



HAL
open science

Réponse d'une descendance de jeunes pommiers cultivés en pots à différents régimes hydriques : conséquences sur la transpiration, la conductance stomatique, la croissance, le potentiel hydrique et des relations d'allométrie

Antoine Marceron, Pierre-Eric Lauri, Gilbert Garcia, Nicolas Virlet, Jean-Luc J.-L. Regnard

► To cite this version:

Antoine Marceron, Pierre-Eric Lauri, Gilbert Garcia, Nicolas Virlet, Jean-Luc J.-L. Regnard. Réponse d'une descendance de jeunes pommiers cultivés en pots à différents régimes hydriques : conséquences sur la transpiration, la conductance stomatique, la croissance, le potentiel hydrique et des relations d'allométrie. Sciences du Vivant [q-bio]. 2011. hal-02810060

HAL Id: hal-02810060

<https://hal.inrae.fr/hal-02810060v1>

Submitted on 6 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.

Réponse d'une descendance de jeunes pommiers cultivés en pots à différents régimes hydriques : conséquences sur la transpiration, la conductance stomatique, la croissance, le potentiel hydrique et des relations d'allométrie

Marceron, A.⁽¹⁾, Lauri, P.E.⁽²⁾, Garcia, G.⁽²⁾, Virlet, N.⁽²⁾, et Regnard, J.L.⁽²⁾.

(1) Agrocampus Ouest Centre d'Angers, INHP, Institut National d'Horticulture et de Paysage,
2, Rue André Le Nôtre, 49045 ANGERS Cedex 01, France
antoine.marceron@agrocampus-ouest.fr

(2) UMR AGAP 1098 (Amélioration Génétique et Adaptation des Plantes),
Équipe AFEF (Architecture et Fonctionnement des Espèces Fruitières),
Campus CIRAD Lavalette – TA-A-108/03, Avenue Agropolis, 34398 MONTPELLIER Cedex 05
lauri@supagro.inra.fr

Résumé

Les objectifs de notre étude ont été de classer 17 génotypes de pommier issus d'une même descendance suivant des critères de physiologie foliaire, de croissance et d'allométrie dans des conditions de stress hydrique racinaire. Pour cela, 5 variables ont été mesurées : conductance stomatique, la transpiration, le potentiel hydrique foliaire, le potentiel osmotique foliaire, la croissance de plants et des relations d'allométrie foliaire. La conductance stomatique, le potentiel hydrique et le potentiel osmotique des plants stressés n'a pas permis de dissocier les génotypes. Par contre, la croissance s'est arrêtée en cas de stress de manière différente suivant les génotypes : un premier groupe de génotypes fut en arrêt de croissance et reprit sa croissance post stress beaucoup plus rapidement qu'un second groupe, qui semble moins réactif aux changements hydriques édaphiques. Aussi l'allométrie de la forme des feuilles n'est pas modifiée par le stress hydrique racinaire. Alors que la relation d'allométrie entre la conductance xylémienne pétiolaire et les caractéristiques foliaires n'est pas conservée lors du stress. Il serait intéressant de réitérer l'expérience avec plus de modalités hydriques différentes pour obtenir un échantillonnage de réactions au stress.

Mots clefs : descendance de génotypes, *Malus*, potentiel hydrique, conductance stomatique, allométrie, HPFM et transpiration.

Summary

This study is based on a genetic descent. The way was to classify 17 genotypes following criteria of leaf physiology, growth and allometry in root water stress. In this purpose, we measured the stomatic conductance, the transpiration, the hydric leaf potential, the osmotic leaf potential, the growth of trees and the relations of leaf allometry. On the one hand, the stomatic conductance, the hydric potential and the osmotic potential did not allow discriminating genotypes under stress. On the other hand, the growth stopped in case of stress in a different way following genotypes: a first group has stopped its growth faster and took back its growth faster too by going out of stress; and a second slower group in the hydric changes. So the allometry on the shape of sheets is not modified by hydric stress. While the relation of allometry enters the xylem conductance and the leaf characteristics is not maintained during the stress. It would be interesting to repeat the experience with more different hydric modalities to obtain a sampling of reactions to the stress.

Key words: Descent of genotypes, *Malus*, hydric potential, stomatic conductance, allometry, HPFM and transpiration.

INTRODUCTION

L'eau est une ressource précieuse que l'on commence enfin à considérer comme un bien non renouvelable. Avec la prise de conscience du changement climatique, le secteur agricole doit se poser des questions sur son utilisation de l'eau (INRA, 2006). Actuellement il est consenti que l'irrigation doit se faire de manière raisonnée et que les gros consommateurs d'eau, que sont les agriculteurs, doivent se plier aux arrêtés préfectoraux en cas de sécheresse. Ainsi en cas de sécheresse même légère, les risques encourus en agriculture peuvent être dramatiques en ce qui concerne les rendements.

Si on prend le cas de l'horticulture, plus particulièrement l'arboriculture fruitière, et de pommiers comme dans notre étude, l'irrigation est toute aussi importante. Un stress abiotique provoqué par l'absence d'eau conduit à des désordres du fonctionnement foliaire et bien évidemment à des baisses de rendement (Breda *et al.*, 2006). Dans le but de valoriser l'utilisation de l'eau dans les vergers, il est essentiel d'étudier la capacité d'adaptation des espèces fruitières en cas de stress hydrique.

L'approche, qui est souvent envisagée pour obtenir des plantes résistantes à la sécheresse, est la sélection variétale. Dans cette sélection, plusieurs choix s'offrent à nous ; soit la sélection classique qui laisse le hasard choisir à notre place les caractères qu'auront les descendants, soit la sélection génétique. C'est dans ce contexte de recherche de marqueurs moléculaires de traits architecturaux et éco-physiologiques, et de leurs variations en réponse à un déficit hydrique au niveau racinaire, que se situe notre étude. Nous allons étudier un panel de génotypes issus de la descendance de 'Starkrimson' et 'Granny Smith', qui a déjà fait l'objet d'analyses génétiques (QTLs, Quantitative Trait Loci) de variables architecturales (Segura *et al.*, 2009) et éco-physiologiques (Regnard *et al.*, 2008). La variabilité inter-variétés est démontrée pour la réponse stomatique aux facteurs environnementaux (Massonnet *et al.*, 2007) mais cette étude a pour but d'étudier le variabilité intra-variété.

Pour que l'on puisse utiliser cette étude, bien que partielle, dans un objectif futur de sélection, il est nécessaire d'utiliser un échantillon important de génotypes (Clavel *et al.*, 2005), pour que le panel étudié soit représentatif de la population. Il a été montré que deux axes permettent de dissocier des individus en cas de stress hydrique : leur réponse physiologique et leur réponse morphologique.

