



HAL
open science

Relations anatomiques du bois chez deux espèces forestières, *Fagus sylvatica* et *Quercus petraea*. Impact de la sécheresse de 2003

Emilie Martel

► **To cite this version:**

Emilie Martel. Relations anatomiques du bois chez deux espèces forestières, *Fagus sylvatica* et *Quercus petraea*. Impact de la sécheresse de 2003. [Stage] Université Henri Poincaré (Nancy 1), FRA. 2010, 24 p. hal-02818128

HAL Id: hal-02818128

<https://hal.inrae.fr/hal-02818128>

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.

Faculté des sciences et technologies de Nancy
Master Biologie et Ecologie pour la Forêt, l'Agronomie et l'Environnement (BEFAGE)
parcours Fonctionnement et Gestion des Ecosystèmes (FGE)

**Relations anatomiques du bois chez deux espèces forestières,
Fagus sylvatica et *Quercus petraea*.
Impact de la sécheresse 2003.**

Centre INRA de Nancy
54280 Champenoux
UMR INRA (1137) Nancy Universités
« Ecologie Ecophysiologie Forestières »
Equipe Physiologie et diversité de la réponse aux contraintes

Etudiant stagiaire : Emilie Martel
Maître de stage : Didier Le Thiec
Responsable Universitaire du stage: Daniel Epron

Année scolaire : 2009-2010

Remerciements

Tout d'abord je tiens à exprimer ma gratitude envers mon maître de stage, Monsieur Didier le Thiec, chargé de recherche, pour son accueil au sein de l'équipe, Physiologie et diversité de la réponse aux contraintes. Je le remercie tout particulièrement pour sa disponibilité et son aide précieuse pour la rédaction du rapport et pour la préparation de la soutenance orale.

Ensuite, je tiens à remercier, Monsieur Christophe Rose, assistant ingénieur, de m'avoir formé sur le microscope électronique à balayage ainsi que de m'avoir expliqué le fonctionnement du lyophilisateur.

Je remercie, Madame Nathalie Ningre, assistante technicienne, pour sa contribution à ma formation au microscope électronique à balayage, ainsi que Monsieur Franck Radnai, assistant technicien, pour son aide en informatique.

Et enfin je remercie toutes les personnes qui m'ont accordé leurs aides et leurs soutiens pendant toute la période de mon stage.

Abréviations

INRA : Institut Nationale de Recherche Agronomique

UHP : Université Henri Poincaré

UMR : Unité Mixte de Recherche

WUE: Water Use efficiency

ZIP: Zone initiale poreuse

ZP: Zone à pores diffus

ONF : Office Nationale des Forêts

MEB : Microscope Electronique à Balayage

UV : Ultra -Violet

IF : Infra-Rouge

EHT: Electronic High Tension

VP : Vide Poussé

WD: Word Distance

Sommaire

Introduction.....	1
Matériel et méthodes	2
1. Site du projet	2
2. Espèces étudiées.....	3
2.1 Echantillonnage.....	3
<i>a. Stratégie d'échantillonnage</i>	<i>3</i>
<i>b. Prélèvements des carottes de bois.....</i>	<i>4</i>
2.2 Préparation des échantillons pour le traitement d'image	4
<i>a. Le microtome.....</i>	<i>4</i>
<i>b. Protocoles de préparation des échantillons.....</i>	<i>4</i>
3. Dispositif analytique.....	6
3.1 Principe et appareillage du MEB	6
3.2 Imagerie.....	7
<i>a. Formation et obtention de l'image.....</i>	<i>7</i>
<i>b. Paramètres du MEB.....</i>	<i>8</i>
4. Analyse d'image et des résultats	9
4.1 Traitement d'image	9
4.2 Traitement de données	9
Résultats.....	10
1. Evolution des caractéristiques anatomiques en fonction du temps et des conditions climatiques	10
2. Relation entre le nombre et la surface totale des vaisseaux par mm²	11
3. Largeur de cerne en fonction du nombre et de la surface totale des vaisseaux par mm².....	11
Discussion/Conclusion	12
Bibliographie	14

Annexe 1 : Carte du Site de Hesse

Annexe 2 : Caractéristiques des échantillons de Quercus petraea et Fagus sylvatica.

Annexe 3 : Le Microscope à Balayage Electronique (MEB) et les appareils associés

Introduction

Dans le cadre de la formation du master FAGE 1^{ière} année, un stage en laboratoire d'une durée de 6 semaines a été réalisé afin de nous familiariser au milieu de la recherche, et de nous former à la conduite d'une démarche scientifique. J'ai réalisé ce stage à l'INRA Champenoux de Nancy, au sein de l'UMR INRA-UHP 1137 « Ecologie et Ecophysiologie Forestières ». Cette unité a pour mission d'étudier les bases physiques et biologiques des interactions entre les facteurs de l'environnement et le fonctionnement des arbres et des écosystèmes forestiers. Ce stage s'est effectué plus particulièrement, dans l'équipe "Physiologie et diversité de la réponse aux contraintes". Il s'insère dans une des études d'un projet cofinancé par la région Lorraine. Les thématiques de ce projet de recherche sont les suivantes : changement climatique, biodiversité, écophysiologie de l'arbre, régulation stomatique, efficacité d'utilisation de l'eau, écologie fonctionnelle.

