



Caractérisation de la réponse au déficit hydrique du sol chez trois génotypes de maïs : photosynthèse, transpiration, dynamique de sortie des soies et avortement des grains

Julia Soewarto

► To cite this version:

Julia Soewarto. Caractérisation de la réponse au déficit hydrique du sol chez trois génotypes de maïs : photosynthèse, transpiration, dynamique de sortie des soies et avortement des grains. Biologie végétale. 2012. hal-02811106

HAL Id: hal-02811106

<https://hal.inrae.fr/hal-02811106>

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.



**Master 1 mention Biologie des plantes, des microorganismes, Biotechnologies,
Bioprocédés
Spécialité : Biotechnologies des Plantes Tropicales
Année Universitaire 2011-2012**

Mémoire de stage

UE : GMBP201_215

**Caractérisation de la réponse au déficit hydrique du sol chez trois génotypes
de maïs : photosynthèse, transpiration, dynamique de sortie des soies et
avortement des grains**

SOEWARTO JULIA

Maitre de stage : Olivier TURC

**Laboratoire d'Ecophysiologie des Plantes sous Stress Environnementaux
(UMR LEPSE-INRA-Montpellier Supagro)**

Equipe : Modélisation et analyse de l'interaction génotype x environnement



Remerciements :

Je tiens à remercier :

OLIVIER TURC (CR, UMR LEPSE) le responsable du projet pour m'avoir accepté dans l'équipe, pour l'appui et les remarques précieuses qu'il a su apporter aux travaux qui m'ont été confiés. Enfin pour son implication quant à la pertinence de mon rapport.

VINCENT OURY (Doctorant, UMR LEPSE) tout d'abord pour tout ce qu'il m'a appris durant ces quatre mois de stage, pour l'écoute, la patience et l'attention qu'il a su apporter pour le bon déroulement des expérimentations et à l'analyse de mes résultats.

CELIA PEQUIGNOT (Stagiaire L3, LEPSE) pour son aide précieuse, particulièrement à l'occasion des travaux de prélèvement de plantes en serre.

Pour finir j'adresse mes remerciements à **l'ensemble du personnel du LEPSE** avec qui il fait bon vivre de travailler, pour leur accueil chaleureux, leur soutien, leur aide, leur touche d'humour pendant les semaines de manipulations. Ces quatre mois de stage en leur compagnie aura été pour moi une fabuleuse expérience.

Résumé :

Contexte et Objectifs : Dans un contexte de réchauffement climatique et de raréfaction de l'eau, l'agriculture doit faire face à plusieurs défis dont le maintien de la sécurité alimentaire mondiale. L'agriculture est extrêmement sensible à la sécheresse et aux augmentations de température qui provoquent des diminutions de rendement de cultures utiles telles que le maïs. Le nombre de grains récoltés chez le maïs (*Zea mays L.*) est particulièrement sensible à l'alimentation hydrique de la plante autour de la date de floraison : un déficit hydrique pendant cette période réduit fortement le nombre de grains par un avortement des ovaires et des jeunes grains. L'hypothèse principalement rencontrée dans la littérature est que l'avortement serait déclenché par l'arrêt du flux de carbone vers les ovaires consécutif au déficit hydrique. Cependant certains résultats publiés suggèrent que la croissance et le développement des ovaires sont affectés avant toute réduction de l'apport de carbone vers l'épi. Le but de ce stage s'est donc articulé autour de trois grands axes :

- Caractérisation de la réponse au déficit hydrique chez des lignées contrastées pour le maintien du développement reproducteur en situation de déficit hydrique
- L'analyse de l'impact du déficit hydrique sur la photosynthèse et la transpiration
- La mise au point d'une méthode de phénotypage de processus associés à l'avortement appliquée à plusieurs génotypes

Méthodes : L'analyse a été réalisée sur les génotypes B73, K64R et l'hybride B73 x K64R. Les plantes ont été cultivées dans des conditions contrôlées afin d'observer des modulations du phénotype dues à un déficit hydrique modéré. Des mesures de transpiration, de cinétique de croissance des soies, de photosynthèse ont été effectuées sur toute la durée du stage. Par ailleurs, des relevés phénologiques, des prélèvements d'épis et d'ovaires ont aussi été réalisés à différents stades de développement.

Résultats Clés : Au cours de l'application d'un stress hydrique modéré, la transpiration est impactée avant la photosynthèse. La variabilité des réactions inter et intra génotypique a permis de mettre en évidence certains caractères de tolérance pour le génotype K64R. Un stress hydrique modéré réduit la croissance des ovaires et particulièrement celle des soies qui a été impactée dès le début du déficit hydrique. Ceci s'est traduit par un ralentissement de croissance particulièrement marqué dans la partie apicale de l'épi.

Conclusion : Ces analyses suggèrent que la réduction du flux de saccharose vers les ovaires des plantes en déficit hydrique n'est pas l'évènement déclencheur de l'avortement. La dynamique et le maintien de la croissance des soies apparaissent comme primordiaux pour l'obtention d'un bon rendement sous des conditions de déficit hydrique.

Mots clés : Photosynthèse, déficit hydrique, avortement, ovaires, carbone

Nombre de mots du résumé : 426

Nombre de mot du manuscrit : 7918

Table de matières

Introduction	2
Matériel et méthodes	4
Objectif	4
Choix du matériel végétal	4
Méthode de culture	4
Contrôle de l'état hydrique du sol et ajustement de l'irrigation.....	4
Contrôle de la pollinisation	5
Suivi du développement des plantes.....	5
Suivi de la photosynthèse et de la transpiration	5
Mesures de plantes	6
Suivi de la cinétique de croissance des soies	7
Analyse statistique.....	7
Résultats.....	8
1- Un déficit hydrique du sol similaire pour les trois génotypes	8
2- Mais un impact sur la croissance des épis et la production de grains différent selon les génotypes	8
2.1. Impact du déficit hydrique sur le nombre de grains final	8
2.1. Impact du déficit hydrique sur la biomasse des épis.....	9
2.2 Impact du déficit hydrique sur la biomasse des grains.....	9
2.3 Impact du déficit hydrique sur la biomasse des soies	10
3- La photosynthèse et la transpiration, ainsi que leur réponse au déficit hydrique du sol, différent selon les génotypes	10
3.1 Comparaison de la photosynthèse de trois génotypes en déficit hydrique	10
3.2 Mesure de conductance stomatique et transpiration.....	11
4- Une méthode de phénotypage de la dynamique de sortie des soies rend compte des différences dans le nombre de grains qui se développent	11
4.1 Cinétique de l'ouverture d'orifice des spathes.....	11
4. 2 Corrélation entre l'ouverture d'orifices des spathes et le rendement	12
Discussion	13
1) Mise au point d'une méthode permettant d'appliquer un stress hydrique comparable à différents génotypes	13
2) Le déficit hydrique impacte la photosynthèse de manière différente chez les génotypes	13
3) Le déficit hydrique entraîne une accumulation de sucres dans les ovaires	14
4) La mise en place des soies est déterminante pour le devenir des ovaires et explique le rendement	14

Introduction

Les modèles de prévision du climat pour les prochaines décennies annoncent des changements climatiques qui apporteront de nouvelles contraintes à la production agricole, avec une augmentation des épisodes de sécheresse dans de nombreuses régions. Dans le même temps, la demande en céréales dans le monde augmente, alors que les ressources en eau pour les agriculteurs diminuent. Il devient donc nécessaire de produire plus avec moins d'eau. Pour répondre à ce défi, des expériences sont faites afin d'optimiser la tolérance des plantes face au nouvel environnement à venir.

Le maïs (*Zea mays* L.) est une plante herbacée tropicale annuelle de la famille des *Poaceae*. Il représente une des céréales majoritairement cultivées de nos jours pour ses grains riches en amidon mais aussi pour son utilisation comme plante fourragère. Le maïs est très sensible au déficit hydrique pendant les quelques semaines encadrant la floraison. Cette sensibilité se traduit par une forte augmentation des avortements de grains en cas de déficit hydrique pendant cette période. Elle explique les besoins en eau élevés de la culture du maïs, d'autant plus qu'il s'agit d'une culture d'été, ce qui constitue un frein à son adaptation au nouveau contexte climatique. Il existe cependant des sources de tolérance, notamment dans du matériel génétique d'origine tropicale où la culture de maïs est conduite sans irrigation. Les mécanismes et les régions du génome impliqués dans la stratégie de tolérance au manque d'eau sont encore mal connus. L'analyse et la modélisation du fonctionnement de génotypes présentant des réponses contrastées aux déficits hydriques est un outil pour identifier ces processus et leur contrôle génétique. C'est une première étape vers la construction de cultivars adaptés à différents scénarios climatiques. Le travail présenté ici est inclus dans un projet plus vaste qui associe, dans une démarche intégrative, des méthodes d'analyse phénotypique de la croissance et des méthodes -omiques, afin de modéliser, sur la base de mécanismes physiologiques, un processus à l'échelle de la plante entière : l'avortement des grains sur un épi de maïs, en réponse au déficit hydrique. Une autre sortie de ce projet est la mise au point de méthodes de phénotypage permettant de caractériser la réponse de nombreux génotypes pour le processus d'avortement.

L'avortement d'un ovaire ou d'un jeune grain résulte de l'arrêt irréversible de son développement. Chez le maïs, la majorité des avortements se produisent dans les quelques jours qui suivent la floraison. La réduction du flux de saccharose vers l'ovaire sous déficit hydrique est d'après la bibliographie le facteur limitant qui déclenche son avortement (Boyer et McLaughlin, 2007 ; Boyer et Westgate, 2004). Ces résultats ont été obtenus en situation de déficit hydrique sévère induisant un arrêt de la photosynthèse et du flux de saccharose vers les ovaires et un avortement quasi-total des grains de l'épi (Boyle et al. 1991 ; McLaughlin et Boyer, 2004 ; Schussler et Westgate, 1991). Dans ces conditions, l'apport exogène de saccharose (par perfusion au niveau de la tige) chez une plante en déficit hydrique rétablit la croissance des ovaires. Mais cet apport ne compense pas totalement l'effet du déficit hydrique (Boyer et McLaughlin, 2007 ; Boyle et al. 1991). Un déficit hydrique avant et pendant la fécondation mène à une désynchronisation des floraisons mâles et femelles, qui augmente l'intervalle de temps entre l'anthèse et la sortie des soies (ASI = Anthesis Silking Interval) - soit l'intervalle de temps entre la disponibilité en pollen viable et une grande proportion des soies fécondables (Annexe 1). Des travaux de sélection menés au CIMMYT ont montré une liaison forte entre le maintien du rendement et le maintien du synchronisme entre floraison mâle et femelle en situation de sécheresse. La diminution de l'ASI sous déficit hydrique chez les génotypes améliorés se traduit par une croissance plus rapide des organes reproducteurs femelles (soies, épillets et épi), alors que le développement reproducteur mâle est peu sensible au déficit hydrique (Edmeades et al., 1993). Le délai de floraison mâle-femelle a été interprété comme un indicateur négatif du flux de saccharose alloué à l'épi, en cohérence avec l'hypothèse d'un contrôle des avortements de grains par l'approvisionnement carboné des ovules (Bolanos et Edmeades, 1996).

Cependant, d'autres facteurs sont impliqués dans la régulation de l'avortement en réponse au déficit hydrique. En situation agronomique, les déficits hydriques sont en général moins sévères que ceux testés dans les expériences décrites ci-dessus. Lors de déficits hydriques modérés, la photosynthèse est moins affectée que les processus d'expansion des tissus (Boyer, 1970). On observe alors une augmentation de la concentration en sucres dans les organes qui composent l'épi (Fuad-Hassan, 2006 ; Jones et Setter, 2000).

Ceci suggère que dans ces conditions, la croissance de l'épi est limitée par autre chose que l'approvisionnement carboné. Des résultats obtenus dans mon équipe d'accueil suggèrent que les processus de transfert d'eau dans la plante pourraient être déterminants dans le contrôle de la croissance des organes reproducteurs en situation de déficit hydrique. Il a été montré que l'ASI (intervalle de temps entre la diffusion du pollen et la sortie des soies) dépend directement des processus d'expansion des tissus dans les soies (*Fuad-Hassan et al. 2008*), fonction de la turgescence et de l'état hydrique de la plante. Les cinétiques journalières d'expansion des soies présentent des similitudes avec celles des feuilles, notamment par leur temps de réponse très rapide aux fluctuations de la demande évaporative de l'air et de la disponibilité en eau autour des racines (*Fuad-Hassan, 2006*). On peut supposer que le maintien de l'ASI en déficit hydrique dépend des processus hydrauliques. Une mise en évidence d'une liaison génétique entre le maintien de la croissance des feuilles, de l'ASI et du rendement en déficit hydrique suggère une contribution des processus de transfert d'eau dans la régulation des avortements de grains en situation de déficit hydrique (*Welcker et al. 2007*). La rapidité et le synchronisme de la sortie des soies semblent déterminants dans la tolérance au déficit hydrique à la floraison chez le maïs.

