme : Sept jours après le retour des conditions hydriques optimales, peu de caractères apparaissent significativement différents entre les plantes ayant subi un stress hydrique du sol et celles ayant bénéficié de conditions hydriques optimales

(tableau 4). La masse sèche du système racinaire et sa surface ne varient pas en fonction des deux modalités de traitement hydrique. Les biomasses et nombres de nodules fonctionnels suivent cette tendance, ainsi que les biomasses et nombres de nodules non fonctionnels. La biomasse aérienne totale est, elle aussi, similaire entre les plantes ayant subi un stress et celles ayant bénéficié de conditions hydriques optimales. Cependant, la biomasse des feuilles de la tige principale est significativement différente entre les individus stressés et les contrôles, les stressés présentant une masse sèche plus réduite. La surface foliaire suit également cette tendance. La longueur de tige principale ne diffère plus entre les individus appartenant au lot contrôle et ceux appartenant au lot stressé à initiation florale. Le potentiel hydrique, la teneur en eau des feuilles ainsi que la teneur relative en eau ne diffèrent pas entre les traitements stress à l'initiation florale et les contrôles. Les variables relatives aux réactions photosynthétiques sont semblables entre les deux traitements hydriques.

3.1.2 : effets à moyen terme : Vingt jours après que les conditions hydriques optimales aient été rétablies, les effets de l'imposition du stress hydrique au stade « initiation florale » en l'absence de source d'azote dans le substrat sont plus marqués comme le montre le tableau 4. Contrairement aux hypothèses initiales, la plante n'est pas capable de retrouver une croissance normale suite à l'imposition du stress. Vingt jours après le retour des conditions hydriques optimales, les effets du stress hydrique sont encore plus prononcés.

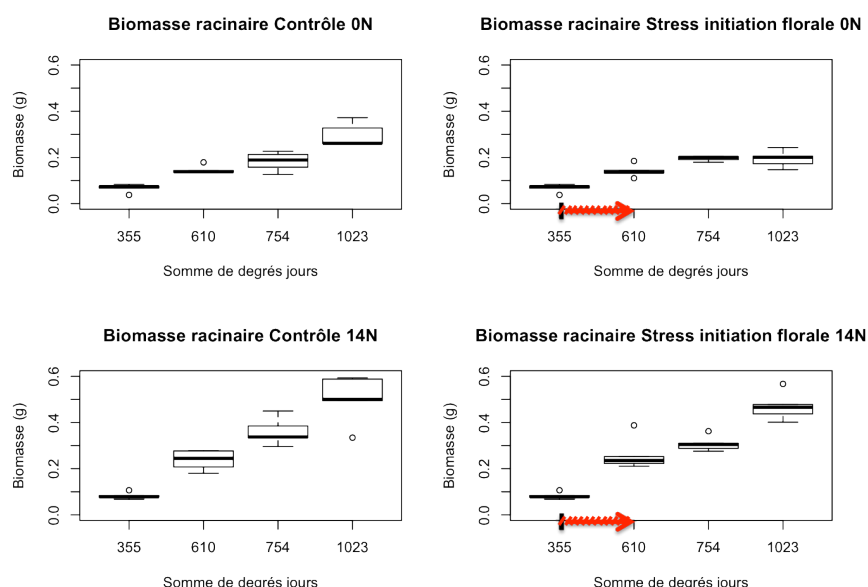


Figure 5 : effet de l'imposition d'un stress hydrique du sol sur la biomasse racinaire au cours du développement du Pois. Comparaison entre conditions azotées (0N et 14N) et traitements hydriques (Contrôle et Stress à initiation florale). La flèche rouge correspond à la période d'application du stress.

La biomasse du système racinaire est significativement différente entre les plantes ayant subi un stress hydrique et celles ayant bénéficié de conditions hydriques optimales, comme le montre la figure 5. Le retour des conditions hydriques favorables n'a pas permis d'obtenir chez les plantes stressées une profondeur d'enfouissement du système racinaire aussi importante que pour les plantes appartenant au lot contrôle. Le nombre de racines latérales est également affecté, les plantes ayant manqué d'eau en produisant significativement moins. Les biomasses et le nombre de nodosités (qu'elles soient fonctionnelles ou non fonctionnelles) ne sont pas différents à ce stade du développement de la plante.

Au niveau aérien, de nombreux caractères sont significativement inférieurs pour le traitement stress par rapport au contrôle, indiquant l'incapacité de la plante à retrouver une croissance similaire au contrôle suite au stress. La biomasse aérienne des individus ayant subi un stress est inférieure à celle des individus ayant bénéficié de conditions hydriques optimales (fig. 6). La biomasse de feuilles issues de la tige principale est également inférieure chez les plantes stressées, tout comme la longueur de la tige principale. Cependant, la surface foliaire ne diffère pas entre les deux modalités de traitement hydrique. Le processus de ramification est fortement affecté par le stress hydrique : la biomasse des feuilles issues des ramifications est nettement plus faible dans le cadre du traitement stress hydrique.