Cette étude a pour but d'« analyser la diversité interspécifique et intraspécifique du transfert et de la transpiration de l'eau dans les mélanges d'essences feuillues en Lorraine. Nous savons aujourd'hui que la succession forestière ainsi que la dynamique de croissance des arbres sont étroitement dépendantes de leur phénologie, de l'accès à la ressource en eau et de l'efficacité de son utilisation (WUE) ». Elle fait suite à une pré-étude réalisée en 2003 qui a mis en évidence une diversité de WUE chez différents groupes d'espèces. La problématique de cette étude est axée sur les composantes principales qui peuvent expliquer la diversité de WUE de différents groupes d'espèces, sur le plan écophysiologique et autécologique. Plusieurs critères anatomiques ont été analysés pour expliquer cette diversité : densité stomatique (anatomie de la feuille) et surface et nombre des vaisseaux du bois (anatomie du bois). Actuellement la relation entre l'anatomie de la feuille, plus particulièrement la conductance stomatique et WUE a été établie chez plusieurs espèces (Thèse Marion Zapater, 2009 et Thèse Magali Roussel, 2008). Alors que la relation entre l'anatomie du bois et WUE a été constatée seulement chez *Quercus petraea* et *Quercus robur* (Ponton et al., 2001).

C'est dans l'optique de déterminer une relation entre l'anatomie du bois de deux essences feuillues (*Fagus sylvatica* et *Quercus petraea*) provenant d'un peuplement mélangé, et d'étudier l'impact de la sécheresse de 2003, que s'est déroulé mon stage. En effet, durant 6 semaines j'ai effectué des coupes sur des carottes de bois et analysé l'anatomie (surface et nombre des vaisseaux) de ces 2 espèces sur les 6 espèces prises en compte dans l'étude, afin de les comparer. Les objectifs principaux de cette étude étant de :

- préserver la biodiversité terrestre en favorisant les peuplements mélangés dans la forêt.
- connaître les processus clés de l'utilisation des ressources en eau afin de prédire l'impact des changements globaux de l'atmosphère sur la biodiversité et ainsi permettre un aménagement raisonné des forêts mélangées.

Cette étude a donc un double intérêt. Tout d'abord un intérêt scientifique permettant d'améliorer les connaissances écophysiologiques et fonctionnelles des différentes espèces, mais aussi de comprendre le rôle des forêts mélangées dans le fonctionnement hydrique et carboné. Et enfin un intérêt pour la gestion forestière afin de développer des outils mesurant la contrainte hydrique et les effets de la lumière sur la physiologie de l'arbre, pour exploiter de façon raisonnée une forêt.

Matériel et méthodes

1. Site du projet

Ce projet s'est déroulé sur le site atelier de la forêt domaniale de Hesse (48°40'27''N ; 7°03'53'' E, altitude 305 mètres), située à une dizaine de kilomètres au sud de Sarrebourg et entrecoupée par la Bièvre, un affluent de la Sarre (*Annexe I*). Elle recouvre une superficie de 485 ha et est composée à 90% de *Fagus sylvatica* (hêtre), les autres espèces étant *Carpinus betulus* (charme), *Quercus petraea* (chêne sessile), *Fraxinus excelsior* (frêne), *Prunus avium* (merisier),...

Ce site a été choisi d'une part parce qu'il comporte un dispositif expérimental utile à cette étude : présence de tours à flux (mesures des échanges gazeux) et d'une station météorologique et d'autre part parce qu'il est composé de parcelles de différents âges intéressantes pour mettre en évidence l'effet âge, et pour limiter l'effet sol.

Quatre parcelles d'âges différents ont donc été sélectionnées:

- parcelle 215 « hesse 2 » : elle a été mise en place en 2002, elle contient un jeune peuplement d'espèces feuillues en mélange (stade gaulis) (Thèse Marion Zapater, 2009). Les espèces échantillonnées sont : *Betula pendula* (Bouleau), *Carpinus betulus*, *Fagus sylvatica*, *Quercus petraea* et *Prunus avium*.

- parcelle 217 « hesse 1 » : elle a été établie durant l'hiver 1995-1996 dans une hêtraie (stade perchis) (Thèse Marion Zapater, 2009). Les espèces échantillonnées sont : *Betula pendula*, *Carpinus betulus*, *Fagus sylvatica*, *Quercus petraea* et *Prunus avium*.

Ces deux parcelles font parties des sites expérimentaux de Hesse. Elles sont chacune issues de régénération naturelle et équipée d'une tour de mesures des flux et d'un ensemble de capteurs microclimatiques. Les deux parcelles suivantes sont accolées aux parcelles expérimentales et font parties de la hêtraie.

- parcelle 218 : d'après l'observation des valeurs de la circonférence des arbres de cette parcelle qui se rapprochent de celles de la parcelle 217, on peut supposer que l'on est en présence d'un peuplement de stade perchis. Les espèces échantillonnées sont : *Betula pendula*, *Carpinus betulus*, *Fagus sylvatica*, *Quercus petraea*, *Fraxinus excelsior* et *Prunus avium*.

- parcelle 222 : de même, pour cette parcelle on remarque des valeurs de circonférence plus élevées que celle de la parcelle 217, on pourra donc penser que l'on a une futaie. Les espèces échantillonnées sont : *Betula pendula*, *Carpinus betulus*, *Fagus sylvatica*, *Quercus petraea*, *Fraxinus excelsior* et *Prunus avium*.