Le travail qui m'a été confié au cours de ce stage a consisté à caractériser la réponse de 3 géotypes de maïs soumis à un même scénario de déficit hydrique au moment de la floraison. Il comportait deux objectifs principaux. Le premier était de caractériser la photosynthèse de ces géotypes, dont la diminution, selon la bibliographie, serait à l'origine des avortements de grains en situation de déficit hydrique du sol. Le second était de mettre au point et de tester la pertinence d'une méthode de phénotypage de la dynamique de sortie des soies, qui apparaît comme un processus central dans la réponse du maïs au déficit hydrique, selon des résultats obtenus dans mon équipe d'accueil (*Fuad-Hassan et al. 2008 ; Oury, 2010*).

Matériel et méthodes

Objectif

L'objectif général de ce travail était de tester l'influence d'un déficit hydrique constant sur la mise en place du nombre de grains pendant toute la durée de la floraison (jusqu'à 5 jours après la sortie des soies) en conditions contrôlées et de comparer des génotypes contrastés en terme de réponse au déficit hydrique. Pour cela un déficit hydrique modéré a été appliqué, car ce dernier limite la photosynthèse et la croissance sans les stopper. Le but du protocole expérimental était d'appliquer le même déficit hydrique aux trois génotypes étudiés en termes d'intensité et de position dans le cycle.

Choix du matériel végétal

Les expérimentations ont été conduites sur trois génotypes de maïs (*Zea mays* L.), parmi lesquels une lignée sensible (B73), une lignée tolérante caractérisée par un ASI¹ court (K64R), et l'hybride entre ces deux lignées (B73 x K64R). La lignée B73 a été largement utilisée dans les programmes de sélection depuis sa disponibilité au public en 1972 (Baker, 1984 ; Darrah and Zuber, 1986) pour son potentiel de rendement. Le séquençage de son génome lui confère le statut de lignée de référence et de génotype témoin (Sadok et al., 2007).

Méthode de culture

Les expérimentations ont été menées en serre (plateforme PHENODYN) jusqu'au stade préfloraison des plantes puis en chambre de culture où le déficit hydrique a été appliqué. Deux régimes d'alimentation hydrique ont donc été conduits en chambre de culture : WW (plante témoin bien irriguée), WD (plante en déficit hydrique).

Les graines de maïs conservées préalablement en chambre froide ont été semées à raison d'une graine par pot dans des pots cylindriques remplis d'un poids identique de substrat horticole (5600 g dans chaque pot). Des semis de plantes pollinisatrices ont été réalisés de manière décalée de façon à avoir du pollen viable tout au long de la manipulation.

En serre la température a été maintenue autour de 20-25°C la journée et à 18°C la nuit grâce à des systèmes de régulation de la température (ventilations, climatisation, fermeture des stores). La chambre de culture offre l'avantage d'avoir des conditions contrôlées et répétables des facteurs environnementaux tels que la température, l'humidité, le VPD et la lumière. La durée du jour a été fixée à 16H et celle de la nuit à 8H. La température a été maintenue à 25°C la journée, et à 20°C durant la nuit. Le degré de saturation de l'air en vapeur d'eau (VPD) a été maintenu à 1,1 kPa le jour et 0,8 kPa durant la nuit.

Une première série de semis a été réalisée avec un effectif de 10 plantes par génotypes à raison de 5 réplicas par traitement afin de caractériser le déficit hydrique sur les différents paramètres de photosynthèse et transpiration et l'impact sur le rendement. La deuxième série de semis s'est effectuée avec un plus grand nombre de réplicas (15 plantes par traitement pour chaque génotype), et a permis de conforter les données obtenues en premier lieu par le premier semis, ainsi que de suivre l'évolution de la croissance des soies.

Contrôle de l'état hydrique du sol et ajustement de l'irrigation

L'état hydrique initial du sol a été contrôlé par un prélèvement de substrat dans chaque pot juste avant le semis, dans des boîtes à humidité. Ces boîtes ont ensuite été passées à l'étuve durant 24H. La différence entre le poids humide et le poids sec des boîtes permet d'estimer l'humidité initiale dans le sol. Ceci permet de calculer la quantité exacte de substrat sec dans chaque pot. La tare de chaque pot étant également

¹ ASI : Anthesis-Silking Interval = Intervalle entre l'anthèse (floraison mâle) et la sortie des soies (floraison femelle).

connue, on connaît alors pour chaque pot la correspondance entre le poids total lu sur la balance et la teneur en eau du sol. Le potentiel hydrique du sol a été estimé à partir d'une relation liant la teneur en eau du sol à son potentiel hydrique, caractéristique du substrat utilisé. Les estimations du potentiel hydrique du sol ont été confortées par des mesures du potentiel hydrique foliaire en fin de nuit à l'aide d'une chambre à pression. Les mesures ont été réalisées en fin de nuit c'est-à-dire au moment où la plante est en équilibre avec le sol.

Pour toutes les expérimentations, l'arrosage a été effectué à partir d'une solution nutritive de type Hoagland enrichie en KNO_3 . Des mesures régulières de pH ont été réalisées afin de s'assurer d'un maintien de pH optimal à 5,5 de l'eau d'arrosage. Le démarrage de l'irrigation est une période sensible à déterminer. Au stade de plantule l'irrigation du maïs ne se justifie pas car elle aurait pour conséquence un enracinement partiel. En serre jusqu'au stade de montaison (élongation du premier entre nœud) les plantules ont été arrosées une fois tous les trois jours par arrosage automatique. A partir du stade montaison, les pots ont été placés sur des balances afin de contrôler de façon individuelle l'état hydrique du sol. Tous les matins (week end et jours fériés compris) les arrosages des plantes ont été réalisés de façon manuelle à l'aide d'une feuille de calcul éditée chaque jour pour tenir compte du développement des plantes (masse fraîche des plantes et relevé phénologique).

Toutes les plantes ont été maintenues à des teneurs en eau permettant un développement optimal jusqu'à la sortie de panicule qui apparaît à un moment précis du développement végétatif de la plante (Tableau 2). A ce stade les plantes ont été transférées en chambre de culture et l'irrigation a été arrêtée sur la moitié de l'effectif jusqu'à atteindre un seuil de stress, tandis que l'autre moitié continuait de bénéficier d'une irrigation normale. L'arrosage a été ajusté chaque jour pour atteindre le poids cible calculé.

Le seuil d'arrosage correspondait à des teneurs en eau du sol de 130% et 65% respectivement pour les plantes bien irriguées et les plantes en déficit hydrique. Ainsi, le potentiel hydrique du sol était maintenu au-dessus de -0,12 MPa pour les plantes bien irriguées, et entre -0,4 et -0,8 MPa pour les plantes subissant un déficit hydrique, ceci pendant toute la durée de la contrainte et pour les trois géotypes étudiés.

Contrôle de la pollinisation

En chambre de culture il y a un nombre réduit de plantes. En outre, il y a des décalages de développement selon le géotype, et un retard de floraison induit par le déficit hydrique. Le risque au moment des pollinisations est un manque de pollen viable pour féconder tous les épis. Une pollinisation manuelle et journalière a donc été entreprise. Le pollen a été récolté directement à partir des panicules de plusieurs pollinisatrices. Ce mode de pollinisation a permis de s'affranchir des problèmes éventuels de manque de fécondation et de n'avoir sur les épis que les effets dus à l'avortement des ovaires.

Suivi du développement des plantes

Un suivi de la phénologie des plantes (nombre de feuilles visibles, montaison, apparition de la panicule) a été effectué quotidiennement afin de prévoir avec justesse le moment des floraisons mâles et femelles. Les feuilles 6 et 10 ont été marquées afin de faciliter le suivi. Le développement des organes reproducteurs (sortie de panicule, diffusion du pollen, sortie des soies) a été étroitement relevé. Ces repères phénologiques ont été très importants pour déterminer de manière individuelle la date du départ du déficit hydrique pour chaque plante.

Suivi de la photosynthèse et de la transpiration

La mesure des échanges gazeux a été effectuée à l'aide d'un système portable de mesure Ciras 2 system (Société PPsystem, UK). Les mesures ont été faites sur la feuille de l'épi attachée à la plante. Les mesures ont été effectuées durant toute la durée de la journée afin d'obtenir une cinétique complète. Elles ont par ailleurs été effectuées tous les jours pendant toute la durée de la manip de façon à avoir plusieurs répétitions (environ 5 répétitions par géotypes) de cinétique pour chaque modalité. Les paramètres d'humidité relative, le flux de CO_2 , le PAR, ont été ajustés au cas par cas afin de maintenir les mêmes

Tableau 1 : Calendrier des dates caractéristiques de chaque traitement expérimental

Génotype	Statut Hydrique	Date de semis	*Date moyenne de début de stress	Date moyenne de sortie des soies	***Date moyenne de fin de stress	Effectif
B73	WW	03/02/2012	06/04/2012	08/04/2012	13/04/2012	15
	WD	03/02/2012	06/04/2012	09/04/2012	14/04/2012	15
K64R	WW	03/02/2012	06/04/2012	12/04/2012	17/04/2012	14
	WD	03/02/2012	06/04/2012	13/04/2012	18/04/2012	14
B73 x K64R	WW	03/02/2012	01/04/2012	03/04/2012	8/04/2012	13
	WD	03/02/2012	31/03/2012	05/04/2012	10/04/2012	14

*Date correspondant à la moyenne des dates de sortie de panicule

** Date correspondant à la moyenne des dates de sortie des soies à laquelle on ajoute 5 jours.

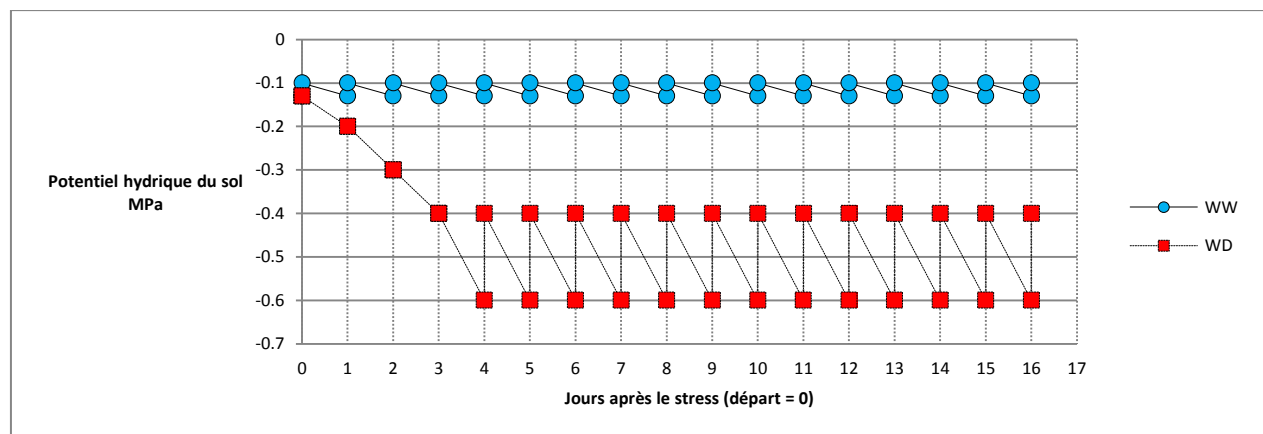


Figure 1 : Schéma théorique de l'évolution du potentiel hydrique du sol en fonction du temps et du statut hydrique

conditions micro climatiques dans l'enceinte de mesure tout au long des 16 heures de mesure, quel que soit l'état hydrique des plantes.

Mesures de plantes

Afin de suivre l'évolution de la morphologie des plantes au cours d'un déficit hydrique, les variables suivantes ont été mesurées sur chaque plante :

- i) Les biomasses de la partie aérienne, essentielles pour calculer le seuil d'arrosage à partir des poids indiqués sur balance
- ii) la surface des feuilles, prise en compte pour comparer les données de transpiration
- iii) Les masses fraîches des épis supérieur et inférieur, de leurs spathes et de leurs soies, afin de caractériser la réponse des génotypes au déficit hydrique en terme de croissance des épis et des grains.

Les mesures d'épis ont été effectuées à 3 stades de développement :

- i) à la sortie des soies (SS) correspondant aux premières fécondations
- ii) 5 jours après la sortie des soies (SS+5) correspondant à la fin des fécondations
- iii) 15 jours après la sortie des soies (SS+15)

Les mesures des épis sont destructives et ne permettent donc pas de suivre l'évolution d'un même épi. Il a donc fallu réaliser une moyenne d'épis différents pour chaque stade de prélèvement. Tous les épis ont été pris en photo pour des mesures ultérieures d'ouverture de spathes, de comptage, et de taille d'ovaires.

Prélèvement d'ovaires et de soies :

La quantité d'avortement d'ovules et des jeunes grains dans chaque traitement a été évaluée via des prélèvements d'épis et des pesées. Tous les échantillonnages effectués ont ensuite été envoyés dans des laboratoires d'analyse afin de quantifier les teneurs en sucres solubles, les activités enzymatiques et de la teneur en protéine (Métabolome : Inra Bordeaux, équipe d'Yves Gibon / Protéome : Inra La Ferme du Moulon, équipe de Michel Zivy). L'objectif étant de trouver des protéines candidates qui deviennent effectives en réponse au stress hydrique. Ces données n'étant pas encore disponibles n'ont donc pas pu être traitées pendant le stage.