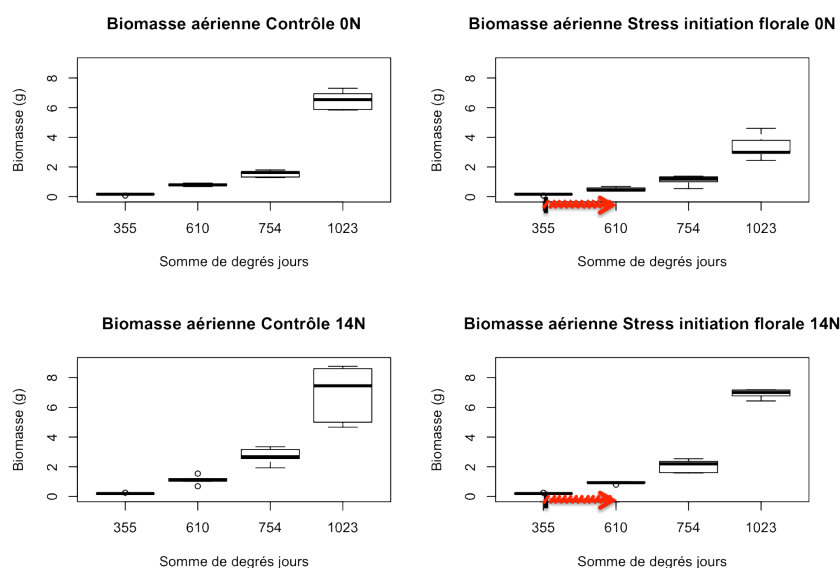


Figure 6 : effet de l'imposition d'un stress hydrique du sol sur la biomasse racinaire au cours du développement de la plante. Comparaison entre conditions azotées (**0N** et **14N**) et traitements hydriques (**Contrôle**, **Stress à initiation florale**). La flèche rouge correspond à la période d'application du stress.

Les plantes ayant subi un stress à l'initiation florale possèdent une biomasse de graines (en pourcentage de la biomasse totale de la plante) supérieure aux individus ayant disposé de conditions hydriques favorables (fig. 7).

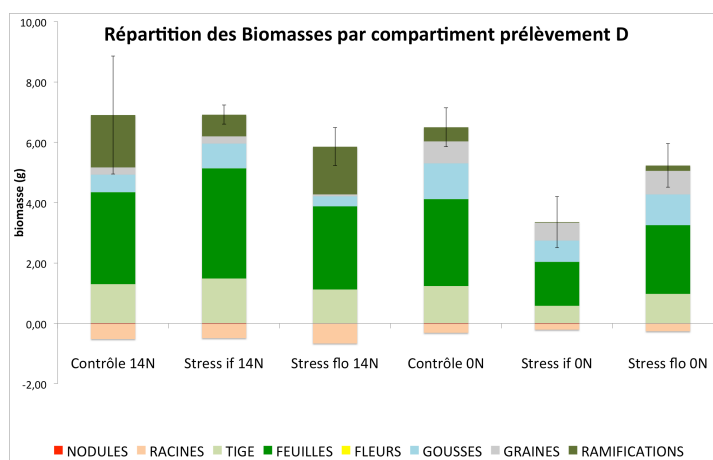


Figure 7 : effets des différentes conditions hydriques et azotées sur la répartition de la biomasse par compartiment (Seuls les écarts types concernant la masse totale de la plante sont figurés).

Les indicateurs du statut hydrique de la plante (potentiel hydrique, teneur relative en eau et teneur en eau des feuilles) ne présentent une fois encore pas de variation entre les deux conditions hydriques. Les variables liées aux fonctions assurées par les feuilles ne varient également pas en fonction de la teneur en eau du sol. Cela est valable pour l'activité photosynthétique, tout comme la conductance stomatique.

Tableau 4 : Effet de la résilience suite à l'application du stress hydrique au stade initiation florale sur les variables mesurées lors des prélèvements C et D. Le degré de significativité du test de Wilcoxon est indiqué sur les différentes variables étudiées : $p = 0$:*** ; $p < 0.001$:** ; $p < 0.01$:*.

$$\text{Effet biologique} = \frac{(\text{Stress initiation florale} - \text{Contrôle})}{\text{Contrôle}} \times 100$$

Variables	Résilience après un stress hydrique au stade initiation florale en conditions fixatrices de N ₂ (0N), prélèvement C			Résilience après un stress hydrique au stade initiation florale en conditions fixatrices de N ₂ (0N), prélèvement D		
	Effet	W	p	Effet	W	p
biomasse racinaire (g)	= -	11	N S	⬇️ -28%	25	**
surface racinaire (cm ²)	= -	9	N S	= -	14	N S
biomasse nodules fonctionnels (g)	= -	9	N S	⬇️ -27%	25	**
nombre de nodules fonctionnels	= -	13	N S	⬇️ -35%	15	*
biomasse nodules non fonctionnels (g)	= -	15	N S	= -	13	N S
nombre nodules non fonctionnels	= -	5	N S	= -	6	N S
biomasse aérienne (g)	= -	21	N S	⬇️ -48%	25	**
biomasse feuilles (g)	⬇️ -49%	25	**	⬇️ -49%	25	**
surface feuilles (cm ²)	⬇️ -33%	20	*	= -	9	N S
longueur tige principale (cm)	= -	11	N S	⬇️ -26%	25	**
biomasse ramifications (g)	/ / /	/	/	⬇️ -95%	24	**
biomasse graines (g)	/ / /	/	/	⬆️ 29%	1	*
teneur en eau des feuilles (%)	= -	18	N S	= -	18	N S
potentiel hydrique (MPa)	= -	18	N S	= -	19	N S
teneur relative en eau (%)	= -	20	N S	= -	15	N S
activité photosynthétique (μmol CO ₂ .m ⁻² .s ⁻¹)	= -	5	N S	= -	0	N S
conductance stomatique (μmol H ₂ O.m ⁻² .s ⁻¹)	= -	0	N S	= -	0	N S