En ce qui concerne la réponse physiologique, elle se manifeste par trois types de réponses (Clavel *et al.*, 2005) que l'on regroupe sous le terme « évitement » : un premier type qui améliore l'efficacité d'extraction de l'eau au niveau racinaire, un second type qui régule l'ouverture des stomates et un dernier type qui équilibre les potentiels hydriques au niveau du sol par ajustement osmotique. Le but de l'étude est d'utiliser ces caractères pour dissocier les génotypes du panel. La conductance stomatique révèle l'état d'ouverture des stomates et donc l'état transpiratoire de la plante. En cas de sécheresse ou de chaleurs intenses, la plante ferme ses stomates pour éviter tout dommage. En cas de stress hydrique, l'une des premières réactions est la diminution de la conductance stomatique (Valancogne, 1997) grâce à l'action d'une hormone, l'acide abscissique (Hsiao, 1973 ; Lovisolo *et al.*, 2010). La fermeture des stomates, limitant la transpiration, est un moteur essentiel qui permet à la plante de se protéger, mais elle réduit l'assimilation du carbone (Chaves, 1991). On recherche donc une plante qui limite assez sa transpiration tout en conservant une assez importante photosynthèse A_N (net photosynthesis, Flexas *et al.*, 2002). De même, le potentiel hydrique révèle l'état hydrique de la plante. Il peut être mesuré sur différents organes : feuille (potentiel de feuille), vaisseaux conducteurs (potentiel de tige) ou l'état hydrique de repos (potentiel de base).

En ce qui concerne la réponse morphologique, Li *et al.*, (1989) a montré que l'irrigation pouvait modifier la croissance, la taille des feuilles et la fructification. Par ailleurs, complétant l'étude de la croissance proprement dite (dynamique d'accroissement de la longueur et du nombre de nœuds de la pousse), nous avons cherché à quantifier les effets possibles d'un stress hydrique racinaire sur les relations d'allométrie (l'allométrie exprime la corrélation entre la taille de l'organisme et certains facteurs biologiques) entre longueur et largeur de la feuille d'une part, la conductance hydraulique pétiolaire et la surface/poids sec de la feuille d'autre part. Dans un contexte hydrique restreint, la conductance hydraulique est modifiée (augmentation des potentiels hydriques) et il a été montré que celle-ci avait une influence sur la dimension des feuilles (Brouat *et al.*, 1998) ; à nous de voir si l'allométrie foliaire est aussi modifiée.


Une thèse, menée par Nicolas Virlet, est actuellement en cours sur le phénotypage du fonctionnement foliaire et de l'efficacité d'utilisation de l'eau d'arbres adultes issus d'une

descendance hybride de pommiers cultivés en plein air. Mon stage s'inscrit dans ce contexte. Il s'agit d'approfondir les effets d'un stress édaphique (facteur statut hydrique) sur le fonctionnement foliaire (physiologique et morphologique) de 17 génotypes de pommiers (facteur génotype) a priori contrastés pour leur comportement foliaire issus de cette descendance en première année de croissance en serre.

MATERIELS ET METHODES

Matériels

Le site d'étude est le campus du Cirad de Lavalette, commune de Montpellier, Avenue Agropolis (N 43° 38', E 3° 52'). L'altitude est de 45m. Les plants se trouvent dans une serre Openvelo à 2 chapelles dont les ouvrants ont été laissés ouverts pendant tout le temps de l'expérience. L'expérience a été menée sur 5 semaines consécutives, du 06-06-11 au 08-07-11.

Les pommiers ont été greffés sur porte-greffe M9 NAKB  février 2011 puis tuteurés pour les maintenir en position verticale durant toute l'expérimentation. Les plants étaient âgés de 4 mois au début de l'expérience (6 juin 2011) et mesuraient 56cm (+/- 13cm) pour 23 métamères (+/- 4) (moyenne +/- écart-type). Ils poussaient dans des pots de 4L et de 18cm de diamètre contenant un substrat de terreau classique avec engrais minéral 0.5 à 1.5kg/m³ NPK 14-16-18 avec starter. Une dose de 5g d'engrais azoté (Ammonitrate 33.5% dont 16.7% d'azote nitrique et 16.8% d'azote ammoniacal) a été rajoutée à chaque pot, 2 semaines avant le début du stress.

Les génotypes sont les 2 génotypes parentaux 'Starkrimson' (parent femelle) et 'Granny Smith' (parent mâle) et 15 génotypes issus de leur descendance (comptant au total 125 individus). Ceux-ci ont été choisis puisqu'ils possédaient des caractères de fonctionnement foliaire (conductance stomatique, photosynthèse, etc...) les plus hétérogènes possibles dans des études préalables. Dans notre expérience, il y avait 10 répétitions de chaque génotype qui étaient séparés également en 2 pour chacune des modalités : stress hydrique (WS, Water Stressed) et témoin (WW, Well Watered). Au final, on avait donc : 17 génotypes x 2 modalités x 5 répétitions = 170 plants.


La répartition dans la serre a été faite de manière aléatoire (fonction Alea de Excel). Les plants ont été disposés sur deux rangées comportant chacune deux lignes. Nous avons ainsi pu disposer un plant en statut hydrique WW en face d'un plant en statut hydrique WS.

L'état sanitaire des plants était satisfaisant, on ne peut déplorer que l'apparition ponctuelle de pucerons et d'acariens qui ont été éradiqués par l'utilisation de produits de traitements chimiques. La masse du substrat représentait plus de 90% du pot de l'ensemble pot-substrat-à capacité de rétention-plante et la plante représentait moins de 5% de la masse totale ; le reste de la masse se distribuait entre le pot en plastique et le tuteur.

Méthodes

Maîtrise des facteurs environnementaux

Mesure du stress par un suivi du poids des pots

En premier lieu pour obtenir un état de stress identique, il a été nécessaire de choisir une méthode qui se base sur l'état hydrique du substrat puisque la transpiration sera inhérente à chaque plante (surface foliaire différente, adaptation différentielle au stress hydrique et variabilité transpiratoire du fait de la densité stomatique) (Denden *et al.*, 2008). La méthode, pour mettre toutes les plantes sur un pied d'égalité hydrique, est la mesure de la FTSW (Fraction of Transpirable Soil Water), qui a déjà été utilisée en verger (Pellegrino *et al.*, 2004). Cette technique permet de connaître l'état hydrique du sol, donc l'eau accessible par les racines. 

Le stress hydrique a été appliqué de telle sorte que l'on conservait les plantes dans un intervalle de stress compris entre 15% et 25% de la FTSW alors que les témoins étaient irrigués 4 fois par jour par des goutteurs leur délivrant 1litre d'eau par jour (ce qui est bien au-dessus de leurs besoins journaliers puisque le substrat entre dans un état de saturation lors de chaque arrosage). Le contrôle du stress se faisait grâce à la pesée des pots. Ces seuils de FTSW ont été choisis sur la base de travaux précédemment réalisés par l'équipe d'accueil. Pour cela, on a pesé tous les 2 jours en moyenne les pots des plants stressés. Ceci nous permettait de calculer leur valeur de FTSW à partir du différentiel entre le poids actuel et le poids du pot à la capacité au champ (lorsque le pot a ressuyé après arrosage à saturation). Lorsque le poids du pot se trouvait en dessous de la limite de 25%, on irriguait manuellement le pot pour qu'il atteigne cette limite.

Ensuite, on peut connaître les besoins en eau des plants puisque l'on avait fait l'hypothèse que l'eau perdue avait disparu majoritairement par évaporation (système recouvrant le substrat avec du plastique, ce qui limitait au maximum l'évaporation). Ce qui nous a permis de calculer la

transpiration journalière individuelle des plants, en divisant la perte de masse par la surface foliaire.