Pour suivre l'évolution de la croissance des ovaires pendant la période de déficit hydrique, 2 stades de développement ont été choisis :

- à la sortie des soies (SS) correspondant aux premières fécondations
- 5 jours après la sortie des soies (SS+5) correspondant à la fin des fécondations

Pour l'ensemble des prélèvements, les épis ont été directement prélevés sur la plante en fin de jour puis rapidement pesés et pris en photo avec et sans leurs spathes et leurs soies. Les soies qui ont été séparées des épis ont été conservées dans l'azote liquide (-180°C) pour des analyses ultérieures du protéome. Les épis ont été ensuite découpés en deux tronçons délimitant les zones apicales et basales. Chaque tronçon a été ensuite plongé dans l'azote liquide. Les ovaires sont ensuite détachés individuellement du rachis et stockés dans des tubes Eppendorf® de 2,5ml congelés préalablement tarés. Ce qui permet d'estimer la biomasse des ovaires dans les zones apicales et basales de l'épi.

Le comptage des grains a été réalisé par traitement informatique sur les photographies d'épis via le logiciel libre ImageJ (ImageJ v1.43C).

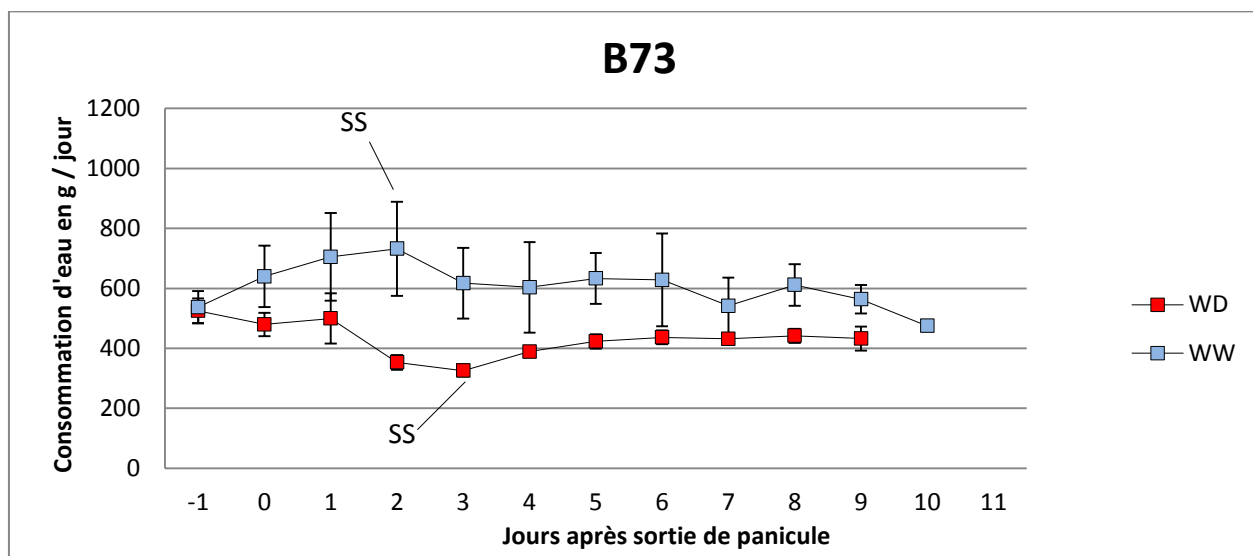


Figure 2 : Evolution de la transpiration moyenne quotidienne des plantes bien irriguées (WW) et en déficit hydrique (WD), pour le génotype B73 sur la période d'analyse en chambre de culture. Les barres verticales représentent les erreurs standards. La sortie de la panicule coïncide avec le déclenchement du déficit hydrique du sol.

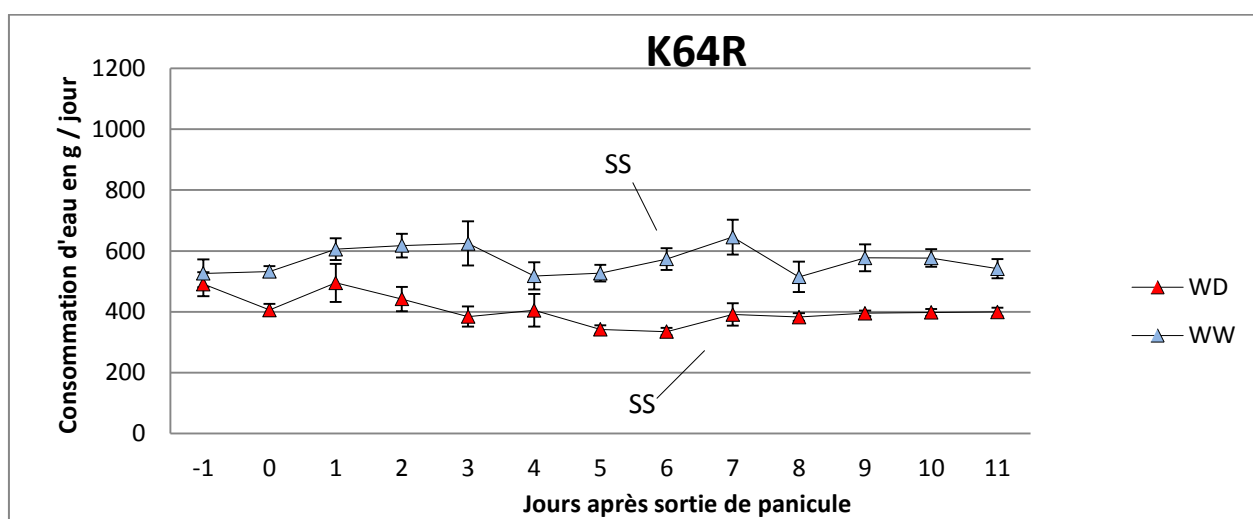


Figure 3 : Evolution de la transpiration moyenne quotidienne des plantes bien irriguées (WW) et en déficit hydrique (WD), pour le génotype K64R sur la période d'analyse en chambre de culture. Les barres verticales représentent les erreurs standards. La sortie de la panicule coïncide avec le déclenchement du déficit hydrique du sol.

Suivi de la cinétique de croissance des soies

L'évolution du diamètre de l'orifice des spathes par lequel sortent les soies a été étroitement suivie par des mesures au pied à coulisse deux fois par jour (en fin de jour et fin de nuit) durant toute la durée de l'expérimentation. Des résultats obtenus dans l'équipe MAGE du LEPSE sur la croissance des soies ont montré que la dynamique des soies est l'un des premiers processus à être impacté par le stress hydrique (Oury, 2010). La dimension d'ouverture des spathes a été utilisée comme un indicateur du nombre de soies qui en sont sorties, et donc du nombre d'ovules fécondables.

Analyse statistique

Pour les graphiques, le calcul de l'intervalle de confiance a été réalisé au seuil de 0,05 à partir d'un test de Student afin de comparer les moyennes.

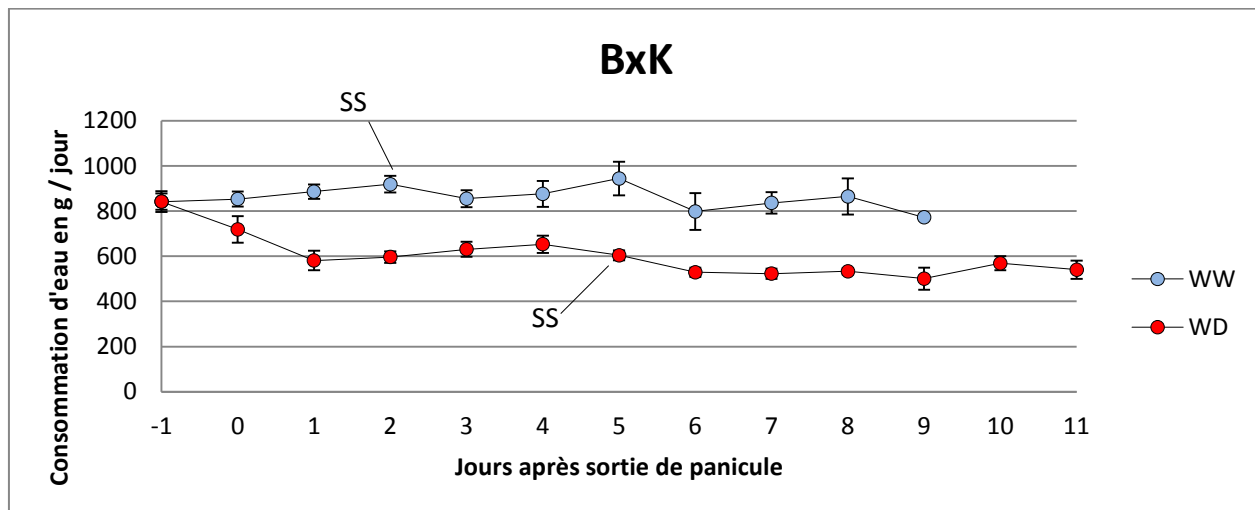


Figure 4 : Evolution de la transpiration moyenne quotidienne des plantes bien irriguées (WW) et en déficit hydrique (WD), pour le génotype B73xK64R sur la période d'analyse en chambre de culture. Les écarts représentent les erreurs standards. La sortie de la panicule équivaut au départ du stress déficit hydrique.

Génotype	Cumul de transpiration journalière g H ₂ O plant ⁻¹ / 16h			Cumul de Pn journalière mmol CO ₂ m ⁻² / 16h		
	B73	K64R	B73xK64R	B73	K64R	B73xK64R
WW	588	505	832	694	576	764
WD	396	381	534	401	454	555
WD/WW	67%	75%	64%	58%	79%	72%

Tableau 2 : Cumul journalier de la transpiration et de la photosynthèse nette (Pn) sur les 16h de photopériode des plantes bien irriguées (WW) et en déficit hydrique (WD), pour les génotypes B73 K64R et B73xK64R. La moyenne est calculée sur l'ensemble de la période de stress stabilisé.

Résultats

1- Un déficit hydrique du sol similaire pour les trois génotypes

La figure 1 présente l'évolution au cours du temps du potentiel hydrique du sol pour les plantes bien irriguées et les plantes en déficit hydrique. Jusqu'au stade de Sortie panicule, toutes les plantes ont été irriguées de la même façon. A cette date, l'irrigation a été stoppée pour les plantes en déficit hydrique jusqu'à ce que le dessèchement du sol causé par la transpiration des plantes atteigne le seuil de teneur en eau correspondant à un déficit hydrique modéré (-0,4 MPa). Par la suite, l'arrosage quotidien a permis de ramener la teneur en eau du sol à ce même seuil en début de journée. Ce seuil était commun pour les 3 génotypes étudiés (65 %).

L'évolution au cours du temps de la consommation quotidienne en eau des plantes est présentée sur les figures 2, 3 et 4. Elle indique que la transpiration des plantes en déficit hydrique diminue rapidement dans les premiers jours d'installation du stress, puis se stabilise lorsque les arrosages quotidiens ramènent chaque matin la teneur en eau du sol à sa valeur seuil. Le calcul de la consommation moyenne journalière en eau sur l'ensemble de la période étudiée (date de la sortie de la panicule à 5 jours après la sortie des soies) pour chaque génotype révèle de la disparité dans les modalités de transpiration.

Parmi les plantes bien irriguées l'hybride B73 x K64R est celui qui consomme le plus d'eau : 832 g d'eau consommée/24H (Tableau 2). Les plantes des génotypes parents B73 ont une consommation plus élevée en eau que les plantes du génotype K64R, respectivement 588 g d'eau consommée/ 24H et 505 g d'eau consommée/24H (Tableau 2). Chez les plantes en déficit hydrique, les plantes issues de l'hybride B73 x K64R ont une consommation en eau moyenne de 534 g d'eau consommée/24H (Tableau2). Les plantes ayant subi un déficit hydrique chez les génotypes B73 et K64R ont respectivement une consommation moyenne de 396 g d'eau consommée/24H et 381 g d'eau consommée/24H (Tableau 2). Dans tous les cas de figure, le déficit hydrique du sol se traduit par une baisse de la transpiration. Parmi tous les génotypes l'hybride B73 x K64R est donc celui qui consomme le plus d'eau tandis que le génotype K64R est plus économe dans son utilisation.

La figure 5 présente l'évolution de la moyenne de la teneur en eau du sol au cours d'un cycle de 24 h une fois que le déficit hydrique a été établi. Elle indique que les trois génotypes ont bien été soumis à la même gamme de teneur en eau du sol : 65% en début de journée à environ 40% en fin de journée.

2- Mais un impact sur la croissance des épis et la production de grains différent selon les génotypes

2.1. Impact du déficit hydrique sur le nombre de grains final

Ces résultats montrent un effet significatif du déficit hydrique chez les plantes visible par une réduction du nombre de grains final observé 15 jours après la sortie des soies (Fig. 6).

Le plus grand nombre de grains en condition bien irriguées a été relevé chez les plantes de l'hybride B73 x K64R avec en moyenne 570 ± 21 grains par épi (Figure 6). Dans les mêmes conditions les épis de plantes du génotype K64R possèdent en moyenne plus de grains que ceux du génotype B73 avec respectivement 336 ± 26 grains par épi et 211 ± 94 grains par épi (Figure 6).