3.2 : Réponse du Pois au retour de conditions hydriques favorables : effet du mode de nutrition azotée :

Vingt jours après le retour de conditions hydriques optimales, l'apport d'azote via la solution nutritive représente le facteur déterminant régissant la manière dont la plante va répondre au retour de conditions hydriques optimales. L'imposition du stress hydrique a induit, en dépit du retour de conditions hydriques favorables, une diminution des surfaces et biomasses racinaires (tableau 5), de la profondeur d'enfouissement ainsi que du nombre de racines latérales qui sont significativement inférieurs pour les individus ayant un mode de nutrition azotée de type fixateur de N₂. Cette tendance se retrouve également au niveau aérien (fig. 7), où l'ensemble des variables permettant la caractérisation du développement des plantes sont inférieures chez les individus « fixateurs ». Les individus ayant un mode de nutrition de type fixateur présentent, en réponse à l'imposition du stress hydrique, une biomasse des parties reproductives supérieure à celle des plantes ayant été traitées avec la solution nutritive contenant une source azotée.

En revanche, les indicateurs du statut hydrique (teneur en eau des feuilles, potentiel hydrique et teneur relative en eau) de la plante ne sont pas modulés par le stress hydrique quel que soit le mode de nutrition azotée de la plante. Il en va de même pour les variables liées aux réactions photosynthétiques.

Tableau 5 : Effet du mode de nutrition azotée sur la résilience suite à l'application du stress hydrique au stade initiation florale sur les variables mesurées lors du prélèvement D. Le degré de significativité du test de Wilcoxon est indiqué sur les différentes variables étudiées : p = 0 : *** ; p < 0.001 : ** ; p < 0.01 : *.

$$\text{Effet biologique} = \frac{(\text{Stress initiation florale } 0N - \text{Stress initiation florale } 14N)}{\text{Stress initiation florale } 14N} \times 100$$

Variables	Effet du mode de nutrition azotée sur la résilience après un stress hydrique au stade initiation florale, prélèvement D		
	effet	W	p
biomasse racinaire (g)	⬇ -58%	0	**
surface racinaire (cm ²)	⬇ -50%	0	*
profondeur d'enfouissement (cm)	⬇ -23%	0	*
nombre de racines latérales	⬇ -41%	1	*
biomasse aérienne (g)	⬇ -51%	0	**
biomasse feuilles (g)	⬇ -60%	0	**
biomasse ramifications (g)	⬇ -97%	0	**
biomasse graines (g)	⬆ 92%	25	*
potentiel hydrique (MPa)	= -	18	N S
teneur en eau des feuilles (%)	= -	10	N S
teneur relative en eau (%)	= -	13	N S
activité photosynthétique (μmol CO ₂ .m ⁻² .s ⁻¹)	= -	9	N S
conductance stomatique (μmol H ₂ O.m ⁻² .s ⁻¹)	= -	3	N S

DISCUSSION :

Il semble exister **deux stratégies distinctes de réponse au stress hydrique**, modulées par la présence ou l'absence d'azote (et donc le mode de nutrition azotée des plantes). Les plantes ayant un mode de nutrition azotée reposant sur l'assimilation de nitrates, sont peu affectées par l'imposition d'un stress hydrique du sol durant l'initiation florale ou pendant la floraison, comme l'illustre la photographie de la figure 7, que ce soit au niveau structural et fonctionnel. En revanche, la combinaison d'un stress hydrique du sol durant l'initiation florale avec une nutrition azotée reposant uniquement sur la fixation du N_2 par les rhizobactéries provoque une réduction significative des biomasses de plusieurs compartiments de la plante (nodules, tiges, feuilles) ainsi que des surfaces foliaires et racinaires. De plus, les plantes ayant été soumises à de telles contraintes présentent une biomasse des parties reproductrices (graines) nettement plus importante. Cependant, les effets combinés du stress hydrique du sol et d'un mode de nutrition azotée de type fixateur de N_2 produisent des effets moins marqués sur ces caractères au stade floraison comparativement au stade initiation florale.

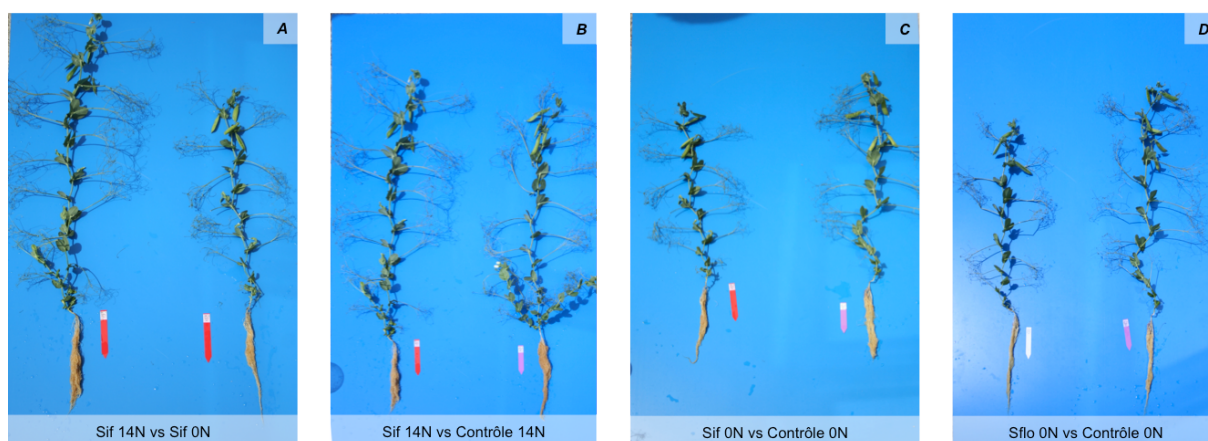


Figure 7 : effets différentiels sur le phénotype de l'application d'un stress hydrique au stade initiation florale et à floraison. Plantes récoltées au prélèvement D.