Le stress hydrique a été appliqué sur 1 mois (06/06/11-04/07/11). Les mesures (cf. ci-dessous) ont été réalisées sur toute cette période ainsi que durant la semaine suivant la fin du stress où les plants étaient de nouveau arrosés à la capacité au champ.

Mesures microclimatiques

Les données météorologiques de la serre ont été enregistrées grâce à une station CR 10X (Campbell Scientific Inc. US) qui a pris des mesures moyennes toutes les 10 minutes : de la température, de l'humidité de l'air et du PAR (Photosynthetically Active Radiation) (Campbell Scientific Inc. US).

Mesures des variables dépendantes aux facteurs environnementaux

Mesures morphologiques

Les mesures morphologiques ont été faites sur tous les individus, sur les extrémités en croissance à partir du début du stress (06-06-11). Ainsi par un marqueur sur le tronc, il était possible de compter le nombre de métamères et la longueur de l'axe mis en place depuis le début de la manipulation. Ces mesures ont été réalisées 3 fois par semaine pour pouvoir suivre l'évolution de la croissance au cours d'un stress grandissant, puis pendant un stress intense et constant.

De plus, il a été réalisé un comptage de toutes les feuilles des plants pour que l'on puisse calculer en temps réel la surface foliaire. Pour cela, nous avons étudié sur 3 géotypes (96, 41 et 'Starkrimson') choisis visuellement pour leurs profils hétérogènes, de statut hydrique WW (15 individus), la répartition de la surface foliaire le long de l'axe en croissance. Nous avons fait l'hypothèse que les profils de répartition de la surface foliaire le long de l'axe n'étaient pas modifiés par le statut hydrique.

On a ainsi pu réaliser un modèle de répartition de cette surface en fonction de la position de la feuille et de la surface de la feuille la plus grande. Il a été effectué un relevé de la surface des deux feuilles les plus grandes sur chaque individu à l'aide d'un planimètre portable (AM300 Portable Leaf Area Meter ; ADC Bioscientific Ltd. GB). Ainsi nous pouvions calculer la surface foliaire instantanée de chaque arbre qui était réactualisée à chaque nouvelle feuille formée.

Mesures de la conductance stomatique

La conductance stomatique a été mesurée à l'aide d'un poromètre (Porometer Delta-T AP4) sur tous les individus. L'utilisation s'est faite suivant le manuel (Webb, 1990). Les mesures ont été réalisées sur une et même feuille par individu tout au long de l'expérience. Cette feuille était mature en début d'expérimentation et se trouvait pour chaque individu, au niveau du 16^{ème} métamère en comptant à partir de l'apex au départ du stress. On a fait l'hypothèse que la conductance de cette feuille n'était pas modifiée au cours du temps. Cette hypothèse a été vérifiée *a posteriori* puisqu'aucune feuille ne marquait de signes visuels de sénescence un mois après la fin de l'expérimentation et, par ailleurs, la conductance stomatique est restée en moyenne identique tout au long de cette période.

Dans le but d'obtenir des résultats les plus différents possibles, nous avons décidé de prendre les mesures lorsque les valeurs de conductance étaient les plus élevées. Afin de repérer cette période, nous avons réalisé au préalable un suivi de la conductance au cours de la journée : similaire à la bibliographie (Acherara *et al.* 1991). On a choisi de réaliser les mesures entre 10h et 11h (entre 8h et 9h solaire).

Il n'y a pas de biais des mesures du fait du moment de la journée puisque le temps de mesure fut raisonnable (1 heure pour mesurer les 170 feuilles) et que l'ordre de passage dans les rangées était modifié à chaque répétition.

Les mesures ont été réalisées de 2 à 3 fois par semaine suivant les disponibilités de l'appareil. Pour corroborer les valeurs trouvées, nous avons utilisé un autre appareil de manière ponctuelle, le LI-COR 6400 (Licor, Inc., Lincoln, NE)

Relation entre biomasse sèche du limbe et hydraulique xylémienne

La conductance (K) était mesurée grâce à un appareil développé par le PIAF de Clermont-Ferrand : le HPFM (High Pressure Flow Meter). Cet appareil fait passer de l'eau sous haute pression (4-5 bars) dans la tige (Tyrre *et al.*, 2005). En mesurant la quantité d'eau qui sort de zones excisées en un temps donné, on peut en déduire le débit entrant dans l'organe excisé. On calcule ensuite la résistance ou la conductance en divisant le débit par la pression d'entrée. Nous avons réalisé des mesures sur les individus qui n'ont pas subi un dessèchement de l'apex (165 individus). Pour chaque tige qui avait poussée depuis le début de l'expérience, nous avons mesuré la conductance de 4 feuilles, suivant les indications de Melvin *et al.* (1995). Parallèlement la masse sèche (après 48H à 70°C) et la surface

de chaque feuille ont été mesurées à l'aide d'une balance de précision et d'un planimètre, respectivement. Nous avons ensuite établi une relation d'allométrie entre K, la masse et la surface foliaire (Warton *et al.*, 2006 ; logiciel Smatr ; <http://www.bio.mq.edu.au/ecology/SMATR/>).

Mesures des potentiels hydrique et osmotique

Le potentiel de tige est considéré comme le meilleur indicateur de stress hydrique chez la vigne (Choné *et al.*, 2001). Etant limité par le nombre de feuilles de nos jeunes arbres, toutes les mesures ont été réalisées par une méthode non destructive ; quand le potentiel hydrique foliaire se trouvait maximal. Cela a permis un suivi de la plante (Mills *et al.*, 1997) pour un même état hydrique du sol.

Le potentiel hydrique a été mesuré à l'aide d'un psychromètre Wescor's Dew Point Microvoltmeter (model HR-33T ; Wescor, Inc. USA) que nous avons utilisé comme décrit dans Boyer (1969). Grâce à cet appareil, nous pouvons déterminer le potentiel hydrique et le potentiel osmotique et enfin en déduire le potentiel de turgescence : ψ_H (potentiel hydrique, négatif) = ψ_O (potentiel osmotique, négatif) + ψ_T (potentiel de turgescence, positif). Pour cela une première mesure a été réalisée après prélèvement pour obtenir la valeur du potentiel hydrique. Une seconde mesure a été réalisée sur le même échantillon après congélation à -25°C pendant au minimum 24H, éliminant le potentiel de turgescence (par destruction des membranes cellulaires) et donc permet d'obtenir, par différence, la valeur de potentiel osmotique.

Le potentiel hydrique a été mesuré sur des disques de feuilles de 6mm de diamètre (28mm² de surface) pris en pourtour du limbe entre les nervures secondaires. Il a été mesuré 3 fois par semaine en entrée et sortie de stress mais qu'une fois pour les semaines intermédiaires. Cette mesure, étant analysée avec la mesure de la conductance stomatique, portait sur des échantillons de feuilles comparables qui se trouvaient immédiatement au-dessus de la feuille servant de support à la conductance. Les prélèvements étaient effectués juste avant les mesures de pométrie et stockés en tube

Eppendorf de 2ml à 5°C pendant 1 à 5 heures, le temps qu'ils soient traités.