L'hybride B73 x K64R bénéficie de l'effet d'hétérosis qui lui confère une plus grande productivité que chez les génotypes parents. Dans des conditions de sécheresse au contraire l'hybride B73 x K64R se révèle être le plus impacté par le déficit hydrique, avec un nombre moyen de 156 ± 104 grains par épi et une perte de 73% par rapport aux témoins. De même que chez le génotype B73 il a été relevé 129 ± 62 grains par épis, soit une perte de 39% par rapport aux témoins. Le génotype K64R en condition de sécheresse compte en moyenne 267 ± 33 grains par épis, soit une perte de rendement de 20% par rapport aux plantes bien irriguées. La plus grande variabilité entre réplica se retrouve chez les plantes stressées de tous les génotypes du fait de l'hétérogénéité de la réaction des plantes au stress hydrique. Il ressort de ces résultats que le génotype K64R est le plus efficient pour maintenir son nombre de grains final en condition de déficit hydrique par comparaison avec les autres génotypes (K64R : 80% du rendement témoin contre 61% chez B73 et 27% chez B73 x K64R).

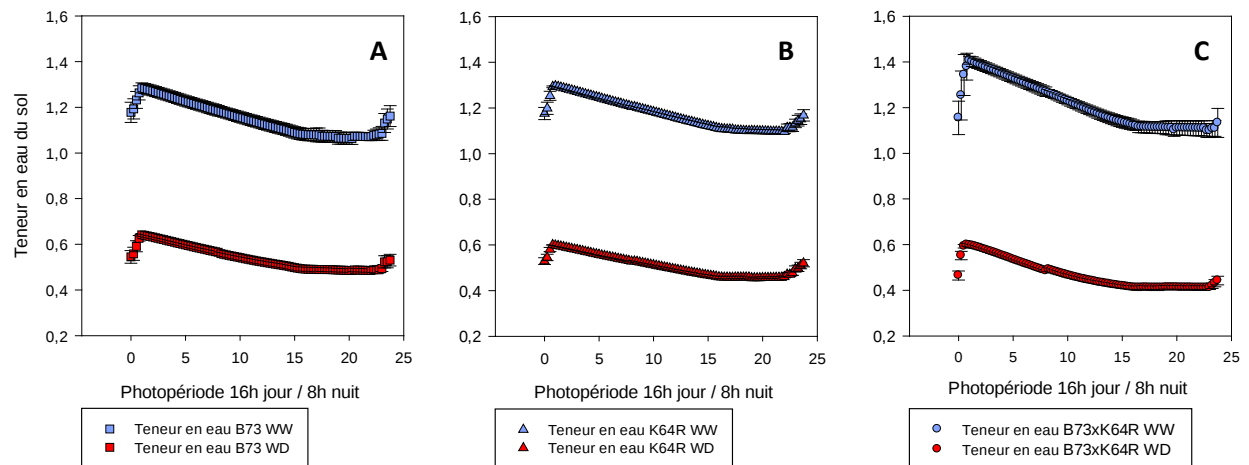


Figure 5 : Cinétique moyenne quotidienne de la teneur en eau du sol pour les plantes bien irriguées (WW) et en déficit hydrique (WD), pour les génotypes B73 (A), K64R (B) et B73xK64R (C). La moyenne est calculée sur l'ensemble de la période de stress stabilisé. Les barres verticales représentent les intervalles de confiance à une *p-value* de 0.05.

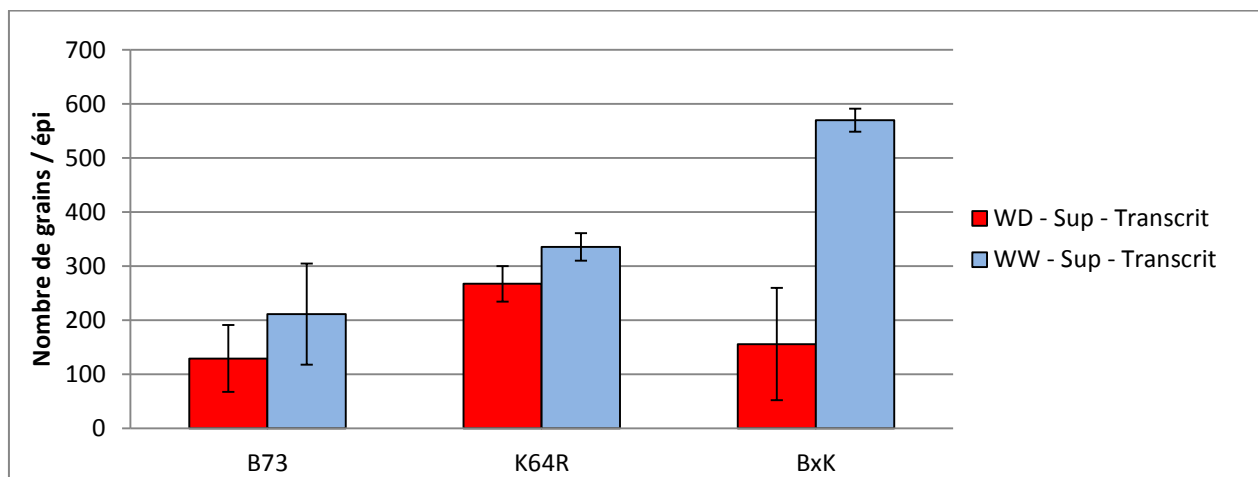


Figure 6 : Nombre de grains en développement en fin d'expérimentation 15 jours après le stade *Sortie des soies* des plantes bien irriguées (WW) et en déficit hydrique (WD), pour les génotypes B73, K64R et B73xK64R. Les barres verticales représentent l'écart-type.

2.2. Impact du déficit hydrique sur la biomasse des épis

La croissance des épis supérieurs a été analysée à trois stades de développement : à la Sortie des soies, 5 jours après la sortie des soies, 15 jours après la sortie des soies (Fig.7, 8 et 9.).

Les épis de plantes du génotype B73 en condition bien irriguée passent d'une masse fraîche de $8,44 \pm 1$ g au stade Sortie de soies à une masse fraîche de $74,20 \pm 18$ g au stade 15 jours après la sortie des soies (Fig.7). L'évolution de la biomasse des épis montre donc une augmentation d'un stade à l'autre pour les plantes bien irriguées. Dans une situation de déficit hydrique, l'augmentation de la masse fraîche au cours du temps est moins marquée. Le génotype B73 montre des épis avec des masses fraîches allant de $6,45 \pm 2$ g au stade Sortie des soies à $57,95 \pm 9$ g au stade 15 jours après la sortie des soies (Fig.7). D'après ces résultats, l'impact du déficit hydrique se manifeste après la Sortie des soies, car à ce stade les masses fraîches d'épis entre plantes bien irriguées et en déficit sont équivalentes. Une différence plus significative a été relevée au stade 5 jours après la sortie des soies (60% de perte de masse fraîche) par rapport aux autres stades de développement (Sortie des soies : 24 % et 15 jours après la sortie des soies = 22% de perte de masse fraîche).

Les génotypes K65R et B73 x K64R suivent les mêmes dynamiques d'évolution de masse fraîche des épis. Au cours des 15 jours suivant la sortie des soies, les plantes du génotype K64R ont des masses fraîches d'épis allant de 7 ± 1 g à 94 ± 10 g les plantes bien irriguées, et de 5 ± 1 g à 77 ± 5 g pour les plantes en déficit hydrique (Fig.8).

Aux mêmes stades les épis de plantes du génotype B73 x K64R passent d'une masse fraîche de 7 ± 1 g à 160 ± 30 g en condition bien irriguée, et de 7 ± 2 g à 75 ± 13 g en condition de déficit hydrique (Fig.9). Par analogie avec le génotype B73, l'impact du déficit hydrique s'installe dès le stade de 5 jours après la sortie des soies chez l'hybride B73 x K64R dont les épis passent d'une masse fraîche de 55 ± 11 g en situation bien irriguées à 25 ± 5 g en déficit hydrique, soit une perte de masse fraîche de 55%.

Le génotype K54R est celui qui présente le plus faible écart de masse fraîche entre les deux traitements : de 31 ± 4 g en situation bien irriguées et 28 ± 4 g en déficit hydrique, soit une perte de masse fraîche de seulement 10%.

Ces résultats indiquent que les effets du stress hydrique sur la biomasse des épis ont lieu dès les phases précoces qui suivent la sortie des soies.

2.3 Impact du déficit hydrique sur la biomasse des grains

Plusieurs échantillonnages d'ovaires ont été effectués sur différentes zones de l'épi (zone basale et apicale) de l'ensemble des génotypes à deux stades de croissance : Sortie des soies et 5 jours après la sortie des soies. Par analogie avec les résultats précédents, l'évolution de la masse fraîche des grains (Fig. 10,11,12) montre une augmentation globale au cours du temps pour les deux traitements. Les grains basaux, qui sont les premiers formés et donc les plus âgés, ont des masses fraîches plus élevées que les apicaux.

Au cours de leur développement les grains de maïs basaux chez le génotype B73 passent d'une masse fraîche de $11,69 \pm 1,78$ g à $71,07 \pm 8,57$ g en condition bien irriguée, ainsi que de $10,88 \pm 2,57$ g à $37,69 \pm 16,01$ g en condition de déficit hydrique (Fig.10). Au niveau de l'apex les grains sont plus jeunes, ils passent d'une masse fraîche de $5,11 \pm 1,79$ g à $40,04 \pm 8,09$ g en condition bien irriguée et de $4,98 \pm 16,01$ g à $11,77 \pm 6,42$ g en condition de déficit hydrique. Au stade Sortie des soies et qu'importe la zone de croissance de l'épi, les masses fraîches sont significativement différentes entre témoins et stressés. L'impact du déficit hydrique est plus marqué au stade 5 jours après la Sortie des soies. Les jeunes ovaires apicaux sont plus impactés que les ovaires basaux (Ovaires apicaux : 71% de perte de masse fraîche par rapport aux témoins ; Ovaires basaux : 47% de perte de masse fraîche par rapport aux témoins).

Les mêmes tendances ont pu être observées chez l'hybride B73 x K64R, au niveau des ovaires basaux la masse fraîche passe de $9,07 \pm 1,15$ g à $67,96 \pm 7,91$ g en situation bien irriguée et de $8,95 \pm 0,69$ g à $34,63 \pm 3,48$ g en déficit hydrique (Fig.12). Au niveau des ovaires apicaux, les grains passent d'une masse de $4,74$

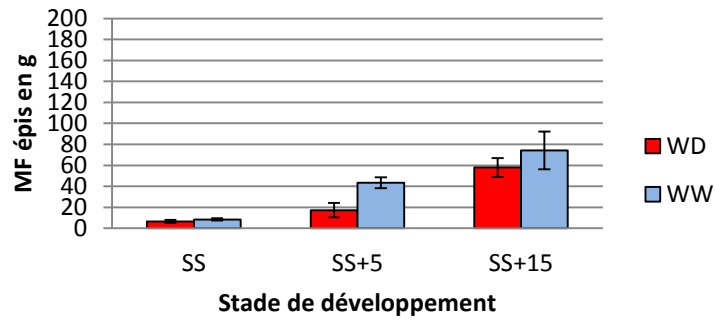


Figure 7 : Masse fraîche moyenne par épi à 3 stades de développement pour les plantes bien irriguées (WW) et en déficit hydrique (WD), pour le génotype B73. Les barres verticales représentent l'écart-type. SS : sortie des soies, SS+5 : sortie des soies +5 jours, et SS+15 : sortie des soies +15 jours.

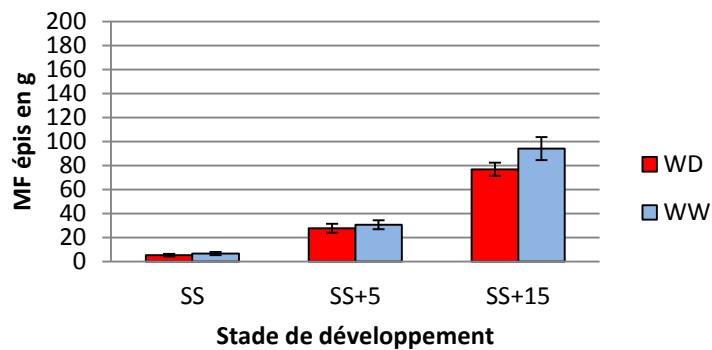


Figure 8 : Masse fraîche moyenne par épi à 3 stades de développement pour les plantes bien irriguées (WW) et en déficit hydrique (WD), pour le génotype K64R. Les barres verticales représentent l'écart-type. SS : sortie des soies, SS+5 : sortie des soies +5 jours, et SS+15 : sortie des soies +15 jours.

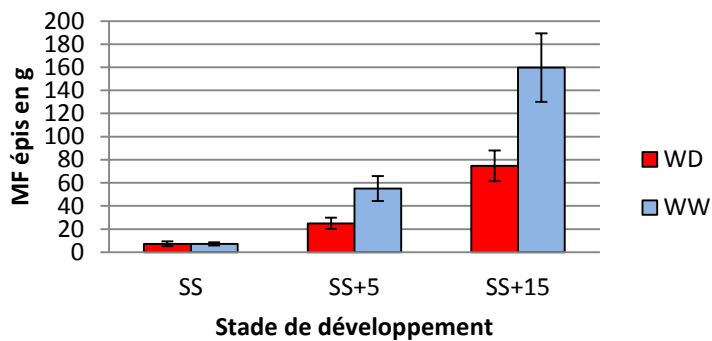


Figure 9 : Masse fraîche moyenne par épi à 3 stades de développement pour les plantes bien irriguées (WW) et en déficit hydrique (WD), pour le génotype B73xK64R. Les barres verticales représentent l'écart-type. SS : sortie des soies, SS+5 : sortie des soies +5 jours, et SS+15 : sortie des soies +15 jours.