A = comparaison entre solution nutritive avec et sans azote pour le stress à l'initiation florale. B = comparaison entre un stress à l'initiation florale et le contrôle en présence d'azote. C = comparaison entre un stress à l'initiation florale en l'absence d'apport exogène d'azote. D = comparaison entre un stress à la floraison et le contrôle en l'absence d'apport exogène d'azote.

Certains résultats obtenus lors de l'expérimentation entrent en contradiction avec la littérature scientifique à leur sujet. Dans un premier temps, notre étude ne montre aucune variation du statut hydrique des plantes via la mesure du potentiel hydrique. Nous estimons que c'est la multiplication du nombre d'expérimentateurs pendant la mesure du potentiel hydrique qui a représenté un biais important lors de la mesure. Par ailleurs, les études menées sur la réponse des plantes à un stress hydrique du sol mentionnent toujours une

diminution drastique de l'activité photosynthétique et de la conductance stomatique en condition de stress, même lorsqu'il est modéré (Chaves et al. 2011; Shangguan, Shao & Dyckmans 2000; Streeter 2003; Xu & Zhou 2006). Pourtant, les données obtenues au moyen de l'analyseur de photosynthèse (LCpro +) ne permettent pas de montrer un quelconque effet du stress hydrique sur les fonctions photosynthétiques. En effet, les paramètres des courbes issues de l'ajustement au nuage de points sont similaires d'un traitement hydrique à l'autre, et d'une condition de nutrition azotée à l'autre. Il semble que cette machine ait été victime de dysfonctionnements, produisant ainsi des séries de données erronées. Enfin, la littérature présente la plasticité du système racinaire comme une réponse à moyen terme en condition de stress hydrique : la longueur du système racinaire augmentant avec l'intensité du stress (Buljovicic & Engels 2001; Gonzalez-Dugo et al. 2009; Zaman-Allah, Jenkinson & Vadez 2011). Dans notre étude, c'est un résultat opposé qui a pu être observé puisque la profondeur d'enfouissement du système racinaire n'a pas été modifiée par le stress, les racines ayant probablement été contraintes par le volume restreint des pots (2 litres).

Le résultat majeur de notre étude réside dans le fait que le stress hydrique seul en conditions azotées optimales (à l'intensité où il a été appliqué, soit 40% de la capacité maximale de rétention en eau du substrat pendant 14 jours) ne semble pas être un facteur suffisant pour induire des modifications d'ordre phénotypique et/ou physiologique chez le pois. En effet, les individus dont la nutrition azotée reposait uniquement sur l'assimilation de nitrates n'ont pas été affectés par le déficit hydrique. L'ensemble des variables liées au développement de ces plantes s'est révélé similaire entre les plantes stressées et celles ayant bénéficié de conditions hydriques optimales. Des courbes de réponse à différentes intensités de stress hydrique permettraient de déterminer à partir de quel seuil le pois est perturbé dans sa croissance en conditions d'apports minéraux pléthoriques.

En revanche, **lors de l'imposition d'un stress hydrique lorsque le mode de nutrition azotée repose uniquement sur la fixation de N_2 , différentes variables traduisant le développement de la plante se sont révélées affectées.** Le stress hydrique seul ne suffit pas ici à induire des changements majeurs vis à vis des variables traduisant le développement du Pois, mais sa combinaison avec un second facteur abiotique (ici la modulation de l'apport azoté) va induire une modification de l'allocation des ressources entre les différents compartiments de la plante (biomasse aérienne, biomasse nodulaire, biomasse des ramifications). L'absence de nitrates dans la solution nutritive pousse la plante à allouer de l'énergie, sous forme de composés carbonés (hydrates de carbone issus des réactions

photosynthétiques) dans la formation et l'entretien de nodosités, siège des interactions symbiotiques assurant un accès au N₂ (Galvez et al. 2005; Larrainzar et al. 2009; Marino, Gonzalez & Arrese-Igor 2006). Cet investissement de la plante vis à vis de ses bactéries symbiotiques représente pour l'hôte un coût énergétique non négligeable, justifiant l'absence de ramifications lors de l'application d'un stress à l'initiation florale (Lebon et al. 2006; Lebon et al. 2004; Mortier, Holsters & Goormachtig 2012). Ce coût de mise en place et d'entretien des nodosités devient plus lourd à assumer pour la plante en condition de stress hydrique du sol (Arrese-Igor et al. 2011; Galvez et al. 2005; King & Purcell 2001). En effet, pour assurer le bon fonctionnement de ses fonctions métaboliques malgré le facteur limitant que représente le manque d'eau, la plante réduit sa production de biomasse (Bourgault et al. 2010; Gonzalez-Dugo et al. 2009), afin de limiter les pertes d'eau dues au phénomène d'évapotranspiration. La réduction de sa biomasse (et donc de sa surface) foliaire va induire une réduction de la production d'assimilats photosynthétiques carbonés, sous forme d'hydrates de carbone qui constituent la source d'énergie de la plante et des bactéroïdes (Galvez et al. 2005; Xu et al. 2010; Yousfi et al. 2010). Concernant les nodosités, leur plus faible biomasse et nombre sur les racines des individus ayant subi un stress hydrique du sol au stade de l'initiation florale est très probablement dû à la modulation de l'allocation des ressources énergétiques entre la plante hôte et ses symbiontes (Arrese-Igor et al. 2011; Ashraf & Iram 2005; Galvez et al. 2005). **Dans ces conditions, la plante réalise un compromis entre maximisation de la fixation du diazote atmosphérique et maintien de ses fonctions principales.** Ce mécanisme permettrait à la plante d'économiser ses ressources durant l'épisode de stress, et de les utiliser pleinement une fois le retour de conditions hydriques satisfaisantes.