Pour avoir une comparaison de nos valeurs, nous avons réalisé des mesures avec une chambre de Schölander (Schölander *et al.*, 1965). La chambre de Schölander ne permet de mesurer que le potentiel hydrique au niveau de la feuille entière.

Analyse statistique

L'ensemble des analyses a été réalisé sous logiciels gratuits R (Rcmdr) et Smatr. Le seuil décidant d'une différence significative a été fixé à 0.01 pour l'ensemble des tests effectués. Des Anova de type III ont été choisis puisque les effectifs n'étaient pas équilibrés. Pour certaines variables où cela a été possible, nous avons pensé à réaliser des Anova à données répétées, ce qui correspond à une Anova à plusieurs facteurs, qui prend en compte le facteur 'Temps'. Pour réaliser les Anova à données répétées, on a choisi de prendre trois phases dans notre expérience : entrée en stress, milieu de stress et sortie de stress ; les scripts qui ont été utilisés proviennent du site : http://www.ats.ucla.edu/stat/r/seminars/repeated_measures/repeated_measures.htm.

Il est apparu essentiel de prendre en compte le facteur 'Vigueur' (potentiel de croissance de la plante), en faisant l'hypothèse que plus une plante est grande, plus elle a des facilités à croître. On a séparé les 10 individus de chaque génotype en les classant en deux catégories : les « vigoureux » (ceux dont la taille est supérieure à la médiane) et les « peu vigoureux ». Ce facteur sera pris en compte pour les variables de croissance.

Pour l'analyse par Smatr (Warton *et al.*, 2006), la régression a été de type SMA (standardised major axis). Nous avons réalisé une suite de trois tests : le 1^{er} pour savoir si les pentes entre les modalités étudiées (statut hydrique, génotype, vigueur) sont semblables, donc s'il est légitime de ne tracer qu'une seule pente. Si c'est le cas, nous testons si les ordonnées à l'origine (« intercepts » en anglais) sont similaires et si il y a ou non un glissement des valeurs le long de la droite commune d'ajustement.

RESULTATS

Effet du stress hydrique sur la transpiration des plants

La transpiration des plants stressés (la seule mesurée, **Figure 1**) diminue avec la quantité d'eau dans le sol jusqu'à un plateau. Hormis le génotype 'Starkrimson' (ST) qui se démarque des autres par sa valeur bien supérieure au moins au début, il n'y a pas de différence significative sur cette variable. Il est possible que le génotype ST soit différent des autres à cause de sa taille deux fois plus faible que les autres (donc une surface foliaire au moins deux fois inférieure) même si ce facteur est pris en compte dans les calculs. Lors du 5^{ème} jour d'expérience, il y a eut une forte baisse de la transpiration due à une fin de semaine caractérisée par une température et une luminosité relativement plus faibles.

Lorsque l'on étudie seul le facteur 'Génotype' dans une Anova (**Figure 1**), il apparaît légèrement intervenir aux dates du 14/06 et du 20/06 ; il est probable que le 'Génotype' soit concurrencé par un autre facteur ou qu'il n'ait pas d'effet sur la transpiration dans un état de sécheresse intense. Par contre, le facteur 'Surface foliaire' paraît beaucoup plus significatif puisqu'il agit pendant toutes les dates de stress. Le maximum de transpiration observé dans les premiers jours est de 3,7mm d'eau évaporée par m² de surface de feuilles, ce qui est loin du maximum estimé en plein champs (7mm/m², Sirjacobs, 1988). L'absence de vent, une température plus faible qu'en extérieur et une hygrométrie globalement plus élevée peuvent expliquer que la transpiration ne soit pas si élevée.

Anova sur la transpiration foliaire :

Date	7/6	8/6	9/6	10/6	14/6	15/6	16/6	17/6	20/6	22/6	24/6	27/6	29/6	1/7	4/7
Surface foliaire	**			***	***	***	**	**	***	***	**	**	***	***	**
Génotype					**				***						

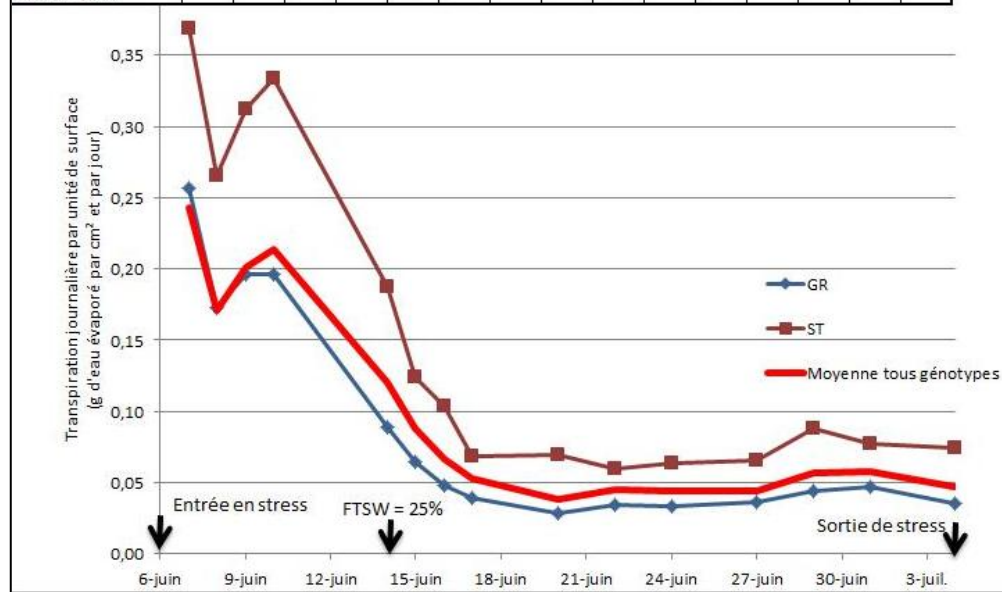


Figure 1 : Transpiration journalière des plants WS (choix de 3 génotypes contrastés 'Granny Smith', 'Starkrimson' et la moyenne) et une Anova à deux facteurs sur ces mêmes valeurs

Effet du stress hydrique sur la croissance des plantes

Le statut hydrique WS induit une augmentation significative des arrêts de croissance, alors que ceux-ci restent négligeables ou nuls pour les plants en statut WW (**Figure 2**). En étudiant ceci par une Anova à trois facteurs, le 'Statut hydrique' a un effet significatif dès la seconde semaine. En ce qui concerne l'effet 'Génotype', il apparaît régulièrement dans l'Anova, nous avons distingué deux groupes différents qui réagissent différemment au stress hydrique (ce qui explique l'interaction entre les deux facteurs) : un groupe dit de « lents » (génotypes 117, 23, 26, 38, 41, 96) qui arrêtaient leur croissance avec une semaine de retard par rapport au groupe dit de « rapides ».

Le groupe des « rapides » reprend sa croissance après le stress avec deux semaines d'avance sur les « lents ».