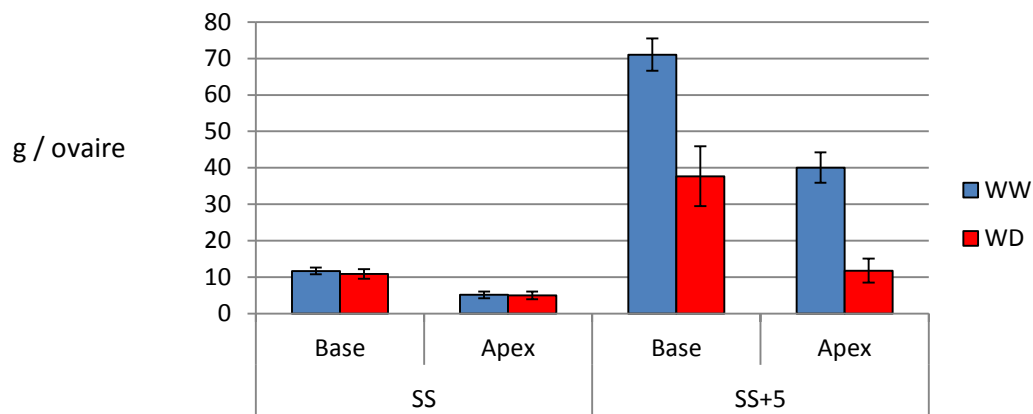


Figure 10 : Masse fraîche moyenne par ovaire à 3 stades de développement et à deux positions sur l'épi pour les plantes bien irriguées (WW) et en déficit hydrique (WD), pour le génotype B73. Les barres verticales représentent l'écart-type. SS : sortie des soies, et SS+5 : sortie des soies +5 jours.

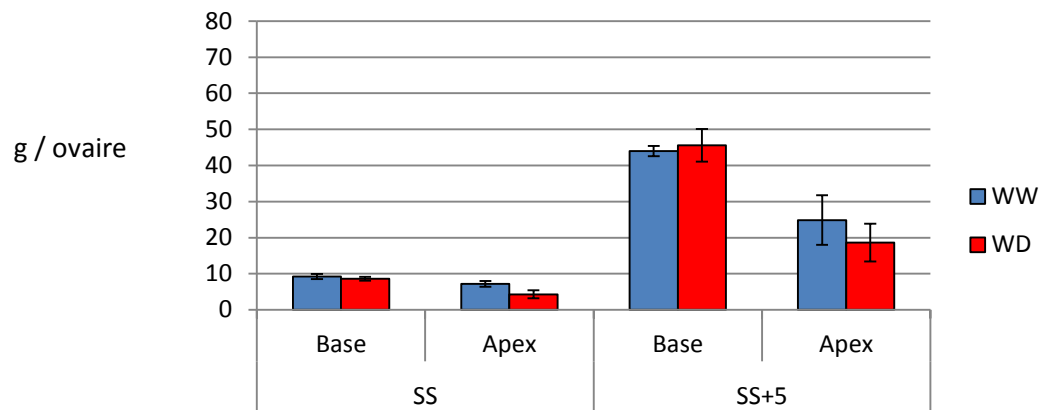


Figure 11 : Masse fraîche moyenne par ovaire à 3 stades de développement et à deux positions sur l'épi pour les plantes bien irriguées (WW) et en déficit hydrique (WD), pour le génotype K64R. Les barres verticales représentent l'écart-type. SS : sortie des soies, et SS+5 : sortie des soies +5 jours.

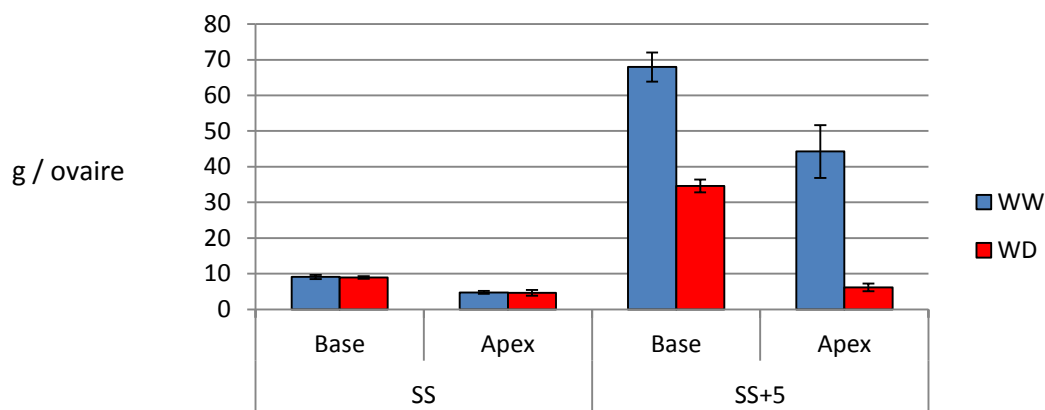


Figure 12 : Masse fraîche moyenne par ovaire à 3 stades de développement et à deux positions sur l'épi pour les plantes bien irriguées (WW) et en déficit hydrique (WD), pour le génotype B73xK64R. Les barres verticales représentent l'écart-type. SS : sortie des soies, et SS+5 : sortie des soies +5 jours.

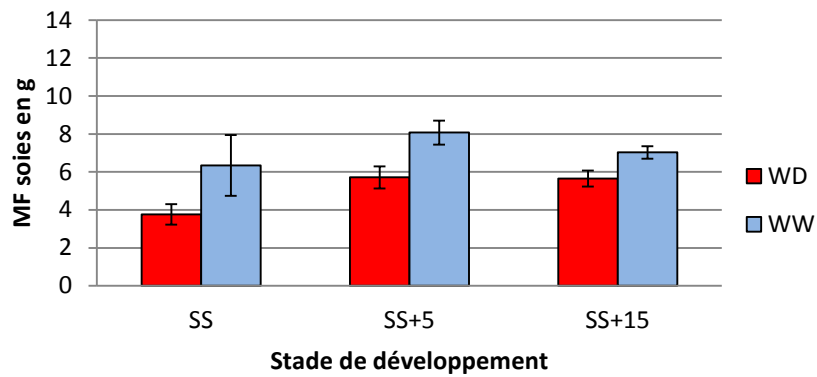


Figure 13 : Masse fraîche moyenne des soies par épi à 3 stades de développement pour les plantes bien irriguées (WW) et en déficit hydrique (WD), pour le génotype B73. Les écarts représentent l'écart-type. SS : sortie des soies, SS+5 : sortie des soies +5 jours, et SS+15 : sortie des soies +15 jours.

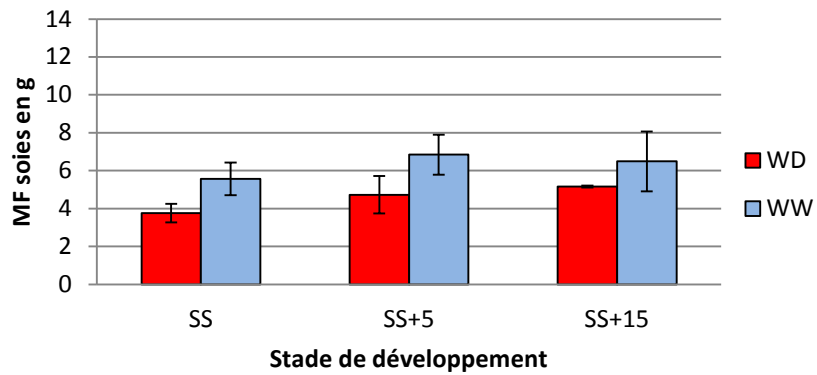


Figure 14 : Masse fraîche moyenne des soies par épi à 3 stades de développement pour les plantes bien irriguées (WW) et en déficit hydrique (WD), pour le génotype K64R. Les barres verticales représentent l'écart-type. SS : sortie des soies, SS+5 : sortie des soies +5 jours, et SS+15 : sortie des soies +15 jours.

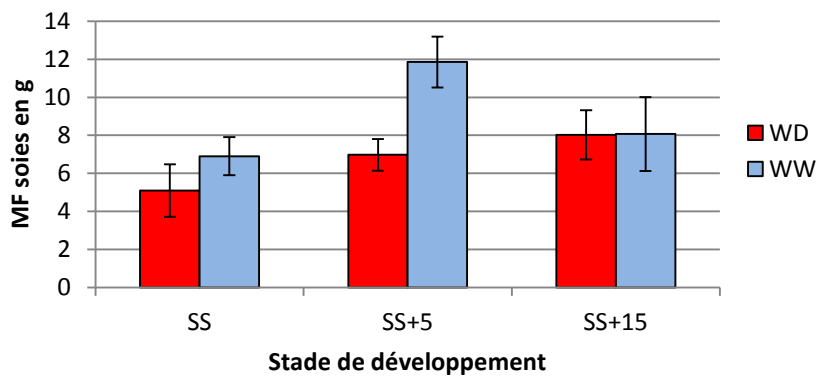


Figure 15 : Masse fraîche moyenne des soies par épi à 3 stades de développement pour les plantes bien irriguées (WW) et en déficit hydrique (WD), pour le génotype B73xK64R. Les barres verticales représentent l'écart-type. SS : sortie des soies, SS+5 : sortie des soies +5 jours, et SS+15 : sortie des soies +15 jours.

$\pm 0,41$ g à $44,27 \pm 14,38$ g en situation bien irriguée et de $4,63 \pm 3,48$ g à $6,12 \pm 4,86$ g en déficit hydrique. Au stade 5 jours après la sortie des soies et en déficit hydrique, les grains basaux de l'hybride B73 x K64R accusent une perte de masse fraîche de 49% par rapport aux témoins contre 86% chez les grains apicaux. Chez le génotype K64R, les grains basaux ont une masse fraîche qui croît de $9,21 \pm 1,38$ à $43,99 \pm 2,76$ en condition bien irriguée, et de $8,59 \pm 1,54$ g à $45,55 \pm 6,51$ g en déficit hydrique (Fig.11). Au niveau des grains apicaux, la masse fraîche varie de $7,17 \pm 1,57$ à $24,89 \pm 13,38$ en condition bien irriguée, et de $2,19 \pm 6,51$ g à $18,62 \pm 18,1$ g en condition de déficit hydrique. Au stade de 5 jours après la sortie des soies et en condition de déficit hydrique le génotype K64R a un comportement qui diffère de celui des précédents génotypes. Il arrive à maintenir une masse fraîche de grain proche de celle de grains en condition bien irriguée (25% de perte de masse fraîche pour les grains apicaux). Les résultats ici obtenus confortent les observations faites sur la masse fraîche des épis.

2.4 Impact du déficit hydrique sur la biomasse des soies

La biomasse des soies a été suivie au cours du temps par des prélèvements à la Sortie des soies, 5 jours après la sortie des soies et 15 jours après la sortie des soies (Fig.13,14,15). Chez les plantes bien irriguées, la biomasse des soies augmente durant les cinq jours qui suivent leur sortie = B73 : de $5,56 \pm 0,86$ g à $6,84 \pm 1,05$ g ; K64R : de $6,34 \pm 1,6$ g à $8,075 \pm 0,637$ g . B73 x K64R : de $6,9 \pm 1,00$ g à $11,86 \pm 1,33$ g au stade sortie des soies jusqu'à 5 jours après sortie des soies (Fig 13,14,15). Au-delà de cette date, il y a une décroissance de la biomasse due à la sénescence des soies déjà pollinisées.

Chez les plantes en déficit hydrique le développement des soies suit une allure différente puisque la biomasse augmente régulièrement au cours du temps jusqu'à 15 jours après leur sortie hors des spathes (B73 : de $3,76 \pm 0,49$ g à $5,17 \pm 0,05$ g ; K64R : de $3,76 \pm 0,54$ g à $5,65 \pm 0,42$ g ; B73 x K64R : de $5,1 \pm 1,38$ g à $8,02 \pm 1,29$ g du stade sortie soie au stade 15 jours après sortie soie).

L'impact du déficit hydrique est révélé dès la sortie des premières soies par une biomasse de soies plus faible chez les plantes en déficit hydrique par rapport aux témoins.

Cinq jours après leur sortie, les soies sont à leur stade final d'émergence et les différences observées entre les plantes témoins et en déficit hydrique s'accroissent. L'hybride B73 x K64R se révèle être le plus sensible au déficit hydrique car au stade 5 jours après la sortie des soies il montre le plus grand écart de mesure de biomasse entre les deux traitements : 41,16% de perte de biomasse de soies par rapport aux témoins contre respectivement 30,95% et 29,24% de perte chez B73 et K64R). A la fin des fécondations les soies des plantes bien irriguées deviennent sénescentes et réduisent la biomasse totale de soies, tandis que chez les plantes en déficit elles continuent de croître. L'application des contraintes hydrique a donc eu pour conséquence de retarder la date d'émergence des soies alors que la date d'anthèse est restée inchangée, ce qui a augmenté le décalage entre floraison mâle et femelle (ASI).