2. Espèces étudiées

Afin d'établir au mieux les relations inter et intraspécifiques, il a été choisi de faire les prélèvements de carottes sur le maximum d'espèces présentes sur ce site. Six espèces ont donc été retenues : *Betula pendula* (Bouleau), *Carpinus Betulus* (charme), *Fraxinus excelsior* (frêne), *Prunus avium* (merisier), *Fagus sylvatica* (hêtre) et *Quercus petraea* (chêne sessile). Mon analyse portera sur deux de ces six espèces : *Fagus sylvatica* et *Quercus petraea* dont les caractéristiques anatomiques sont différentes (**Tableau 1**).

Tableau 1 : Caractéristiques anatomiques du bois chez ces 2 espèces. (Thèse Riad Bakour, 2003 et Atlas d'Anatomie des bois des Angiospermes).

Espèce	Eléments de vaisseaux	Fibres	Parenchyme radial	Parenchyme longitudinal	Propriétés
<i>Quercus petraea</i>	Zone initiale poreuse (ZIP) dont les vaisseaux sont de gros diamètres (300 à 500µm) en début de cerne et de faible diamètre en fin de cerne (20µm minimum).	En plages dans le bois final	Rayons homocellulaires (toutes les cellules de rayons sont couchées) et de 1 à 10 cellules de large	Diffus, tangentiel ou associés aux vaisseaux	ZIP à « hétérogénéité » de distribution de vaisseaux dans le cerne
<i>Fagus sylvatica</i>	Zone à pore diffus (ZP) dont les vaisseaux ont un diamètre moyen compris entre 50 et 75 µm (30µm minimum)	Longues et en plage dans le bois	Rayons homocellulaires (toutes les cellules de rayons sont couchées) et de 1 à 10 cellules de large	Diffus	ZP à « homogénéité » de distribution de vaisseaux dans le cerne

2.1 Echantillonnage

a. Stratégie d'échantillonnage

Comme pour le choix des espèces, l'échantillonnage des arbres a été basé sur la diversité : arbre dominant et dominé (déterminé par la hauteur), arbre héliophile et sciaphile, arbre de circonférence différente, de position géographique différente. Dans l'analyse des deux espèces étudiées, cette diversité permettra d'obtenir une grande amplitude de données anatomiques du bois, ce qui donnera lieu à une bonne comparaison entre les caractéristiques anatomiques (largeur de cerne, nombre de vaisseaux/mm² et surface totale des vaisseaux/mm²).

b. Prélèvements des carottes de bois

Selon la stratégie d'échantillonnage définie précédemment, le prélèvement s'est effectué sur 4 arbres par parcelle et par espèce, soit un total de 28 arbres dont 16 *Q. petraea* et 12 *F. sylvatica*.

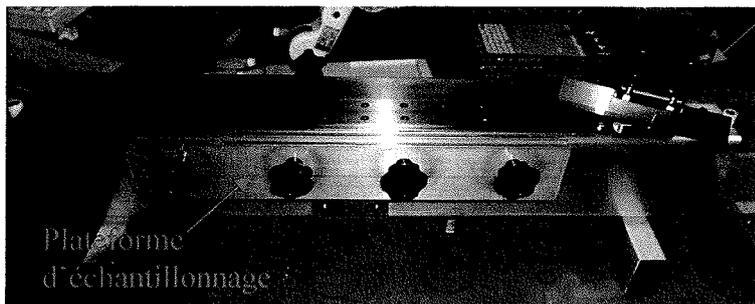
On notera que pour *F. sylvatica* 4 arbres n'ont pas été échantillonnés sur les parcelles 215 et 217 du fait d'arbres trop jeunes pour être carottés ou trop proches de la tour à flux. Sur chaque arbre, seulement deux échantillons ont été prélevés, pour limiter le nombre de blessures. De plus, la hauteur : 1,20 mètres et la profondeur : 10 cernes au minimum soit 10 années, de prélèvement sont identiques pour toutes les espèces. La hauteur de prélèvement étant basée sur une donnée standard établie par l'ONF, et la profondeur étant choisie pour observer, les effets du temps et des changements climatiques : en particulier la sécheresse de 2003. (*Annexe 2 : Caractéristiques des échantillons de Quercus petraea et Fagus sylvatica*).

2.2 Préparation des échantillons pour le traitement d'image

a. Le microtome

Le core-microtome est un appareil utilisé pour l'étude des cellules (Gärtner *et al.*, 2009). Le principe de ce microtome est de couper des surfaces planes d'échantillons de bois entiers pour l'analyse anatomique. Il est composé principalement d'une plateforme d'échantillonnage de 40 cm, réglable et d'un porte couteau mobile et pivotant de 70 cm (*Photo 1*).

Photo 1 : Le core-microtome



Porte
couteau
mobile

L'avantage de ce microtome est qu'il permet non seulement de couper des échantillons entiers de surfaces planes et parallèles mais aussi de voir clairement la structure des cellules (vaisseaux dans le cas du bois de feuillu) sans abimer les cernes. Ces deux paramètres sont très importants pour l'analyse anatomique du bois que nous avons réalisée dans cette étude.