Le stade de développement auquel le stress hydrique est appliqué affecte la réponse du pois lorsque sa nutrition azotée repose uniquement sur la fixation de N₂ atmosphérique, mais pas lorsque sa nutrition azotée repose sur l'assimilation des nitrates. De la même manière que le stress imposé à l'initiation florale, le stress hydrique appliqué à la floraison en conditions assimilatrice de NO₃ (inhibant ainsi le processus de nodulation) n'induit pas de réponse de la part du Pois. L'ensemble des variables caractérisant le développement des plantes est similaire entre les individus stressés et ceux ayant bénéficié de conditions hydriques optimales. En revanche, contrairement à ce qui a pu être observé avec l'application d'un stress hydrique du sol à l'initiation florale en l'absence de source d'azote

dans le substrat, la réponse du Pois face à un déficit hydrique à floraison est nettement moins prononcée. Seules deux variables sont affectées négativement : la profondeur d'enfouissement du système racinaire et la biomasse sèche aérienne totale. Il semble que **les plantes ayant subi un stress hydrique au stade de floraison et celles ayant bénéficié de conditions optimales de croissance investissent leur énergie de manière similaire dans la mise en place des structures reproductrices**. Le stade de développement auquel a lieu l'application du stress joue un rôle fondamental dans la réponse à ce dernier. Le Pois, après avoir dépassé le stade d'initiation florale, ne présente plus de sensibilité (pour l'ensemble de ses variables à l'exception de la biomasse aérienne totale et de la profondeur d'enfouissement du système racinaire) au déficit hydrique. Des résultats en cours d'analyse portant sur l'application d'un stress hydrique à la fin du franchissement de stade limite d'avortement des graines tendent à appuyer cette hypothèse. Les résultats obtenus entrent en contradiction avec de nombreuses études montrant un effet important de l'application d'un stress hydrique du sol sur les stades avancés du développement du Pois (Abdelhamid et al. 2011; Bourgault et al. 2010; Mahieu et al. 2009; Ney, Duthion & Turc 1994; Yousfi et al. 2010). **Le stress, tel qu'il a été imposé durant cette expérimentation (40% de la capacité maximale de rétention en eau du substrat pendant quatorze jours) ne semble pas être suffisamment important pour induire une réponse de la part du Pois au stade floraison.**

Une autre réponse particulièrement intéressante a pu être identifiée en rétablissant la teneur en eau du substrat au niveau optimal (70% de la capacité de rétention en eau du substrat) après les 14 jours d'imposition du stress hydrique. En effet, les individus ainsi traités ne retrouvent pas un développement semblable à celui des individus servant de contrôle. **Il ne semble donc pas exister de processus de résilience une fois l'arrêt de la période de stress** (Chaves & Oliveira 2004; Cutforth et al. 2007). De plus, **l'investissement conséquent (augmentation de la biomasse des graines de 92%) que réalisent les individus ayant subi un stress hydrique dans leurs fonctions reproductrices au détriment de leurs structures végétatives traduit un changement de stratégie de la plante**. Leurs ressources sont alors investies prioritairement vers les structures reproductrices au détriment des structures végétatives et racinaires afin de pouvoir libérer leurs graines le plus vite possible (Lebon et al. 2006; Ney et al. 1994). Cette tendance de la plante à restreindre son investissement énergétique vers ses structures végétatives est accentuée par le laps de temps nécessaire à l'obtention de nouvelles nodosités efficaces (15 jours) (Hopkins 2003). En effet, durant cette période, la plante mobilise des composés carbonés pour assurer la création des structures de

fixation de l'azote que sont les nodules, mais elle ne peut, durant ce laps de temps, obtenir en retour des composé azotés pouvant entrer dans ses réactions de synthèse protéique (Hopkins 2003; Puppo et al. 2005; Reid et al. 2011).

Afin de mettre en évidence une stratégie de remplissage des graines spécifique aux plantes ayant subi un stress au stade de l'initiation florale, des tests de caractérisation de la qualité de ces graines (teneur en protéines et lipides, aptitude à germer) et du rendement des Pois (Planchet et al. 2011; Ramos & de Andrade 2010) permettraient, en regard des résultats des analyses de teneur d'azote et de carbone, d'apporter des éléments appuyant ces hypothèses. En effet, il est d'une part envisageable que le manque de ressources hydrique et énergétique ait poussé la plante à avorter certaines gousses au sein desquelles les graines étaient au début de la phase de remplissage (Cutforth et al. 2007; Ney et al. 1994; Zaman-Allah et al. 2011). Ainsi, les graines issues de plantes stressées pourraient être produites en plus faible nombre mais se révéler être de meilleure qualité et permettre ainsi d'augmenter le succès reproducteur de la plante qui les a produites (Gibbs, Van Dyck & Breuker 2012; Jarvis & Moore 2008).