3- La photosynthèse et la transpiration, ainsi que leur réponse au déficit hydrique du sol, diffèrent selon les génotypes

3.1 Comparaison de la photosynthèse de trois génotypes en déficit hydrique

En situation bien irriguée la photosynthèse nette des plantes de l'hybride B73 x K64R (Fig.16) est la plus élevée ($14 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), tandis que celle de K64R est la plus faible ($11 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Le génotype B73 a une photosynthèse nette intermédiaire ($11 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$). L'impact du déficit hydrique est rendu visible par une diminution de la photosynthèse sur l'ensemble des génotypes par rapport aux plantes témoins. En début de journée, l'écart avec les plantes bien irriguées est peu important, en particulier chez K64R. Après un plateau, la photosynthèse diminue rapidement chez les 3 génotypes. Cette chute intervient plus tôt chez B73 (aux alentours de 7H après le début du jour) et plus tard chez K64R (après 10H de jour), intermédiaire chez l'hybride (après 9H de jour).

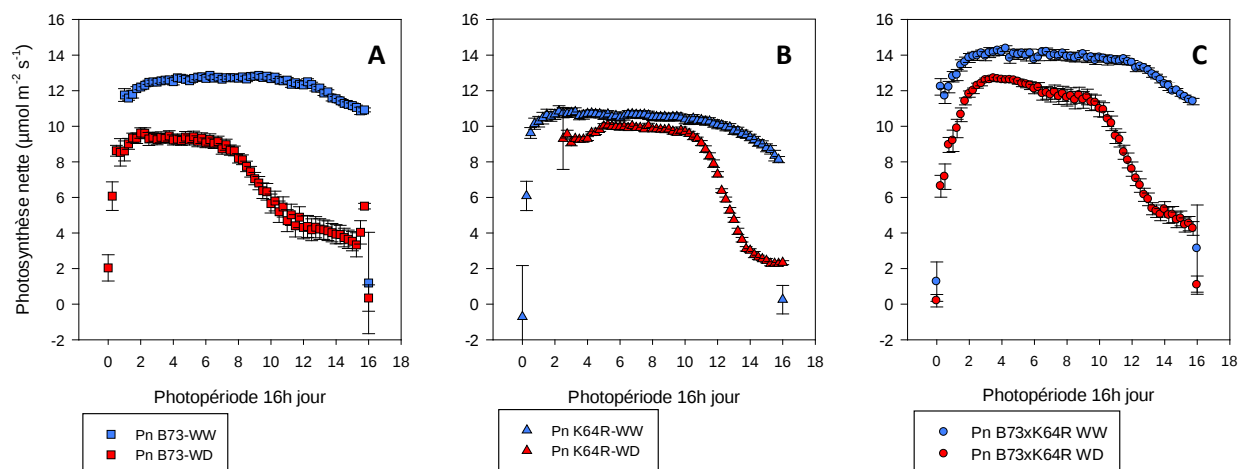


Figure 16 : Cinétique quotidienne moyenne de photosynthèse nette (Pn) des plantes bien irriguées (WW) et en déficit hydrique (WD), pour les géotypes B73 (A), K64R (B) et B73xK64R (C). La moyenne est calculée sur l'ensemble de la période de stress stabilisé. Les barres verticales représentent les intervalles de confiance à une *p-value* de 0.05.

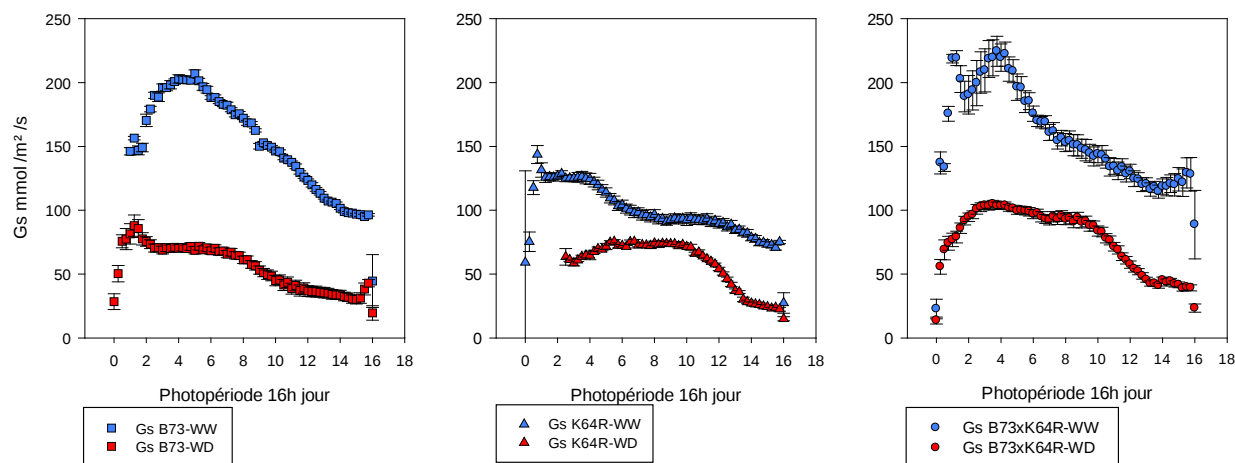


Figure 17 : Cinétique quotidienne moyenne de la conductance stomatique (Gs) des plantes bien irriguées (WW) et en déficit hydrique (WD), pour les géotypes B73 (A), K64R (B) et B73xK64R (C). La moyenne est calculée sur l'ensemble de la période de stress stabilisé. Les barres verticales représentent les intervalles de confiance à une *p-value* de 0.05.

3.2 Mesure de conductance stomatique et transpiration

La conductance stomatique (Fig. 17) présente une cinétique journalière un peu différente de celle de la photosynthèse, avec un pic en début de journée, puis une décroissance continue. Les écarts liés au déficit hydrique sont analogues à ceux observés pour la photosynthèse : forte diminution chez le génotype B73, et écarts plus réduits chez le génotype K64R.

L'évolution de la transpiration au cours de la journée (Fig. 18) est très similaire à celle de la photosynthèse. La décroissance de la transpiration précède celle de la photosynthèse chez les génotypes B73 et B73 x K64R. En revanche, les deux décroissances semblent simultanées pour le génotype K64R.

D'après le tableau de cumul de photosynthèse nette journalière, la photosynthèse quotidienne a été diminuée de 57,8 % chez le génotype B73, de 78,8% chez le génotype K54R et de 72,5% chez l'hybride B73 x K64R calculé sur la même période. Calculé sur la même période, le cumul de transpiration journalière indique une perte moyenne de 67,4% chez le génotype B73, de 75,5 % chez K64R, de 64,1 % chez l'hybride B73 x K64R. Le génotype K64R est celui qui a le mieux maintenu à la fois sa photosynthèse et sa transpiration en conditions de déficit hydrique, en valeur relative par rapport aux plantes bien irriguées.

4- Une méthode de phénotypage de la dynamique de sortie des soies rend compte des différences dans le nombre de grains qui se développent

4.1 Cinétique de l'ouverture d'orifice des spathes

Le diamètre de l'orifice des spathes (Fig. 19 A, B, C) par lequel émergent les soies a été suivi de façon journalière dès l'apparition des premières soies et jusqu'au stade de prélèvement de l'épi supérieur. Cette mesure est un estimateur du nombre de soies émergées. De manière générale pour tous les génotypes, ce diamètre a été impacté chez les plantes en déficit hydrique dès les premières mesures, avec des valeurs significativement inférieures à celles observées chez les plantes témoins. L'écart entre les mesures d'ouverture de spathes chez les plantes bien irriguées et en déficit hydrique est resté constant sur toute la durée de mesure (rapport des moyennes $\frac{\text{Plante en déficit hydrique}}{\text{Plante bien irriguée}}$: B73 = 88%, K64R = 86% ; B73 x K64R = 68%).

Le génotype B73 en condition bien irriguée montre une phase d'augmentation de l'ouverture des spathes durant les premiers jours qui suivent l'apparition des premières soies de $4,30 \pm 0,73$ mm jusqu'à un maximum de $7,36 \pm 0,70$ mm à 6 jours après la sortie des soies (Fig 19 A). Au-delà de ce stade s'en suit une phase de stabilisation et qui voit même amorcée une décroissance due à la sénescence des soies. Avec l'application d'un déficit hydrique la phase de croissance de l'ouverture des spathes est moins rapide : de $3,97 \pm 0,93$ mm jusqu'à un maximum de $6,66 \pm 0,40$ mm à 8 jours après la sortie des soies. Les mêmes observations ont pu être démontrées chez l'hybride B73 x K64R et K64R. Chez l'hybride B73 x K64R l'ouverture des spathes passe de 6,9 mm à un maximum de $11,60 \pm 0,15$ mm à 7 jours après la sortie des soies en condition bien irriguée, tandis qu'en condition de déficit hydrique elle passe de $5,13 \pm 0,76$ mm à $7,5 \pm 1,16$ mm à 5 jours après la sortie des soies (Fig.19C). Chez le génotype K64R l'ouverture des spathes en conditions bien irriguée évolue de $4,53 \pm 1,17$ mm à $9,25 \pm 0,86$ mm à 5 jours après la sortie des soies. En condition de déficit hydrique cette croissance passe de $4,08 \pm 1,41$ mm à $8,12 \pm 0,67$ mm (Fig.19B).

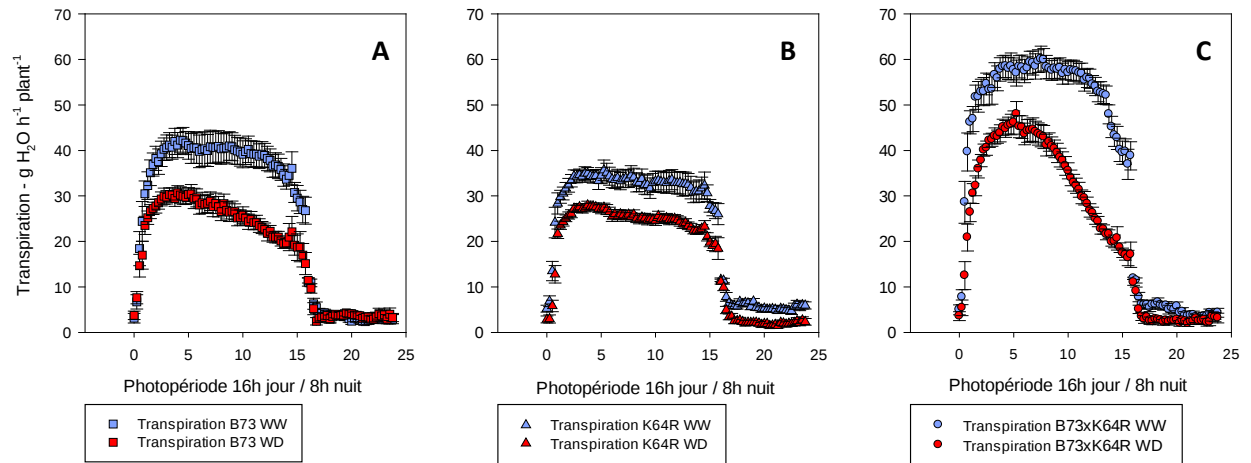


Figure 18 : Cinétique quotidienne moyenne de transpiration des plantes bien irriguées (WW) et en déficit hydrique (WD), pour les génotypes B73 (A), K64R (B) et B73xK64R (C). La moyenne est calculée sur l'ensemble de la période de stress stabilisé. Les barres verticales représentent les intervalles de confiance à une *p-value* de 0.05.

4. 2 Corrélation entre l'ouverture d'orifices des spathes et le rendement

La figure 20 montre la corrélation existant entre la moyenne du nombre de grains relevé à 15 jours après la sortie des soies (fin des fécondations) et la moyenne du diamètre de l'orifice des spathes à 5 jours après la sortie des soies (correspondant à l'ouverture maximale). La mesure de l'ouverture des spathes à ce stade est un estimateur de la vitesse d'émergence des soies hors des spathes (nombre de soies émergées par jour). Elle explique 97 % des variations du nombre de grains final obtenu, avec une relation commune aux trois génotypes et aux 2 régimes hydriques. Ceci suggère d'une part que la dimension individuelle des soies (diamètre) est commune à toutes les situations (ou peu variable), et d'autre part que la dynamique d'émergence des soies joue un rôle central dans le développement ou l'avortement des ovaires.