b. Protocoles de préparation des échantillons

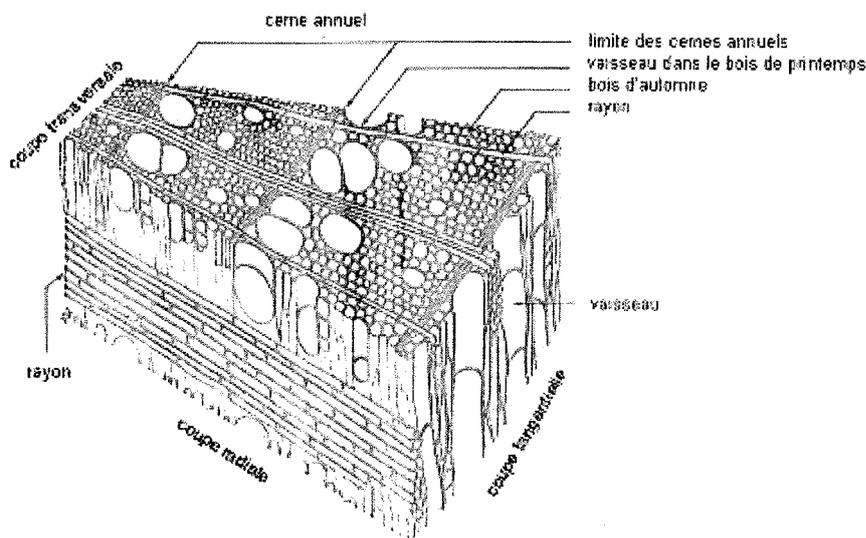
Les carottes de bois ont été placées à -20°C, afin de conserver la structure et les propriétés chimiques du bois. Cependant, effectuer une coupe sur un échantillon congelé peut endommager sa structure. En effet, si l'échantillon est sec et dur, les vaisseaux sont fragilisés et tendent à se casser lorsqu'on les coupe.

Il est donc nécessaire d'établir un protocole de préparation de ces échantillons afin de préserver au mieux leurs structures et leurs propriétés.

Dans le paragraphe suivant sera développé les deux protocoles qui ont été utilisés pour la préparation des carottes de *Quercus petraea* (chêne sessile) et de *Fagus sylvatica* (hêtre). On précisera que pour le traitement d'image, les coupes réalisées sur les carottes seront des coupes transversales afin d'observer au mieux la structure cellulaire du bois (**Fig.1 structure et plan du bois 3D**).

Fig.1 : Structure et plan du bois en 3D

(http://www.wolman.de/gfx_content/infocenter_holz/holzarten/FR-Aufbau%20der%20Laubhoelzer_klein.jpg)



➤ Protocole de préparation des carottes de *Quercus petraea* :

Le bois de chêne sessile est un bois à ZIP dont la distribution des vaisseaux dans le cerne est « hétérogène ».

Les carottes de bois encore congelées ont été positionnées sur la plateforme d'échantillonnage puis coupées avec un couteau en carbure de tungstène fixé au porte couteau suivant les réglages: angle de découpe : 2,8 cm et hauteur de découpe : tout les 0,2 mm (200 µm). On obtient alors des échantillons de 3,5 millimètres d'épaisseur finale moyenne. Seul l'échantillon massif ("surfacé") est observé (**Photo 1**).

Photo 1 : *Quercus petraea*



Ce protocole s'avère efficace et suffisant pour les carottes de chêne car il semblerait qu'il soit moins sensible à l'angle de découpe du fait de son hétérogénéité dans la distribution des vaisseaux (nombre de vaisseaux plus faible que chez le hêtre) c'est-à-dire que le nombre de vaisseaux abimés par la découpe serait moindre. Mais il n'est pas optimum, pour cela on aurait pu tremper les carottes dans de l'eau afin de les humidifier et de préserver au maximum la structure des cellules.

➤ Protocole de préparation des carottes de *Fagus sylvatica* :

Le bois de hêtre est un bois à ZP dont la distribution des vaisseaux est « homogène ».

Les carottes congelées ont tout d'abord été trempées dans de l'eau pendant environ 2h, pour humidifier la structure du bois et permettre de conserver sa structure cellulaire.

Ensuite ces carottes humides ont été placées sur la plateforme d'échantillonnage et coupées avec le couteau en carbure de tungstène suivant les réglages : angle de découpe : 0,9 cm et hauteur de découpe : tous les 0,5-0,7 mm (500-700 μm). On obtient des échantillons de 3,5 millimètres d'épaisseur finale moyenne. Seul l'échantillon massif ("surfacé") est observé (*Photo 2*).

Photo 2 : *Fagus sylvatica*



Ce protocole est très avantageux pour l'observation d'un maximum de vaisseaux sur une carotte étant donné les caractéristiques anatomiques du hêtre (pore diffus, distribution « homogène » des vaisseaux ce qui lui confère une plus grande sensibilité à l'angle de découpe : vaisseaux plus facilement dégradés du fait de leur grand nombre).

➤ Résumé du protocole de préparation : (Gärtner et *al.*, 2009)

Le meilleur protocole de préparation pour étudier l'anatomie du bois est donc : tout d'abord de tremper les carottes dans de l'eau pendant environ 2h, ce qui permet de conserver la structure du bois (préservation des vaisseaux). Ensuite de couper les échantillons avec un microtome sur lequel on monte un couteau en carbure de tungstène (métal très performant pour couper du bois : très coupant et solide) afin d'obtenir une coupe plane et parallèle, mais aussi de conserver les cernes et d'observer clairement les cellules du bois (vaisseaux, parenchyme, rayons). Les réglages de l'angle du couteau (sur porte couteau) et de la hauteur de coupe (sur plateforme d'échantillonnage) dépendent des caractéristiques anatomiques de l'espèce échantillonnée. Néanmoins il est préférable de prendre un angle inférieure à 1 cm pour abimer le moins possible la surface de l'échantillon (vaisseaux cassés ou bouchés). Enfin pour finir la préparation nous avons lyophilisé les échantillons à -10°C sous une pression de 60 Pa, 24h, pour conserver l'aspect et les propriétés de l'échantillon. Le principe de la lyophilisation ou « séchage à froid » est de surgeler un échantillon sous-vide, ce qui provoquera une évaporation de la glace sans passer par la phase liquide de l'eau. En effet lorsque l'on réchauffe la glace à basse pression, l'eau se sublime c'est-à-dire qu'elle s'évapore (état solide à gazeux). Cette vapeur d'eau qui sort de l'échantillon sera capturée par congélation à l'aide d'un condensateur= « piège à froid » placé à -50°C .