Le 'Statut hydrique' dissocie la croissance des plants en deux blocs : les WW et les WS. Le facteur 'Statut hydrique' influence fortement la croissance dès la seconde semaine d'expérience. Grâce au test de Tukey (ou HSD), il est possible

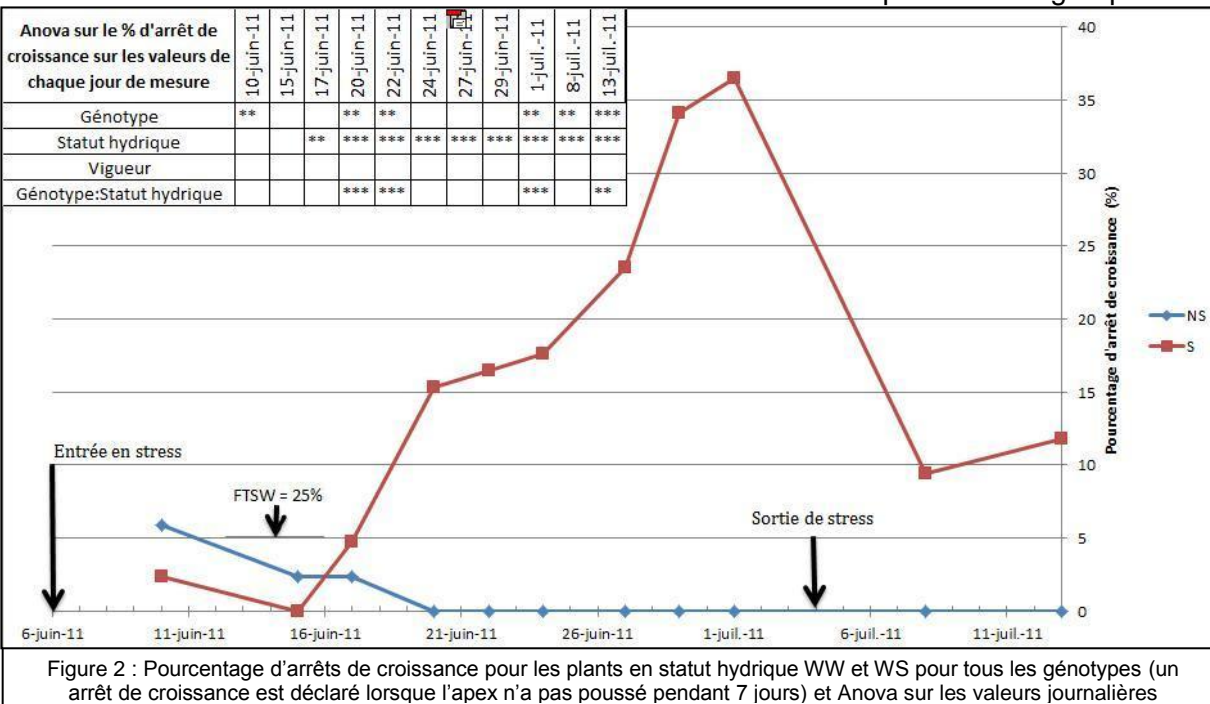


Figure 2 : Pourcentage d'arrêts de croissance pour les plants en statut hydrique WW et WS pour tous les génotypes (un arrêt de croissance est déclaré lorsque l'apex n'a pas poussé pendant 7 jours) et Anova sur les valeurs journalières

de montrer que l'effet 'Génotype' est dû à la grande variabilité entre les génotypes mais qui ne conservent pas un classement semblable d'une date à l'autre. En considérant les résultats de l'Anova (Figure 3), il est marqué que le facteur 'Vigueur' n'influence pas ou peu la croissance en nœuds.

Anova sur les données de chaque date	8-juin-11	10-juin-11	15-juin-11	17-juin-11	20-juin-11	22-juin-11	24-juin-11	27-juin-11	29-juin-11	1-juil.-11	8-juil.-11	13-juil.-11
Génotype			***									
Statut			***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
Vigueur												**

Figure 3 : Anova sur le nombre de métamères formés depuis le début de l'expérience pour tous les génotypes

Effet du stress hydrique sur la conductance stomatique

La conductance stomatique a été la variable ayant subi en premier les effets du stress hydrique (Figure 4). Dès la fin de la première semaine, les plantes stressées (WS) se démarquent des non stressées (WW). Le PAR qui a une grande influence sur la conductance stomatique est stable durant l'expérience (courbe jaune). Pendant la seconde semaine, les plantes stressées ont atteint un plateau ce qui correspondait à une valeur pour des stomates fermés. Les Anovas montrent que la variabilité génétique était beaucoup plus grande pour les WW que pour les WS (données non montrées). Par ailleurs, on a observé un effet 'Génotype' au début et à la fin de la manipulation. Par contre, l'effet 'Statut hydrique' est largement dominant pendant la période de stress, puis commence à diminuer dès la ré-

irrigation (4/7/11) des plants stressés et enfin un mois après il n'y plus aucun effet du 'Statut hydrique' (tableau de la Figure 4). Par l'analyse avec le test HSD, on isole deux génotypes qui se distinguent de l'ensemble des autres en début de manipulation (les cinq premiers jours) : génotype 125 qui a une conductance significativement plus faible que les autres et 'Granny Smith' qui a une conductance réellement supérieure aux autres. Par contre ensuite pendant le stress et après le stress, il n'y a aucun génotype qui se détache des autres : ils appartiennent tous au même groupe statistique.

Grâce à l'aide de chercheurs italiens et à leur LI-COR 6400, il a été possible de réaliser une mesure ponctuelle de photosynthèse. En ce qui concerne la photosynthèse nette, on a réalisé une Anova de type III qui a révélé un unique effet 'Statut hydrique' très marqué. Il est possible d'observer graphiquement qu'il n'y a pas d'effet 'Génotype' puisque l'écart à la moyenne pour les WS ou pour les WW est très faible (respectivement 0,0052 et 0,0333mmol de CO₂/m²/s).

Effet du stress hydrique sur le potentiel hydrique

La variabilité des potentiels hydrique, osmotique et de turgescence au long de la période de mesure, nous a conduit à exprimer les résultats non pas en valeurs brutes, mais en différence entre les valeurs obtenues sur les plants en WS et les valeurs obtenues sur les plants en WW. Le potentiel hydrique et le potentiel osmotique décroissent pendant la phase de stress hydrique (Figure 5) : la différence entre les WS et les WW est donc très négative (jusqu'à 1 MPa) Les variations du potentiel hydrique sont moins nettes.