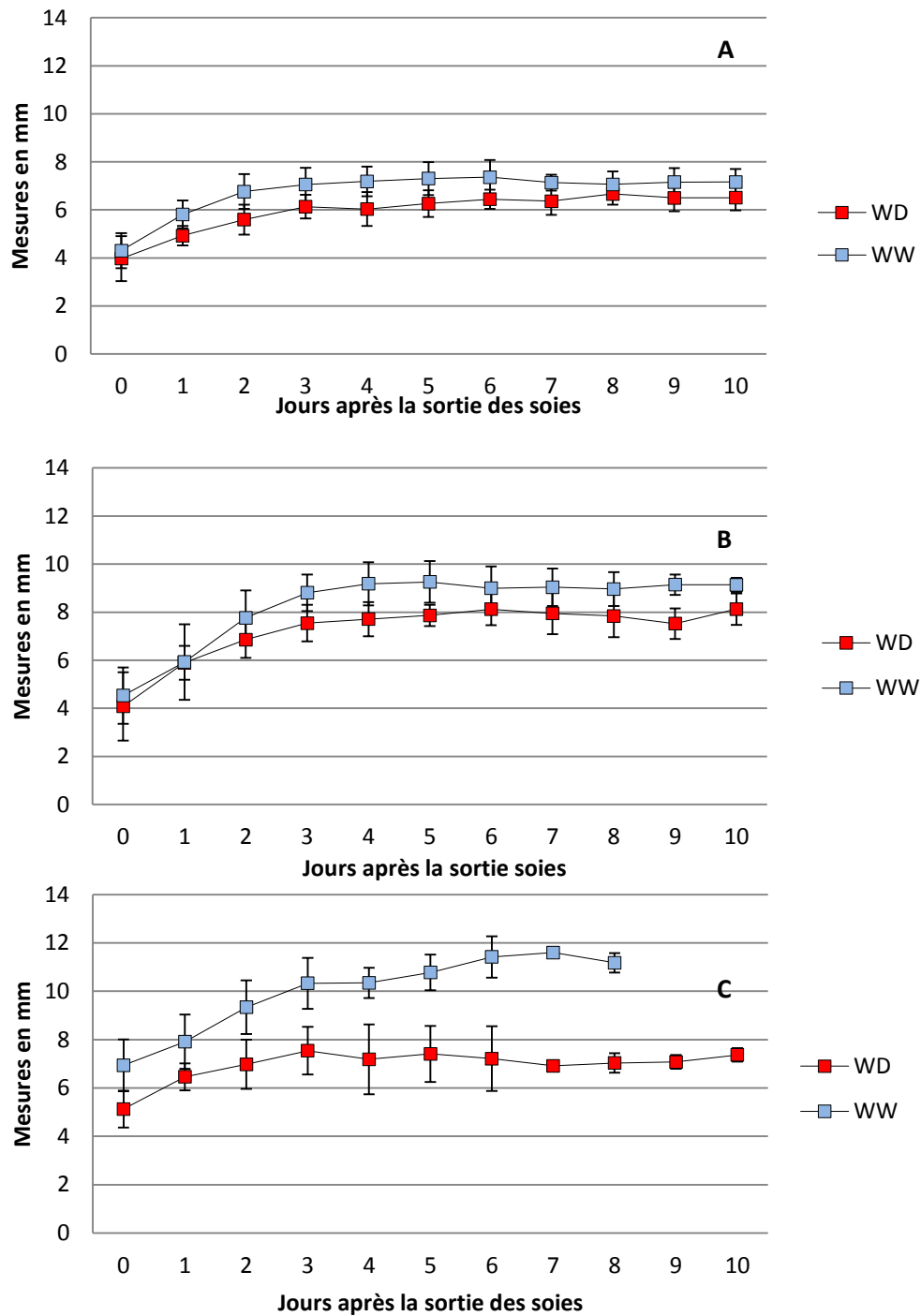


Figure 19 : Evolution du diamètre de l'ouverture des spathe en fonction du temps depuis la sortie des premières soies pour les plantes bien irriguées (WW) et en déficit hydrique (WD), pour les génotypes B73 (A), K64R (B) et B73xK64R (C). Les barres verticales représentent l'intervalle de confiance à une p -value de 0.05.

Discussion

1) Mise au point d'une méthode permettant d'appliquer un stress hydrique comparable à différents géotypes

Une des difficultés d'analyse de la réaction des plants de maïs à la sécheresse est la grande diversité des comportements des géotypes. Ainsi, des différences de précocité ou de surface foliaire entre géotypes ont un impact sur le déficit hydrique subi par la plante (vitesse de dessèchement du sol différente par exemple) et conduisent à une interaction géotype x environnement parfois difficile à interpréter. Dans nos expérimentations, les géotypes qui ont été utilisés avaient des caractéristiques différentes en terme de biomasse de plantes et variaient au niveau de la date d'initiation des floraisons mâles et femelles (Annexe 2). Le protocole expérimental s'est donc efforcé de maintenir un seuil de stress homogène et constant entre les géotypes et ainsi de pouvoir effectuer des comparaisons sur l'aptitude des géotypes à maintenir leurs fonctions physiologiques (photosynthèse, croissance, production de grains) face à un même niveau de déficit hydrique.

D'après les résultats obtenus, le géotype K64R est le plus tolérant car son rendement est moins affecté par les conditions de déficit hydrique en comparaison avec les autres géotypes. Cela se traduit par des écarts plus faibles entre plantes en déficit hydrique et plantes. Les caractéristiques de tolérance chez le géotype K64R peuvent s'expliquer par le fait qu'il s'agit de plante de petite taille, dont les besoins en transpiration sont plus faibles. En effet au stade Sortie des soies, les plantes des 3 géotypes avaient des biomasses différentes et K64R a montré les plus faibles valeurs. Par ailleurs ce géotype est doté d'un temps de croissance plus long associé à un retard dans l'initiation des floraisons mâle et femelle par rapport aux autres géotypes. A stade égal de développement avec les autres géotypes, le taux de croissance réduit chez K64R a été partiellement compensé par un temps de croissance plus long qui lui assure un maintien de sa capacité de croissance. Ce maintien passe par des besoins et des consommations moindres. A l'opposé, l'effet hétérosis conférant une plus grande vigueur à l'hybride B73 x K64R en termes de biomasse de plante finit par impacter négativement le développement de la plante en situation de déficit hydrique du sol.

2) Le déficit hydrique impacte la photosynthèse de manière différente chez les géotypes.

La variabilité génétique dans la réponse des trois géotypes à un même état hydrique du sol révèle des relations d'interaction géotype-environnement. En effet en condition de déficit hydrique on a pu observer une dépression de la photosynthèse, plus ou moins importante suivant les géotypes. Par ailleurs, nos résultats semblent montrer que la photosynthèse n'est pas le premier processus physiologique impacté lors d'un déficit hydrique. En effet d'autres changements métaboliques se produisent lorsque le potentiel hydrique s'abaisse au moment de la pollinisation et au cours du développement précoce des grains (Zinselmeier et al., 2002 ; Yu and Setter, 2003). Dans la littérature, il est rare de trouver des cinétiques de photosynthèse sur un temps de photopériode de 16 heures. Cependant certaines expériences confortent nos analyses en montrant que la transpiration et les mécanismes hydrauliques chez le maïs sont impactés avant la photosynthèse. Pelleschi *et al.*, 1997, ont étudié des géotypes présentant des différences morphologiques en conditions bien irriguées (morphologie des feuilles et longueurs d'entre nœuds). Des variabilités dans la réponse des plantes au déficit hydrique ont aussi été observées : les plantes avec la plus forte biomasse étaient les plus affectées par le déficit hydrique comme dans notre expérimentation. D'après les résultats obtenus durant le stage, le géotype montrant la photosynthèse la plus efficiente et la plus forte transpiration sur une photopériode de 16 heures en condition bien irriguée est l'hybride B73 x K64R, mais il se révèle être le plus impacté en condition de déficit hydrique. Le géotype K64R semble être plus économe dans sa consommation d'eau et parvient à maintenir une photosynthèse plus proche de celle des témoins en conditions de déficit hydrique. On peut également observer de la variabilité entre géotypes grâce aux cinétiques journalières de photosynthèse et de transpiration qui apportent plus de précisions que les résultats présents dans la littérature. En effet les méthodes de suivi appliquées pendant le stage ont permis

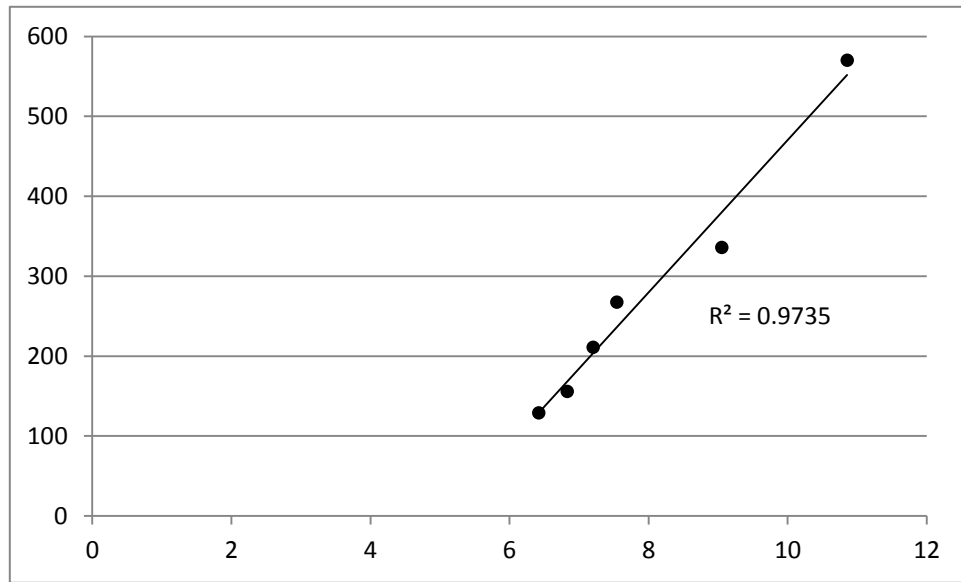


Figure 20 : Corrélation entre le diamètre de l'ouverture des spathes mesuré 5 jours après la sortie des premières soies et le nombre de grains en développement à la fin de l'expérimentation 15 jours après la sortie de soies pour les six modalités étudiées : plantes bien irriguées et en déficit hydrique, pour les génotypes B73, K64R et B73xK64R.

de déterminer que le génotype K64R n'est que peu affecté par le déficit hydrique par comparaison aux autres génotypes au niveau de son activité photosynthétique et transpiratoire. Le contrôle de la teneur en eau du sol dans nos expérimentations permet d'affirmer que toutes ces variations observées entre génotypes sont dus à des phénomènes intrinsèques à la plante et pas à des variations de seuils du stress hydrique.

3) Le déficit hydrique entraîne une accumulation de sucres dans les ovaires

Les résultats des expérimentations menées durant le stage ont montré que la photosynthèse est bien impactée après les processus hydrauliques chez le maïs : on observe en effet un décalage de quelques heures entre la diminution du flux transpiratoire et celle de la photosynthèse.

Dans la littérature les pertes de rendements rencontrées lors des périodes de sécheresse sont généralement attribuées à la limitation du flux de saccharose vers les ovaires qui conduit aux avortements (Zinselmeier et al., 1999 ; Boyer et Wesgate., 2004 ; Quin et al., 2004). Cependant ces interprétations sont fondées des dispositifs expérimentaux qui impliquent des symptômes sévères de déficit hydrique. Une conséquence d'un tel degré de déficit hydrique est une inhibition totale du flux de saccharose par arrêt de la photosynthèse (Zinselmeier et al., 1995 ; Zinselmeier et al., 1999 ; Setter et al., 2001 ; Makela et al., 2005) conjointement à un arrêt des flux hydriques xylémiens (Tardieu et al., 2010) et phloémiens (Makela et al., 2005). Ce qui justifie l'intérêt de nos expérimentations durant lesquelles le niveau du stress hydrique a été maintenu à un seuil provoquant une réduction de la photosynthèse et du transport hydrique sans affecter la vie de la plante. Par ailleurs des résultats antérieurs à mon stage obtenus dans mon laboratoire d'accueil ont montré des augmentations de saccharose dans les ovaires des plantes soumises à un déficit hydrique, quelle que soit la position sur l'épi (Oury, 2010). En outre, les concentrations en amidon dans les ovaires étaient similaires quelle que soit leur position sur l'épi et le statut hydrique des plantes. Ceci signifie que le métabolisme carboné n'est pas négativement impacté par le déficit hydrique. Ces résultats suggèrent que l'impact sur la photosynthèse observé en condition de déficit hydrique modéré ne peut expliquer à lui seul les pertes de rendements. Cependant, le métabolisme carboné tient une importance fondamentale dans la formation du rendement pour la phase du remplissage des grains en amidon (Boyer et Wesgate, 2004 ; Hiyane et al., 2010). Par ailleurs des analyses des composantes du rendement révélant une réduction du nombre de grains (Edmeades et al., 1999), suggèrent que la disponibilité en carbone ne suffit pas à expliquer les avortements d'ovaires.

4) La mise en place des soies est déterminante pour le devenir des ovaires et explique le rendement

Les résultats que j'ai obtenus durant mon stage ont montré que les soies sont fortement impactées par le déficit hydrique, avant les autres organes. Des observations dans la littérature confortent ces résultats et montrent qu'il y a des concentrations en saccharose plus élevées au niveau des soies à l'échelle de l'épi en conditions de déficit hydrique (Fuad-Hassan et al., 2006), suggérant là encore que le métabolisme carboné n'est pas limitant en situation de déficit hydrique du sol.