3. Dispositif analytique

3.1 Principe et appareillage du MEB

Le microscope électronique à balayage est un outil capable de produire des images en haute résolution de la surface d'un échantillon. En effet, il permet de réaliser des observations allant du millimètre au nanomètre.

Cette technique d'imagerie est basée sur l'interaction entre un faisceau incident d'électrons appelés aussi électrons primaires, et un échantillon. Il en résulte ainsi une émission de particules électroniques (secondaires, rétrodiffusés, transmis et Auger) et photoniques (rayons X, UV, Visible, IF,...).

Ces particules donnent lieu à un signal qui sera analysé par un détecteur et qui renseignera sur une des propriétés de l'échantillon (morphologie, topographie, nature et nombre des éléments le composant, structure cristalline, structure électronique,...).

Le MEB de l'INRA - Nancy (LEO 1450 VP – ZEISS) est un microscope à pression contrôlée (*Annexe 3*). Cela signifie qu'il peut fonctionner soit en mode « conventionnel », c'est-à-dire en vide poussé (pression allant de 10^{-3} à 10^{-4} Pa) soit en mode « pression contrôlée », où le vide n'est que partiel (pression pouvant atteindre 3 à 120 Pa dans la chambre). Ce vide permet l'observation d'échantillon sans préparation (séchage, métallisation pour le rendre conducteur aux électrons.).

3.2 Imagerie

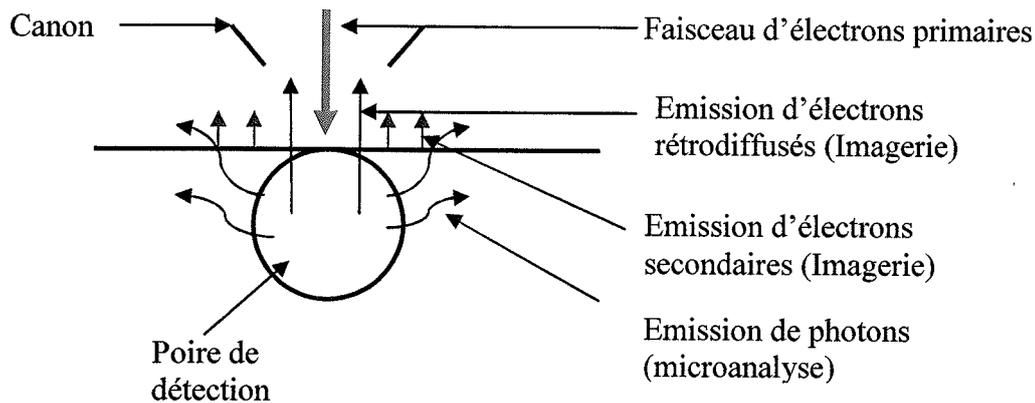
a. Formation et obtention de l'image (Microscopie électronique à balayage et microanalyse, F.BRISSET)

Afin d'obtenir une image des cernes et des vaisseaux du bois, nous avons utilisé le MEB. En effet ; comme nous l'avons dit précédemment, le MEB forme une image de la surface de l'échantillon par construction progressive, contrairement au microscope optique qui donne une image globale et simultanée de l'échantillon. Préalablement, les carottes de bois ont été « nettoyées » par un pulvérisateur d'air et du scotch (enlever les impuretés et enlever les thylles formés naturellement par les vaisseaux du bois), puis positionnées correctement sur la platine (vue de dessus des vaisseaux, rayons du bois parallèles à la platine) grâce à une observation à la loupe binoculaire.

Cette platine contenant 3 échantillons a été placée dans la chambre du MEB, que l'on a refermée. Ensuite grâce à un logiciel informatique : SMART SEM qui contrôle de manière électronique le MEB, nous avons fait le vide poussé dans la chambre ce qui permet de réduire les effets des gaz atmosphériques comme l'oxygène, de réduire les interactions avec le faisceau d'électrons et les interactions entre l'échantillon et son environnement, ainsi que de favoriser le dégazage du bois. Après cela nous avons envoyé un courant électrique dans une anode (ouverture du canon) pour produire une émission thermoélectronique, qui crée le faisceau électronique. Le principe de l'émission thermoélectronique est d'extraire les électrons par chauffage d'un matériau : filament en tungstène le plus utilisé et employé dans notre cas ou pointe en hexaborure de lanthane. Ce faisceau d'électrons sortant du canon va balayer la surface de l'échantillon grâce à deux paires de bobines de déflexions qui dévient le faisceau suivant deux axes perpendiculaires (X et Y). Suite à cette interaction entre le faisceau et la surface de l'échantillon, ce dernier va émettre à son tour des électrons (secondaires et rétrodiffusés dans le cas de la formation d'une image). Et enfin ce signal électronique a été collecté par un détecteur spécifique (BSD pour les électrons rétrodiffusés et utilisé pour notre manipulation, SE pour les électrons secondaires).