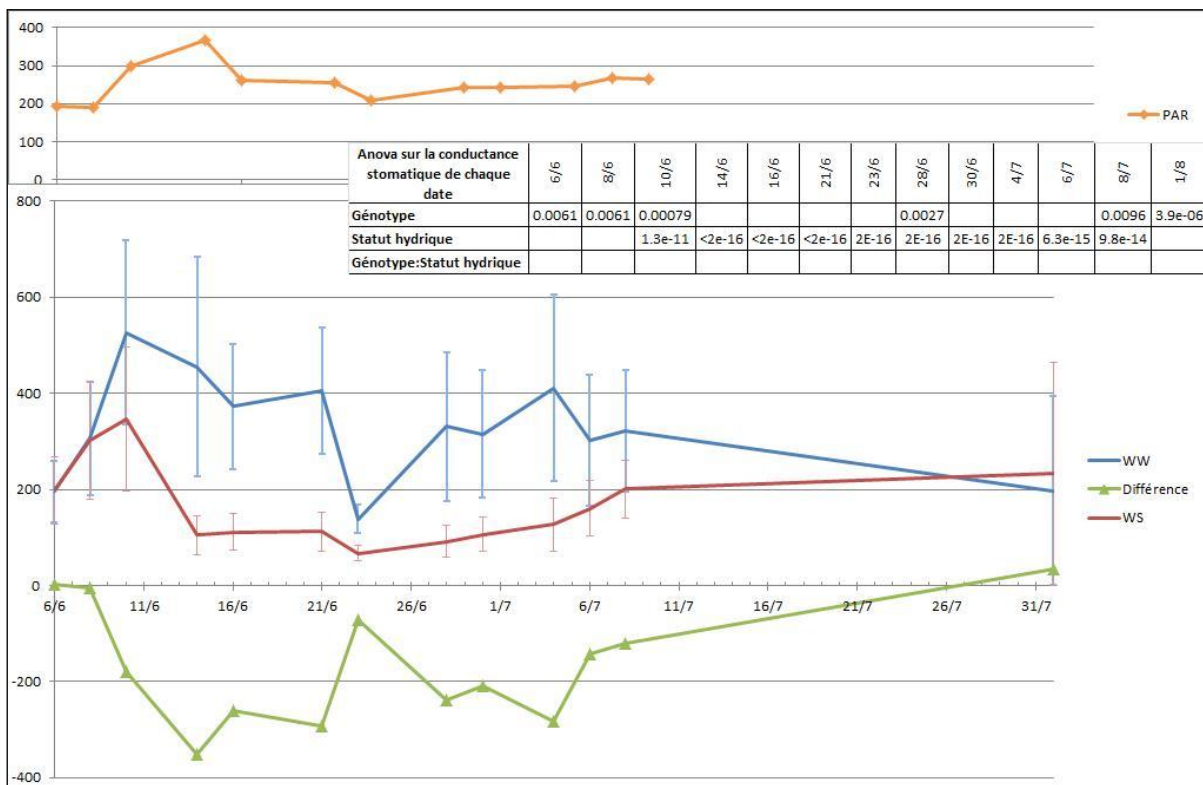


Figure 4 : Evolution de de la conductance stomatique des plants WW et des WS (les barres sont les écarts type), de la différence WS-WW de tous génotypes confondus et du PAR. Les résultats des Anovas à deux facteurs (génotype et statut hydrique et leurs interactions)

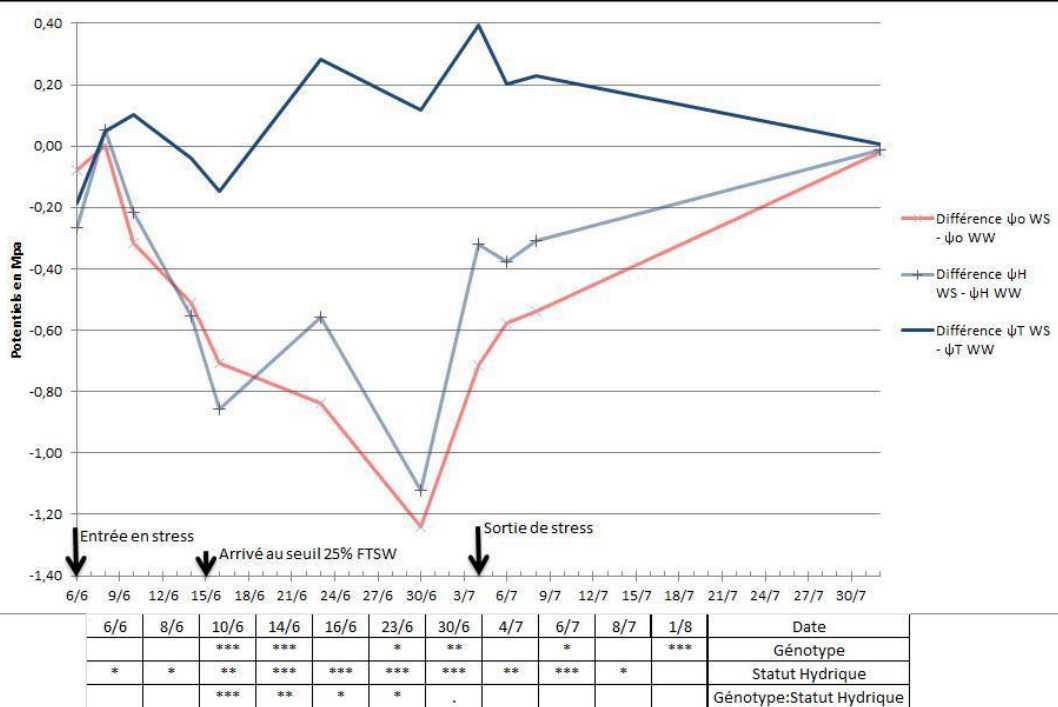


Figure 5 : Différence entre WS et WW pour le potentiel hydrique (Ψ_H), potentiel osmotique (Ψ_O) et potentiel de turgescence (Ψ_T), en moyenne pour les quatre génotypes étudiés (7, 96, ST, GR) ; Anova réalisée sur les données brutes.

Si nous analysons les résultats avec des Anova, les effets 'Statut hydrique' et 'Génotype' sont présents et varient au cours du temps pour les potentiels hydrique et osmotique. L'effet 'Statut hydrique' commence dès la première semaine comme la conductance stomatique et est totalement annulé durant le mois suivant la fin du stress. L'analyse statistique sur le potentiel de turgescence a montré qu'il n'y avait aucun effet marqué sur la durée, que les effets sont diffus et donc que les données étaient plus ou moins semblables.

Le facteur 'Génotype' apparaît de manière aléatoire d'une date à l'autre, mais il a été possible de réaliser un test HSD pour séparer les 4 génotypes. La séparation des génotypes par date est possible, mais trouver la cohérence des groupes formés dans l'ensemble l'est beaucoup moins.

Effet du stress hydrique sur l'allométrie entre conductance xylémienne pétiolaire et le poids sec de la feuille

On a étudié les allométries avec le programme Smatr qui compare les pentes, les intercepts et la dispersion des valeurs suivant le facteur 'Statut hydrique'. En considérant les relations pour chaque génotype individuellement (Tableau 1), on note que le statut hydrique n'affecte pas significativement la relation entre longueur et largeur du limbe, montrant ainsi qu'il n'affecte pas sa forme mais uniquement sa taille.

La conductance xylémienne pétiolaire est par ailleurs corrélée positivement au poids sec du limbe et à sa surface.

La pente de cette relation (pente semblable) ainsi que l'intercept (intercept semblable) sont modifiées par le statut hydrique pour certains génotypes, ce qui influence les allométries globales.

Par contre, le statut hydrique n'affecte pas le glissement le long de la courbe. Ainsi, les relations d'allométrie entre la conductance xylémienne du pétiole et les variables foliaires ne sont pas conservées en cas

de stress hydrique.

Discussion

La réaction de la plante au stress hydrique racinaire fut en premier lieu visible par la chute de la conductance stomatique. Cette réaction très rapide résulterait d'après d'autres études de l'action d'une hormone ABA (l'acide abscissique, Lovisolo *et al.*, 2010). On a cherché à isoler certains génotypes ayant une réaction particulière dans ces conditions de stress mais il semble que le 'statut hydrique' impose une réponse semblable pour tous les génotypes.