L'investissement conséquent des individus stressés dans les structures reproductrices a très probablement été amplifié par la conception du design expérimental. **En effet, les plantes ne recevant pas la solution contenant de l'azote sous forme de nitrate ont probablement fait face, durant les deux premières semaines de l'expérimentation, à une sévère carence azotée.** Les nodules, organes leur ouvrant l'accès au N_2 issus de l'atmosphère, ne se mettent en place et ne deviennent actifs que deux semaines après l'inoculation (Hopkins 2003). Ce laps de temps a donc très certainement représenté un réel stress azoté, puisque les plantes nécessitent un apport conséquent de composés azotés durant le début de leur croissance.

Si les variables étudiées dans le présent rapport sont pour la quasi totalité d'entre elles liées aux composantes structurales de la plante (biomasses de racines et de feuilles, surfaces foliaires, etc.), il semble désormais nécessaire d'analyser les composantes liées aux fonctions physiologiques de la plante, qui n'obéissent pas à la même échelle de temps (réponses à court terme des composantes fonctionnelles versus réponses à long terme des composantes structurales).

CONCLUSION :

Cette étude a permis de mettre en évidence l'existence d'une différence de réponse du Pois face à un stress hydrique du sol. Cette réponse est, dans un premier temps, modulée par le mode de nutrition azotée de la plante (assimilation de nitrates ou fixation symbiotique de l'azote atmosphérique) puis, dans un second temps, par le stade du développement physiologique de la plante auquel il est imposé (ici à l'initiation florale et à la floraison). Il a ainsi été montré que le processus de nodulation joue un rôle important dans la réponse de la plante face au stress, ce dernier induisant une modification de la balance de l'allocation des composés carbonés entre les différents organes de la plante et les nodosités. Cependant, des études complémentaires doivent être menées afin d'estimer, par exemple, la teneur en eau minimale que le Pois peut supporter sans que cela ne nuise à son rendement. Faire varier la durée du stress permettrait également d'obtenir des informations particulièrement intéressantes permettant de caractériser de manière précise le type de stress hydrique (en terme de teneur minimale en eau et de durée de l'imposition du déficit) qui impacte le rendement et la qualité des graines du Pois. La recherche de mécanismes d'acclimatation aux stress permettrait également d'obtenir des variétés de Pois résistantes capable de conserver des rendements élevés en dépit de conditions climatiques peu favorables. Ces nouvelles connaissances pourront permettre la conception d'idéotypes valorisant la complémentarité entre les deux modes de nutrition azotée (fixation symbiotique de N_2 et assimilation de nitrates) des légumineuses. Le caractère résilient suite à une perturbation devra aussi être pris en compte dans la conception des idéotypes, assurant ainsi une meilleure stabilité des rendements et rendant tout leur attrait aux cultures de Légumineuses.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

- Abdelhamid, M. T., Palta, J. A., Veneklaas, E. J., Atkins, C., Turner, N. C. & Siddique, K. H. M.** 2011. Drying the surface soil reduces the nitrogen content of faba bean (*Vicia faba* L.) through a reduction in nitrogen fixation. *Plant and Soil*, **339**, 351-362.
- Alamillo, J. M., Diaz-Leal, J. L., Sanchez-Moran, M. V. & Pineda, M.** 2010. Molecular analysis of ureide accumulation under drought stress in *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Cell and Environment*, **33**, 1828-1837.
- Arrese-Igor, C., Gonzales, E. M., Marino, D., Ladrera, R., Iarrainzar, E. & Gil-Quintana, E.** 2011. Physiological responses of legume nodules to drought. *Plant stress*, **5**, 24-31.
- Ashraf, M. & Iram, A.** 2005. Drought stress induced changes in some organic substances in nodules and other plant parts of two potential legumes differing in salt tolerance. *Flora*, **200**, 535-546.
- Barron, O., Silberstein, R., Ali, R., Donohue, R., McFarlane, D. J., Davies, P., Hodgson, G., Smart, N. & Donn, M.** 2012. Climate change effects on water-dependent ecosystems in south-western Australia. *Journal of Hydrology*, **434**, 95-109.
- Beard, J. B.** 1989. Turfgrass water stress: drought resistance components, physiological mechanisms, and species-genotype diversity. In: *The 6th International Turfgrass Research Conference* (Ed. by T. A. M. U. Department of Soil & Crop Sciences, College Station, Texas 77843, USA). Tokyo.
- Bohlool, B. B., Ladha, J. K., Garrity, D. P. & George, T.** 1992. Biological nitrogen fixation for sustainable agriculture: A perspective. *Plant and Soil*, **141**, 1-11.
- Bourgault, M., Madramootoo, C. A., Webber, H. A., Stulina, G., Horst, M. G. & Smith, D. L.** 2010. Effects of Deficit Irrigation and Salinity Stress on Common Bean (*Phaseolus Vulgaris* L.) and Mungbean (*Vigna Radiata* (L.) Wilczek) Grown in a Controlled Environment. *Journal of Agronomy and Crop Science*, **196**, 262-272.
- Bresta, P., Nikolopoulos, D., Economou, G., Vahamidis, P., Lyra, D., Karamanos, A. & Karabourniotis, G.** 2011. Modification of water entry (xylem vessels) and water exit (stomata) orchestrates long term drought acclimation of wheat leaves. *Plant and Soil*, **347**, 179-193.
- Buljovic, Z. & Engels, C.** 2001. Nitrate uptake ability by maize roots during and after drought stress. *Plant and Soil*, **229**, 125-135.
- Cavaillès, E.** 2009. La relance des légumineuses dans le cadre d'un plan protéine: quels bénéfices environnementaux? Paris: Commissariat général au développement durable – Service de l'économie, de l'évaluation et de l'intégration du développement durable.
- Chaves, M. M., Costa, J. M. & Saibo, N. J. M.** 2011. Recent Advances in Photosynthesis Under Drought and Salinity. In: *Plant Responses to Drought and Salinity Stress: Developments in a Post-Genomic Era* (Ed. by I. Turkan), pp. 49-104.
- Chaves, M. M., Maroco, J. P. & Pereira, J. S.** 2003. Understanding plant responses to drought - from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology*, **30**, 239-264.