On notera que dans un MEB, aucune image réelle n'est formée, en effet les variations locales de l'intensité du signal collecté sont généralement liées à la topographie (électrons secondaires) ou à la composition de l'échantillon (électrons rétrodiffusés). (*Schéma 1*).

Schéma 1 : Obtention d'une image



b. Paramètres du MEB

Les principaux paramètres à régler pour obtenir une bonne image sont le grandissement, la vitesse de balayage, la définition. Ils se combinent à la tension d'accélération (EHT), la taille de la sonde, la pression de la chambre (VP), la distance de travail (WD), la hauteur de la platine par rapport à la lentille objective (=Z=résolution), le contraste et la brillance. Dans le tableau suivant, sont présentés, les paramètres utilisés pour les photographies de *Quercus Petraea* et *Fagus sylvatica*.

Espèce	Grandissement	Balayage (Secondes)	EHT (kV)	VP (Pa)	WD (mm)	Z (mm)	Contraste (%)	Brillance (%)
Quercus Petraea	90 fois	30,5	20	≈22	15	≈27	60	≈36,5- 37,5
Fagus sylvatica	78 fois	30,5	20	≈22	≈15	≈27	60	≈35 à 38

Pour chaque échantillon de chaque espèce, nous avons photographié les cernes des années 2000 jusqu'à 2006, dans l'intention d'obtenir un grand nombre de données sur les caractéristiques anatomiques du bois.

Photo 3 : Image prétraitée de *Q. Petraea*

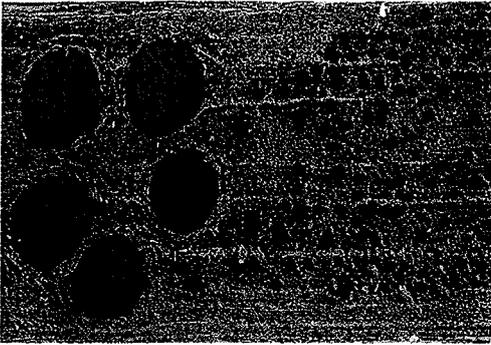


Photo 4 : Image prétraitée de *F. sylvatica*

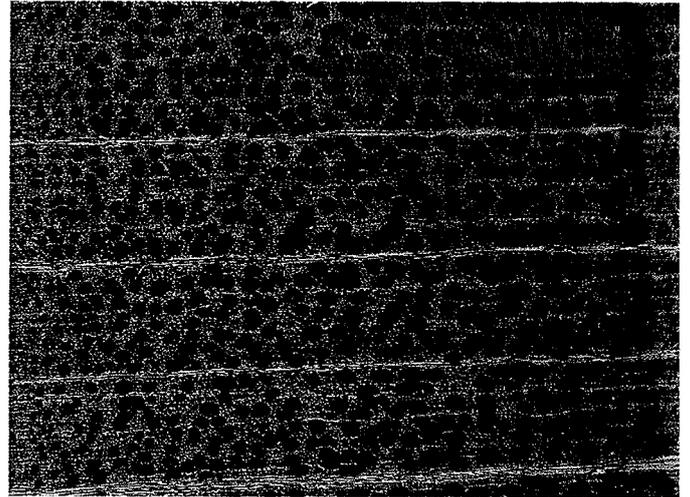


Image analysée de *Q. Petraea*

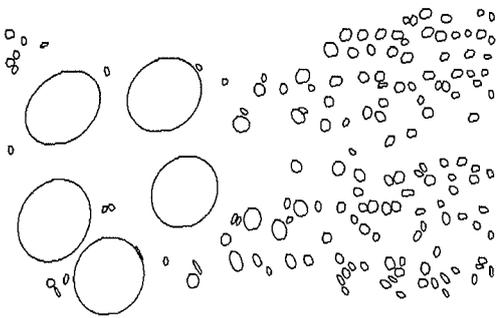
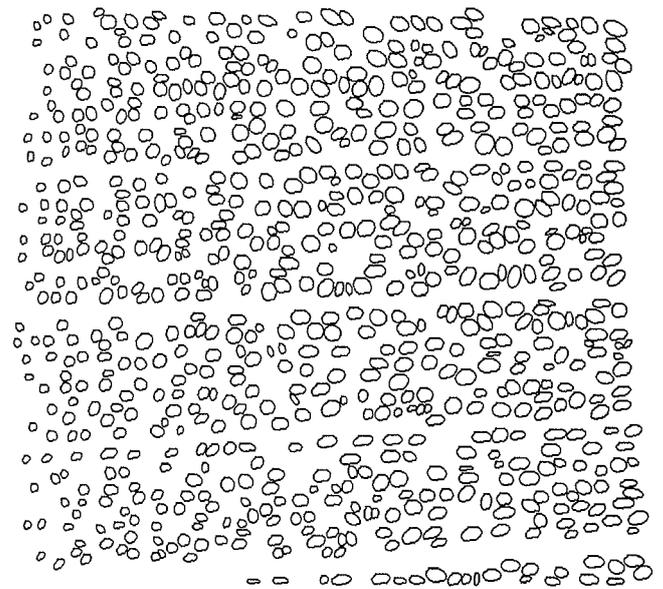


Image analysée de *F. sylvatica*



4. Analyse d'image et des résultats

4.1 Traitement d'image

Le traitement et le prétraitement des photographies des échantillons de *Q.Petraea* et *F.sylvatica* ont été réalisés par le logiciel Image J. Ce logiciel est très utilisé par la communauté scientifique du fait de ces multiples avantages : rapidité d'analyse de l'image et prétraitement de l'image (retouches de l'image) mais aussi parce que c'est un logiciel gratuit.