La seconde réaction fut la décroissance du potentiel hydrique. Celui-ci décroît (prend des valeurs plus négatives) quand le plant est soumis à un stress hydrique racinaire ; tout comme cela avait été montré par Mills *et al.* (1997). On peut émettre l'hypothèse que le moteur de cette décroissance est le potentiel osmotique grâce à la production d'osmorégulateurs, mis en évidence déjà à de nombreuses reprises (Warren *et al.*, 2011 ; Wang and Gary, 1992). La mesure du potentiel hydrique de feuille n'est pas la bonne approche pour notre étude puisque les variations du potentiel hydrique foliaire ne sont pas représentatives de l'état hydrique, comme Naor *et al.* (1995) l'a démontré.

L'analyse des données physiologiques dans le but de dissocier des génotypes n'a pas été concluante puisque les plants se sont retrouvés dans un état de stress tellement avancé qu'ils n'ont pu exprimer aucune différence génétique. Il serait peut-être plus efficace de travailler à des intensités de stress plus faibles si l'on veut étudier des différences intra-variétés.

Tableau 1 : Allométries entre i) la longueur et la largeur de chaque feuille considérée individuellement, ii) la conductance xylémienne pétiolaire, et le poids sec de la feuille et la surface foliaire correspondante. L'analyse porte en premier lieu sur les pentes des droites, puis, en cas de pentes semblables, évalue la probabilité d'un intercept semblable et de glissement le long de la pente commune.

Relation d'allométrie	Génotypes pris	pente semblable	p-value	pente WS	pente WW	intercept semblable	glissement le long de la pente
Longueur/largeur feuilles	globalement	oui	0,616	1,31	1,35	non	non
	individuellement	16 "oui" sur 17				8 "oui" sur 16	9 "oui" sur 16
Surface foliaire/K	globalement	non	0,001	0,87	1,35	non	oui
	individuellement	13 "oui" sur 17				6 "oui" sur 13	13 "oui" sur 13
Poids sec/K	globalement	non	0,001	0,77	1,11	non	oui
	individuellement	13 "oui" sur 17				3 "oui" sur 13	13 "oui" sur 13

De plus, le stress hydrique a affecté la croissance d'une manière très intense, réduisant de trois quart ou même annulant toutes initiations foliaires ou extensions de la tige ; résultats semblables à Lecœur (2007). Au niveau des arrêts de croissance, nous avons pu diviser en deux groupes les génotypes suivant leur rapidité de réaction à la raréfaction de l'eau : ceux qui réagissent vite en arrêtant leur croissance en période de stress et en repartant en croissance rapidement quand les conditions sont redevenues bonnes et ceux qui sont plus lents à réagir. Les génotypes du groupe dit « rapide » sont bien entendus plus intéressants à étudier du point de vue rentabilité de l'eau. Il serait intéressant de pouvoir mesurer la quantité d'eau nécessaire à la croissance d'un métamère, pour que nous puissions étudier si ces génotypes utilisent l'eau avec la même efficacité : comme nous l'aurions fait à une échelle plus faible de l'assimilation du carbone avec le WUE (Water Use Efficiency ; Fichot *et al.*, 2010).

Comme l'explique Breda *et al.* (2006), la réaction morphologique fait partie d'une seconde réponse dite plastique et lente (elle a pris trois semaines dans notre cas) qui consiste à faire diminuer la transpiration foliaire par limitation de la surface foliaire consistant en l'arrêt de croissance et la perte de feuilles. La perte de feuilles a pu être constatée dans notre cas mais elle fait l'objet d'une seconde étude sur les mêmes génotypes dans le cadre d'une expérience de résilience à laquelle j'ai participé activement jusqu'à la fin de mon stage sans pouvoir en analyser les résultats. En ce qui concerne la réponse dite dynamique et réversible, c'est la fermeture des stomates en un premier lieu, qui est mesurée directement par la conductance stomatique et indirectement par la transpiration.

La transpiration n'a pas permis non plus de dissocier les génotypes. Le facteur 'Surface foliaire' est l'unique facteur qui explique les différences de transpiration entre les individus. La surface foliaire LA (Leaf Area) est corrélée positivement avec la transpiration; de même que Monclus *et al.* (2005), l'a démontré. Une remarque que nous pouvons faire vis-à-vis du dispositif, c'est que les feuilles des plantes stressées se trouvaient dans un environnement aérien à vapeur d'eau élevée (VPD faible) du fait de la croissance en serre et de la proximité de plantes WW transpirant une quantité maximale d'eau. Il est connu que la transpiration est contrôlée par le VPD, résultats de Dragoni *et al.* (2004). On sait que l'environnement aérien a une forte influence sur la conductance stomatique d'après Rico *et al.* (1995) et c'est probablement ceci qui a provoqué une ouverture forcée des stomates des plants stressés.

D'après les mesures de photosynthèse effectuées, l'arrêt de transpiration des plants WS a

probablement conduit à une forte diminution de la photosynthèse. De nombreuses études ont été menées sur les facteurs influençant la photosynthèse ; le stress hydrique et ses conséquences sont des éléments souvent évoqués comme inducteur d'arrêt de photosynthèse (Flexas and Medrano, 2002 ; Lawlor and Cornic, 2002).

Finalement les résultats d'allométrie apportent de nouvelles conclusions. Un stress hydrique racinaire ne modifie nullement l'allométrie des feuilles (longueur/largeur) et donc les plants WS conservent la forme de feuilles des WW mais avec une surface bien inférieure. Par contre, l'allométrie de la conductance xylémienne avec les caractéristiques de la feuille (poids sec ou surface foliaire) est modifiée par la restriction hydrique. L'efficacité du flux de sève est améliorée en stress hydrique édaphique. Il est possible qu'il existe une relation entre le stress hydrique racinaire et la modification de la conductance racinaire ; ceci aurait son importance dans la balance équilibrant les biomasses racinaires et aériennes (Shiple and Meziane, 2002).

CONCLUSION

Le but de cette étude était de différencier un panel de 17 génotypes par des critères de physiologie foliaire, de croissance et d'allométrie dans un milieu de serre. Les réactions foliaires des plants stressés ont été très intenses à tel point que le stress hydrique racinaire a nivelé les différences qui pouvaient exister entre les génotypes. La croissance des plants stressés s'est arrêtée mais la sensibilité au stress a permis de dissocier les génotypes en deux groupes suivant leur vitesse de réaction au stress et de sortie de stress. L'allométrie de la conductance xylémienne pétiolaire avec les caractéristiques foliaires est modifiée par le stress hydrique racinaire.

Il serait intéressant de réaliser de nouveau cette expérience mais avec des modalités de stress hydrique moins intenses pour que nous puissions étudier des variations différentielles des génotypes. De plus, on peut se demander si une certaine efficacité d'utilisation de l'eau ne pourrait pas se mesurer par l'intermédiaire des marqueurs éco-physiologiques qui ont été choisis pendant cette étude. Ils permettraient de choisir les génotypes ayant une transpiration minimale et ayant la meilleure réactivité au stress hydrique pour obtenir les individus les plus adaptés aux conditions climatiques difficiles qui approchent.