- Chaves, M. M. & Oliveira, M. M.** 2004. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. *Journal of Experimental Botany*, **55**, 2365-2384.
- Cutforth, H. W., McGinn, S. M., McPhee, K. E. & Miller, P. R.** 2007. Adaptation of pulse crops to the changing climate of the northern Great Plains. *Agronomy Journal*, **99**, 1684-1699.
- Fedorenko, D. E. F., Fernández, O. A. & Busso, C. A.** 1995. The effect of water stress on top and root growth in *Medicago minima*. *Journal of Arid Environments*, **29**, 47-54.
- Galvez, L., Gonzalez, E. M. & Arrese-Igor, C.** 2005. Evidence for carbon flux shortage and strong carbon/nitrogen interactions in pea nodules at early stages of water stress. *Journal of Experimental Botany*, **56**, 2551-2561.
- Gibbs, M., Van Dyck, H. & Breuker, C. J.** 2012. Development on drought-stressed host plants affects life history, flight morphology and reproductive output relative to landscape structure. *Evolutionary Applications*, **5**, 66-75.
- Gonzalez-Dugo, V., Durand, J. L. & Gastal, F.** 2009. Water deficit and nitrogen nutrition of crops. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, **30**, 529-544.
- Heinemann, A. B., Stone, L. F. & Fageria, N. K.** 2011. Transpiration rate response to water deficit during vegetative and reproductive phases of upland rice cultivars. *Scientia Agricola*, **68**, 24-30.
- Hopkins, W. G.** 2003. *Physiologie végétale*, de boeck & larcier edn. Bruxelles: de boeck & larcier.
- Jarvis, J. C. & Moore, K. A.** 2008. Influence of environmental factors on *Vallisneria spiralis* seed germination. *Aquatic Botany*, **88**, 283-294.
- Jeffers, E. S., Bonsall, M. B., Watson, J. E. & Willis, K. J.** 2012. Climate change impacts on ecosystem functioning: evidence from an *Empetrum* heathland. *New Phytologist*, **193**, 150-164.
- Jeudy, C., Ruffel, S., Freixes, S., Tillard, P., Santoni, A. L., Morel, S., Journet, E.-P., Duc, G., Gojon, A., Lepetit, M. & Salon, C.** 2010. Adaptation of *Medicago truncatula* to nitrogen limitation is modulated via local and systemic nodule developmental responses. *New Phytologist*, **185**, 817-828.
- King, C. A. & Purcell, L. C.** 2001. Soybean nodule size and relationship to nitrogen fixation response to water deficit. *Crop Science*, **41**, 1099-1107.
- Kirda, C., Danso, S. K. A. & Zapata, F.** 1989. Temporal water stress effects on nodulation, nitrogen accumulation and growth of soybean. *Plant and Soil*, **120**, 49-55.
- Larrainzar, E., Wienkoop, S., Scherling, C., Kempa, S., Ladrera, R., Arrese-Igor, C., Weckwerth, W. & Gonzalez, E. M.** 2009. Carbon Metabolism and Bacteroid Functioning Are Involved in the Regulation of Nitrogen Fixation in *Medicago truncatula* Under Drought and Recovery. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **22**, 1565-1576.
- Lebon, E., Pellegrino, A., Louarn, G. & Lecœur, J.** 2006. Branch Development Controls Leaf Area Dynamics in Grapevine (*Vitis vinifera*) Growing in Drying Soil. *Annals of Botany*, **98**, 175-185.