A partir de l'analyse d'image, nous avons obtenu la surface totale et le nombre de vaisseaux par cerne de chaque échantillon de *Q.Petraea* et *Fagus sylvatica* (**Photo 3 et 4**). Pour cela nous avons déterminé les paramètres suivants : échelle de l'image, seuil de l'image (=niveau de gris), définition de l'image et surface minimum des vaisseaux (**Tableau 2**).

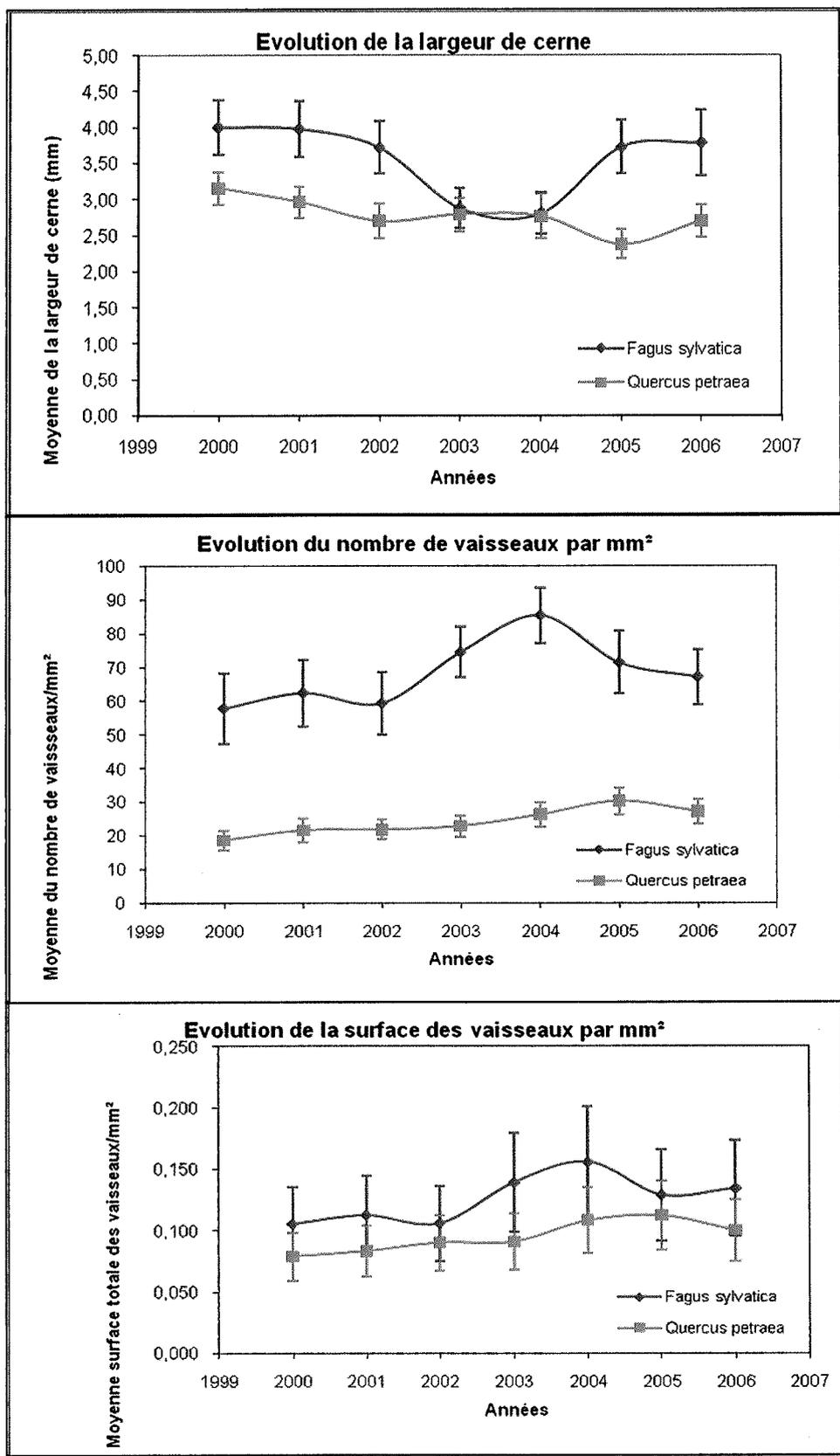
Tableau 2 : Paramètres de l'analyse des photos de *Quercus petraea* et *Fagus sylvatica*.

Espèce	Echelle de l'image	Seuil	Définition (pixels)	Surface minimum (μm^2)
<i>Quercus petraea</i>	1 μm =3,015 pixels	0,22	1024×706	314
<i>Fagus sylvatica</i>	1 μm =3,472 pixels	0,22	1024×706	707

Pour obtenir la surface de l'image analysée, nous avons utilisé le logiciel Visilog 9.6 avec lequel nous avons mesuré la largeur des cernes et la longueur de l'image analysée. Ce logiciel de traitement d'image permet aussi d'analyser les images, il est plus développé (plus de filtres d'analyse) et pratique à calibrer pour effectuer des mesures.