Références bibliographiques

Acherara, M., Rambal, S. and Lepart, J. 1991. Évolution du potentiel hydrique foliaire et de la conductance stomatique de quatre chênes méditerranéens lors d'une période de dessèchement. *Annals of Forest Science* 48:561-573.

- Boyer, J.S. 1969. Measurement of the water status of plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 20:351-364.
- Bréda, N., Huc, R., Granier, A., Dreyer, E. 2006. Temperate forest trees and stands under severe drought: a review of ecophysiological responses, adaptation processes and long-term consequences. *Annals of Forest Science*, 6:625-644.
- Brouat, C., Gibernau, M., Amsellem, L. and McKey D. 1998. Corner's rules revisited: ontogenetic and interspecific patterns in leaf-stem allometry. *New Phytologist*, 139:459-470.
- Chaves, M.M., 1991. Effects of Water Deficits on Carbon Assimilation. *Journal of Experimental Botany*, 42(1):1-16.
- Choné, X., Leeuwen, C.V., Dubourdiou, D. and Gaudillère, J.P. 2001. Stem Water Potential is a Sensitive Indicator of Grapevine Water Status. *Annals of Botany*, 87(4):477-483.
- Clavel, D., Drame, N.K., Diop, N.D., Zuily-Fodil, Y., 2005. Adaptation à la sécheresse et création variétale : le cas de l'arachide en zone sahélienne : Première partie: revue bibliographique. OCL : Oléagineux, corps gras, lipides, vol. 12, n°3 : 248-260.
- Cochard, H., 2006. Cavitation in trees. *C. R. Physique* 7 (2006).
- Denden, M., Ben Tiba, B., Hlaoua, W., 2008. Caractéristiques morphologiques, anatomiques et physiologiques de tolérance à la sécheresse du pêcher, du poirier et du pommier. *Cahiers Agricultures* vol. 17, n° 5, septembre-octobre, p 445-449.
- Dragoni, D., Lakso, A.N. and Piccioni, R.M., 2004. Transpiration of an Apple Orchard in a Cool Humid Climate: Measurement and Modeling. *Acta Horticulturae*. 664:175-180.
- Flexas, J., Bota, J., Escalona, J.M., Sampol, B. and Medrano, H., 2002. Effects of drought on photosynthesis in grapevines under field conditions: an evaluation of stomatal and mesophyll limitations. *Functional Plant Biology*, 29:461-471.
- Flexas, J. and Medrano, H., 2002. Energy dissipation in C3 plants under drought. *Functional Plant Biology*, 29:1209-1215.
- INRA, octobre 2006. Sécheresse et agriculture : Réduire la vulnérabilité de l'agriculture à un risque accru de manque d'eau. Expertise scientifique collective réalisée à la demande du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, 257p.
- Hsiao, T.C., 1973. Plant responses to water stress. *Annual Review of Plant Physiology*, 24:519-570.
- Lawlor, D.W. and Cornic, G., 2002. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell and Environment*, 25:275-294.
- Lecoeur, J., 2007. Influence d'un déficit hydrique sur le fonctionnement d'un couvert végétal cultivé. Département Sciences du Végétal Montpellier SupAgro, lecoeur@supagro.inra.fr, 12p, cours de Master1.
- Li, S.H., Huguet, J.G., Schoch, P.G. and Orlando P., 1989. Response of peach tree growth and cropping to soil water deficit at various phenological stages of fruit development. *Journal of Horticultural Science*, 64(5):541-552.
- Lovisol, C., Perrone, I., Carra, A., Ferrandino, A., Flexas, J., Medrano, H. and Schubert, A. 2010. Drought-induced changes in development and function of grapevine (*Vitis* spp.) organs and in their hydraulic and non-hydraulic interactions at the whole-plant level: a physiological and molecular update. *Functional Plant Biology*, 37:98-116.
- Massonnet, C., Costes, E., Rambal, S., Dreyer, E. and Regnard J.L. 2007. Stomatal regulation of photosynthesis in apple leaves: evidence for different water-use strategies between two cultivars. *Annals of Botany*, 100:1347-1356.
- Mills, T.M., Behboudian, M.H. and Clothier, B.E., 1997. The diurnal and seasonal water relations, and composition, of 'Braeburn' apple fruit under reduced plant water status. *Plant Science*, 126:145-154.
- Monclus, R., Dreyer, E., Delmotte, F.M., Villar, M., Delay, D., Boudouresque, E., Petit, J.M., Marron, N., Bréchet, C. and Brignolas, F. 2005. Productivity, leaf traits and carbon isotope discrimination in 29 *Populus deltoides* x *P. nigra* clones. *New Phytologist* 167 :53-62.
- Naor, A., Klein, I. and Doron, I., 1995. Stem water potential and apple size. *Society for Horticultural Science*, 120:577:582.
- Pellegrino, A., Lebon, E., Voltz, M. and Wery., J., 2004. Relationships between plant and soil water status in vine (*Vitis vinifera* L.). *Plant and Soil*, 266:129-142.
- Regnard, J.L., Ducrey, M., Porteix, E., Segura, V. and Costes, E. 2008. Phenotyping apple progeny for ecophysiological traits: how and what for?. *Acta Horticulturae*, 772:151-158.
- Rico, M., Gallego, H.A., Moreno, G., Regina, I.S., 1995. Stomatal response of *Quercus pyrenaica* Willd to environmental factors in two sites differing in their annual rainfall (Sierra de Gata, Spain). *Annals of Forest Science*, 53:221-234.
- Segura, V., Regnard, J.L., Durel, C.E. and Costes, E. 2009. Exploring the genetic determinisms of architectural and functional traits in apple progeny. *International Symposium on Horticulture in Europe; Acta Horticulturae*. 2009, 817 : 311-318.
- Shipley, B. and Meziane D. 2002. The balanced-growth hypothesis and the allometry of leaf and root biomass allocation. *Functional Ecology* 16:326-331.
- Schölander, P.F., Hammel, H.J., Bradstreet, A. and Hemmingsen E.A., 1965. Sap pressure in vascular plants. *Science*, 148:339-346.
- Sirjacobs, M., 1988. Pilotage de l'irrigation localisée de cultures protégées en régions méditerranéennes. Thèse de doctorat en sciences agronomiques, Gembloux, Belgique, 197p.
- Tyree, M.T., Patiño, S., Bennink, J. and Alexander, J., 1995. Dynamic measurements of roots hydraulic conductance using a high-pressure flowmeter in the laboratory and field. *Journal of Experimental Botany*, 46(1):83-94.
- Warren, C.R., Aranda, I. and Cano, F.J, 2011. Responses to water stress of gas exchange and metabolites in *Eucalyptus* and *Acacia* spp. *Plant, Cell and Environment*, 10.1111:1364-3040.
- Warton, D.I., Wright, I.J., Falster, D.S. and Westoby, M., 2006. Bivariate line-fitting methods for allometry. *Biological Reviews*, 81:259-291.
- Wang, Z. and Gary, W.S., 1992. The role of carbohydrates in active osmotic adjustment in apple under water stress. *Society for Horticultural Science*, 117:816-823.
- Webb, N., 1990. AP4 porometer user manual. Cambridge, England: Delta-T Devices Ltd.