- Lebon, E., Pellegrino, A., Tardieu, F. & Lecoœur, J.** 2004. Shoot Development in Grapevine (*Vitis vinifera*) is Affected by the Modular Branching Pattern of the Stem and Intra - and Inter - shoot Trophic Competition. *Annals of Botany*, **93**, 263-274.
- Mahieu, S., Germon, F., Aveline, A., Hauggaard-Nielsen, H., Ambus, P. & Jensen, E. S.** 2009. The influence of water stress on biomass and N accumulation, N partitioning between above and below ground parts and on N rhizodeposition during reproductive growth of pea (*Pisum sativum* L.). *Soil Biology & Biochemistry*, **41**, 380-387.
- Manchanda, G. & Garg, N.** 2008. Salinity and its effects on the functional biology of legumes. *Acta Physiologiae Plantarum*, **30**, 595-618.
- Marino, D., Gonzalez, E. M. & Arrese-Igor, C.** 2006. Drought effects on carbon and nitrogen metabolism of pea nodules can be mimicked by paraquat: evidence for the occurrence of two regulation pathways under oxidative stresses. *Journal of Experimental Botany*, **57**, 665-673.
- Mortier, V., Holsters, M. & Goormachtig, S.** 2012. Never too many? How legumes control nodule numbers. *Plant Cell and Environment*, **35**, 245-258.
- Naudin, C., Corre-Hellou, G., Voisin, A. S., Oury, V., Salon, C., Crozat, Y. & Jeuffroy, M. H.** 2011. Inhibition and recovery of symbiotic N₂ fixation by peas (*Pisum sativum* L.) in response to short-term nitrate exposure. *Plant and Soil*, **346**, 275-287.
- Ney, B., Duthion, C. & Turc, O.** 1994. Phenological response of pea to water-stress during reproductive development. *Crop Science*, **34**, 141-146.
- Ögren, E. & Evans, J. R.** 1993. Photosynthetic light-response curves. *Planta*, **189**, 182-190.
- Ooi, M. K. J.** 2012. Seed bank persistence and climate change. *Seed Science Research*, **22**, S53-S60.
- Pachauri, R. K. & Reisinger, A.** 2007. Changements Climatiques 2007: Rapport de Synthèse. GIEC.
- Planchet, E., Rannou, O., Ricoult, C., Boutet-Mercey, S., Maia-Grondard, A. & Limami, A. M.** 2011. Nitrogen metabolism responses to water deficit act through both abscisic acid (ABA)-dependent and independent pathways in *Medicago truncatula* during post-germination. *Journal of Experimental Botany*, **62**, 605-615.
- Posas, P. J.** 2011. Exploring climate change criteria for strategic environmental assessments. *Progress in Planning*, **75**, 109-154.
- Puppo, A., Groten, K., Bastian, F., Carzaniga, R., Soussi, M., Lucas, M. M., de Felipe, M. R., Harrison, J., Vanacker, H. & Foyer, C. H.** 2005. Legume nodule senescence: roles for redox and hormone signalling in the orchestration of the natural aging process. *New Phytologist*, **165**, 683-701.
- Raj, R. K., Scarborough, H., Subedi, N. & Lamichhane, B.** 2012. Invasive plants - Do they devastate or diversify rural livelihoods? Rural farmers' perception of three invasive plants in Nepal. *Journal for Nature Conservation*, **20**, 170-176.
- Ramos, F. N. & de Andrade, A. C. S.** 2010. Seed germination of a rare neotropical canopy tree dormancy and the effects of abiotics factors. *Revista Arvore*, **34**, 443-449.

- Reid, D. E., Ferguson, B. J., Hayashi, S., Lin, Y. H. & Gresshoff, P. M.** 2011. Molecular mechanisms controlling legume autoregulation of nodulation. *Annals of Botany*, **108**, 789-795.
- Shangguan, Z. P., Shao, M. A. & Dyckmans, J.** 2000. Nitrogen nutrition and water stress effects on leaf photosynthetic gas exchange and water use efficiency in winter wheat. *Environmental and Experimental Botany*, **44**, 141-149.
- Streeter, J. G.** 2003. Effects of drought on nitrogen fixation in soybean root nodules. *Plant Cell and Environment*, **26**, 1199-1204.
- Tassin, J.** 2012. Is an agrosystem an ecosystem? *Cahiers Agricultures*, **21**, 57-63.
- Tejera, N. A., Soussi, M. & Lluch, C.** 2006. Physiological and nutritional indicators of tolerance to salinity in chickpea plants growing under symbiotic conditions. *Environmental and Experimental Botany*, **58**, 17-24.
- Verburg, P. H., Koomen, E., Hilferink, M., Perez-Soba, M. & Lesschen, J. P.** 2012. An assessment of the impact of climate adaptation measures to reduce flood risk on ecosystem services. *Landscape Ecology*, **27**, 473-486.
- Voisin, A. S., Munier-Jolain, N. G. & Salon, C.** 2010. The nodulation process is tightly adjusted to plant growth. An analysis using environmentally and genetically induced variation of nodule number and biomass in pea. *Plant and Soil*, **337**, 399-412.
- Xu, B. C., Deng, X. P., Zhang, S. Q. & Shan, L.** 2010. Biomass partition, leaf gas exchange and water relations of alfalfa and milkvetch seedlings in response to soil drying. *Photosynthetica*, **48**, 481-487.
- Xu, Z. Z. & Zhou, G. S.** 2006. Nitrogen metabolism and photosynthesis in *Leymus chinensis* in response to long-term soil drought. *Journal of Plant Growth Regulation*, **25**, 252-266.
- Yousfi, N., Slama, I., Ghnaya, T., Sayoure, A. & Abdelly, C.** 2010. Effects of water deficit stress on growth, water relations and osmolyte accumulation in *Medicago truncatula* and *M. laciniata* populations. *Comptes Rendus Biologies*, **333**, 205-213.
- Zacarias, J. J. J., Altamirano-Hernandez, J. & Cabriaes, J. J. P.** 2004. Nitrogenase activity and trehalose content of nodules of drought-stressed common beans infected with effective (Fix(+)) and ineffective (Fix(-)) rhizobia. *Soil Biology & Biochemistry*, **36**, 1975-1981.
- Zaman-Allah, M., Jenkinson, D. M. & Vadez, V.** 2011. A conservative pattern of water use, rather than deep or profuse rooting, is critical for the terminal drought tolerance of chickpea. *Journal of Experimental Botany*, **62**, 4239-4252.
- Zhou, X. B., Yang, G. M., Sun, S. J. & Chen, Y. H.** 2010. Plant and row spacing effects on soil water and yield of rainfed summer soybean in the northern China. *Plant Soil and Environment*, **56**, 1-7.