La limitation de la croissance des soies apparaît comme un événement déterminant dans le devenir des ovaires. Le déficit hydrique a eu pour conséquence de modifier la date et la dynamique de sortie des soies : ces dernières sont sorties plus tard que chez les plantes bien irriguées. Au contraire la date d'anthèse n'a pas été modifiée, ce qui a provoqué une augmentation du décalage entre floraison mâle et femelle (Fuad-Hassan., 2006). Par ailleurs des travaux au sein de l'équipe MAGE ont montré que les soies de plantes en déficit hydrique, qui ont été ré-irriguées le jour de la sortie soie, ont présenté une vitesse d'élongation équivalente et parfois supérieure à celle des plantes n'ayant subi aucune contrainte hydrique. L'absence d'arrière effet de la contrainte hydrique indique donc bien que la réduction de croissance des soies est liée à l'état hydrique des plantes et pas à une sénescence accélérée des soies (Fuad-Hassan, 2006).

L'effet direct du déficit hydrique sur la croissance des soies est la cause directe du retard de la sortie des soies, entraînant une augmentation du décalage de floraison (ASI) (Fuad Hassan et al., 2008), lui-même fortement corrélé au rendement (Edmeades et al.).

Des travaux ont pu montrer que le contrôle de l'élongation foliaire et de l'ASI ont un déterminisme génétique commun, dans des conditions bien irriguées et de déficit hydrique. La co-localisation de QTLs suggère des mécanismes communs de croissance et de maintien de la croissance chez les feuilles et les soies en conditions de déficit hydrique (Welcker et al., 2006). Ceci est cohérent avec nos résultats suggérant que les processus hydrauliques et de croissance, dans les soies et dans l'épi, sont impactés avant la photosynthèse et le métabolisme carboné, comme cela a été observé dans les feuilles en croissance.

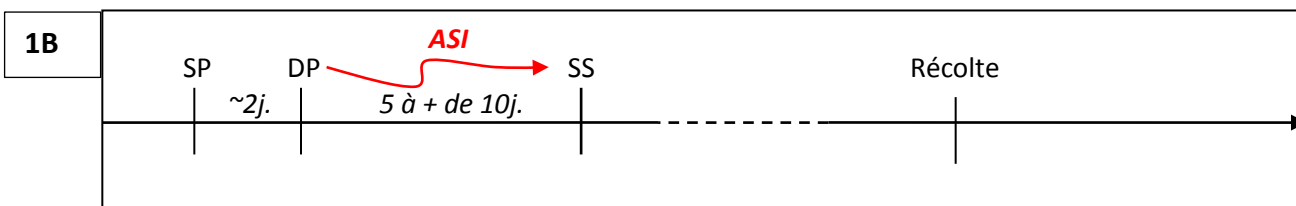
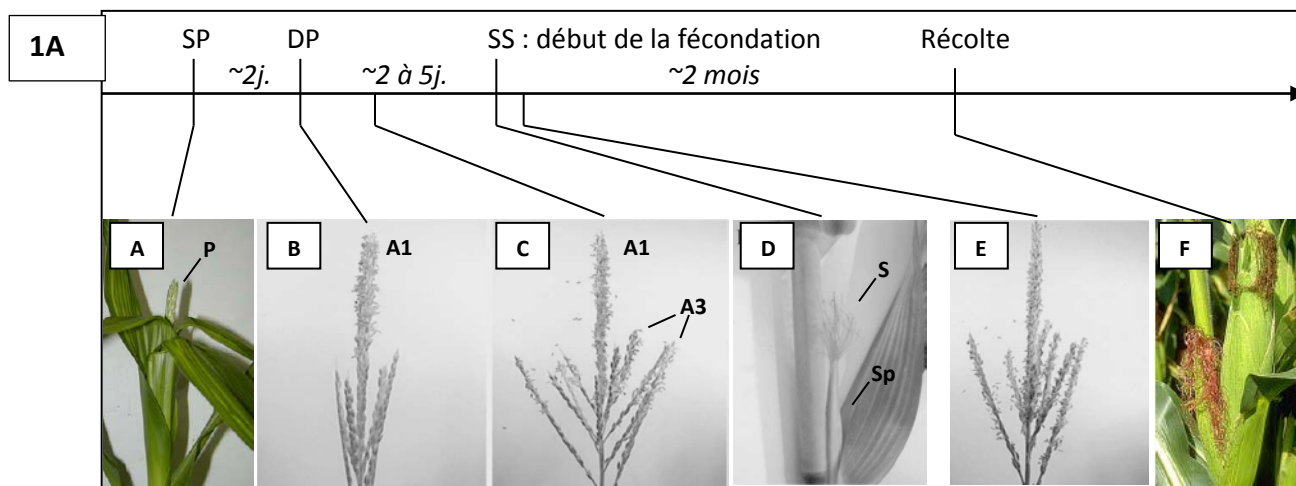
La méthode de mesure du diamètre de l'orifice des spathes, évaluée au cours de mon stage, fournit une estimation du nombre de soies sorties. Son utilisation au cours du temps donne accès à la dynamique de sortie des soies, dépendant elle-même des processus d'expansion dans les tissus des soies (Fuad-Hassan, 2008).

Une forte corrélation entre le diamètre de l'orifice des spathes au stade 5 jours après sortie des soies et le nombre de grains final par épi a été montrée, ce qui appuie l'ensemble des résultats cités ci-dessus indiquant que le maintien de la croissance des soies est central dans le maintien du rendement en grain en situation de déficit hydrique. Cette méthode de mesure pourrait donc devenir un bon outil de phénotypage des plantes pour permettre d'identifier les génotypes susceptibles de maintenir leur rendement en conditions hydriques limitantes grâce au maintien de la croissance de leurs soies.

Référence bibliographique

1. Baker R, (1984) Some of the open, pollinated varieties that contributed the most to modern hybrid corn. *In Proc. Annu. Illinois Corn Breeders School*, 20th, Champaign. 6-8 Mar. Univ. of Illinois, Urbana-Champaign, p 1-19.
2. Bolanos J, Edmeader GO (1996) The importance of the anthesis-silking interval in breeding for drought tolerance in tropical maize. *Field Crops Research* **48**: 65-80.
3. Boyer JS (1970) Leaf enlargement and metabolic rates in corn, soybean, and sunflower at various leaf water potentials. *Plant Physiology* **46**: 233-235.
4. Boyer JS, Westgate ME (2004) Grain yields with limited water. *Journal of Experimental Botany* **55**: 2385-2394
5. Boyer JS, McLaughlin JE (2007) Functional reversion to identify controlling genes in multigenic responses : analysis of floral abortion. *Journal of Experimental Botany* **58**: 267-277.
6. Boyle MG, Boyer JS, Morgan PW (1991) Stem infusion of liquid culture medium prevents reproductive failure of maize at low water potential. *Crop Science* **31**: 1246-1252
7. Darrah, LL, Zuber MS (1986;1985) United States farm maize germplasm base and commercial breeding strategies. *Crop science* **26**:1109-1113.
8. Edmeades GO, Bolanos J, Hernandez M, Bello S (1993) Causes for silk delay in a lowland tropical maize population. *Crop Science* **33**: 1029-1035.
9. Edmeades GO, Bolanos J, Elings A, Ribaut JM, Banziger M, Westgate ME (2000) The role and regulation of the anthesis-silking interval in maize. *In* ME Westgate, K Boote, eds, *Physiology and modeling kernel set in maize*, Vol 29. Crop Science Society of America, Madison, WI, USA, p 43-73
10. Fuad-Assan A (2006) Analyse de la croissance des soies de plantes de maïs soumises à des déficits hydriques édaphiques et atmosphériques Thèse de Doctorat Biologie Intégrative. ENSAM, Montpellier, France, 61 p.
11. Fuad-Assan A, Tardieu F, Turc O (2008) Drought-induced changes in anthesis-silking interval are related to silk expansion : a spatio-temporal growth analysis in maize plants subjected to soil water deficit. *Plant, Cell and Environment* **31**: 1349-1360.
12. Hiyane R, Hiyane S, Tang AC, Boyer JS (2010) Sucrose feeding reverses shade-induced kernel losses in maize, *Annals of botany*, **106**: 395-403.
13. Makela P, Mc Laughlin JE, Boyer JS (2005) Imaging and quantifying carbohydrate transport to the developing ovaries of maize. *Annals of Botany* **96**: 939-949.
14. McLaughlin JE, Boyer JS (2004a) Glucose localization in maize ovaries when kernel number decreases at low water potential and sucrose is fed to the stems. *Annals of Botany* **94**: 75-86.
15. Pelleschi S, Rocher JP, Prioul JL (1997) Effect of water restriction on carbohydrate metabolism and photosynthesis in mature maize leaves. *Plant, Cell and Environment* **20**: 493-503.
16. Qin LX, Trouverie J, Château-Joubert S, Simond-Cote E, Thevenot C, Prioul JL (2004) Involvement of the *Ivr2*-invertase in the perianth during maize kernel development under water stress. *Plant Science* **166**: 371-379.

17. Oury V (2010) Mémoire M2R Biologie Fonctionnelle des Plantes, UM2 Montpellier, Analyse du déterminisme de l'avortement des grains de maïs sous déficit hydrique (*Zea mays L.*)
18. Sadok W, Naudin P, Boussuge B, Muller B, Welcker C, Tardieu F (2007) Leaf growth rate per unit thermal time follows QTL-dependent dially patterns in hundreds of maize lines under naturally fluctuating conditions. *Plant Cell and Environment* **30**: 135-146
19. Setter TL, Flannigan BA, Melkonian J (2001) Loss of kernel set due to water deficit and shade in maize : carbohydrate supplies, abscisic acid, and cytokinins. *Crop Science* **41**: 1530-1540.
20. Schussler et Westgate ME (1991) Maize kernel set a low water potential : I.Sensitivity to reduced assimilates during early kernel growth.*Crop Science* **31**: 1189-1195
21. Welcker C, Boussugue B, Bencivenni C, Ribaut JM, Tardieu F (2007) Are source and sink strenghts genetically linked in maize plant subjected to water deficit ? A QTL study of the responses of leaf growth and of Anthesis-Silking Interval to water deficit. *Journal of Experimental Botany* **58**: 339-349.
22. Yu L, Setter TL (2003) Comparative transcriptional profiling of placenta and endosperm in developing maize kernels in response to water deficit. *Plant Physiology* **131**: 568-582.
23. Zinselmeier C, Wesgate ME, Schussler JR, Jones RJ (1995) Low water potential disrupts carbonhydrate-metabolism in maize (*Zea-mays L*) ovaries. *Plant Physiology* **107**: 385-391.
24. Zinselmeier C,Jeong BR, Boyers JS (1999) Starch and the control of kernel number in maize at low water potentials, *Plant Physiology* **121**: 25-35.
25. Zinselmeier C, Sun YJ, Helentjaris T, Beatty M, Yang S, Smith H, Habden J (2002) The use of gene expression profiling to dissect the stress sensitivity of reproductive development in maize. *Fiels Crop Research* **75**: 11-121.



Annexe 1A : Chronologie des différentes phases de floraison du cultivar de maïs B73. A : SP, sortie de la panicule (P), le pollen est encore en cours de maturation. B : DP, début de la diffusion du pollen. Les anthères de l'axe principal (A1) de la panicule libèrent du pollen. C : Diffusion maximale de pollen. Le pollen est libéré par les anthères de l'axe principal et des axes secondaires (A3). D : SS, sortie des soies. Les soies (S) émergent des spathes (Sp) qui entourent l'épi. Les soies dépassent typiquement de 1 à 2 cm. E : Fin de la diffusion du pollen. Les anthères de l'ensemble de la panicule ne libèrent plus de pollen. F : Epi mature prêt à être récolté.

Le développement reproducteur du maïs débute par la transition florale : le méristème apical de l'axe A1 se différencie pour initier l'inflorescence mâle en position terminale, appelée panicule. Quelques jours après, la jeune panicule apparaît (sortie de la panicule). Ensuite a lieu sa maturation, pendant laquelle le pollen est produit. Enfin a lieu l'anthèse, c.-à-d. la diffusion du pollen.

L'épi, l'inflorescence femelle, initié en position axillaire par un méristème secondaire se développe lors du développement de la panicule mâle. Un épi de maïs est une inflorescence simple, composée d'une multitude d'épillets (fleurs). La fleur est composée d'un périanthe et d'un ovaire qui possède son propre stigmate : la soie. L'épi est recouvert de bractées : les spathes. La floraison femelle a lieu lorsque les soies sortent des spathes pour pouvoir être pollinisées : la sortie des soies. La bonne fécondation des soies repose sur le synchronisme entre DP et SS, à l'échelle de la population de maïs avoisinante.

Figure extraite de OURY, 2010.

Annexe 1B : Modification de la chronologie des différentes phases de floraison du maïs par un déficit hydrique. ASI : *Anthesis-Silking Interval*, intervalle de temps entre la diffusion du pollen (DP) et la sortie des soies (SS). SP, sortie de la panicule mâle.

B73				K64R				B73xK64R			
WW		WD		WW		WD		WW		WD	
Moyenne MF (g)	<i>Ecart type</i>	Moyenne MF (g)	<i>Ecart type</i>	Moyenne MF (g)	<i>Ecart type</i>	Moyenne MF (g)	<i>Ecart type</i>	Moyenne MF (g)	<i>Ecart type</i>	Moyenne MF (g)	<i>Ecart type</i>
557	151	449	86	534	118	471	162	770	246	615	153

Annexe 2 : Biomasse des plantes analysées dans les six modalités étudiées : plantes bien irriguées (WW) et en déficit hydrique (WD), pour les génotypes B73, K64R et B73xK64R.