4.2 Traitement de données

Pour l'ébauche d'analyse des données numériques : surface et nombre des vaisseaux par cerne et par mm^2 et largeur de cerne, nous avons utilisés le logiciel Microsoft Excel 2003. A l'aide de ce logiciel nous avons réalisé des graphiques mettant en relation ces trois paramètres.



Résultats

Avant de commencer l'analyse des résultats, il serait utile de rappeler que l'objectif de mon stage est de déterminer quelles sont les relations existantes dans l'anatomie du bois de deux espèces forestières. Ainsi que l'impact de la sécheresse de 2003 sur l'anatomie de ces bois. De ce fait, et parce que il n'y a aucun effet visible de la parcelle et de la circonférence sur les paramètres anatomiques (largeur de cerne, nombre de vaisseaux/mm² et surface totale de vaisseaux/mm²), j'ai calculé la moyenne de ces paramètres pour chaque espèce et pour chaque année.

1. Evolution des caractéristiques anatomiques en fonction du temps et des conditions climatiques

Graphiques de l'évolution des caractéristiques anatomiques en fonction du temps et tableau des conditions pluviométriques et thermiques (Thèse de Marion Zapater, 2009).

Tableau des conditions pluviométriques et thermiques

Années	Température annuelle moyenne en °C	Précipitation annuelle (mm)
2003	10,7	648
2004	9,9	880
2005	9,5	716
2006	10,5	1005
2007	10,4	1207
Moyenne	10,2	891,2

Globalement, on observe que le hêtre a une largeur de cerne, un nombre et une surface de vaisseaux/mm² plus élevés que le chêne. En ce qui concerne l'évolution de ces paramètres anatomiques en fonction du temps, on remarque très clairement une forte diminution de la largeur de cerne chez le hêtre pendant les années 2003 et 2004. A l'inverse pendant cette même période, le nombre et la surface totale des vaisseaux par mm² augmente de façon considérable. Alors que chez le chêne, durant ces deux années, la largeur du cerne, le nombre et la surface totale des vaisseaux par mm² restent constants. On peut expliquer cette différence, par les conditions climatiques particulières qui ont eu lieu en 2003. Comme on peut le constater dans le tableau précédent, en 2003, la température moyenne est plus élevée (+0,5°C par rapport à la moyenne) alors que la pluviométrie est plus faible (-243,2 mm par rapport à la moyenne). En 2003, le climat était donc chaud et sec. Cette dernière caractéristique : sécheresse de 2003 (ayant provoqué une baisse d'assimilation de carbone) explique donc la diminution de la largeur de cerne. Cependant, on distingue aussi, une variation des paramètres anatomiques chez le chêne. En 2005, on voit une diminution de la largeur du cerne avec une augmentation du nombre et de la surface totale des vaisseaux par mm².

Figure 1 : Surface totale des vaisseaux par mm² en fonction du nombre de vaisseaux par mm²

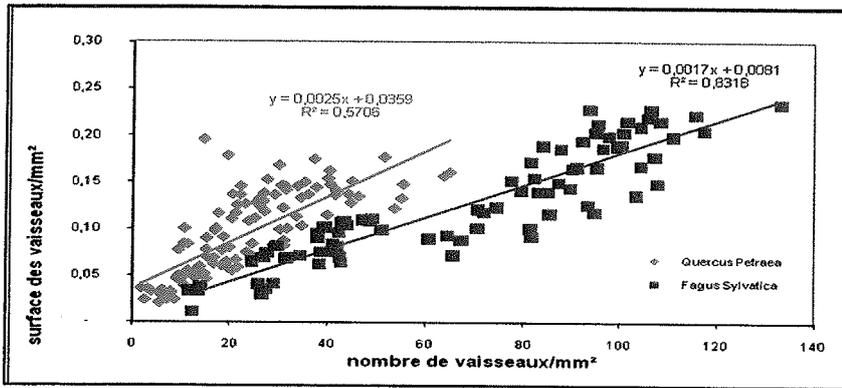


Figure 2 : Moyenne de la surface totale des vaisseaux par mm² en fonction de la moyenne du nombre de vaisseaux par mm²

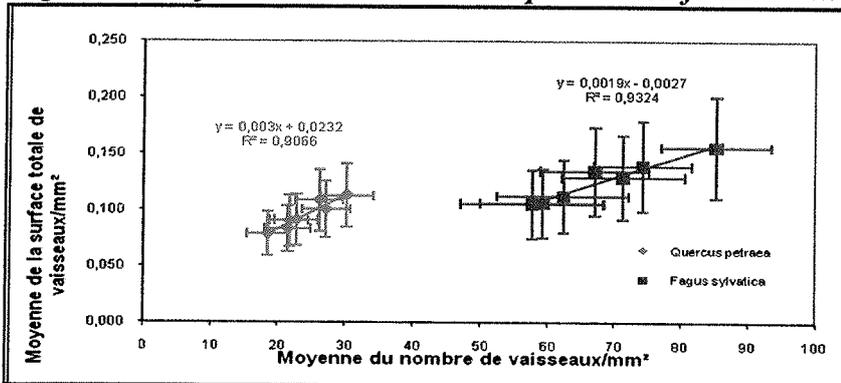


Figure 3 : Moyenne de la largeur de cerne en fonction de la moyenne du nombre de vaisseaux par mm²

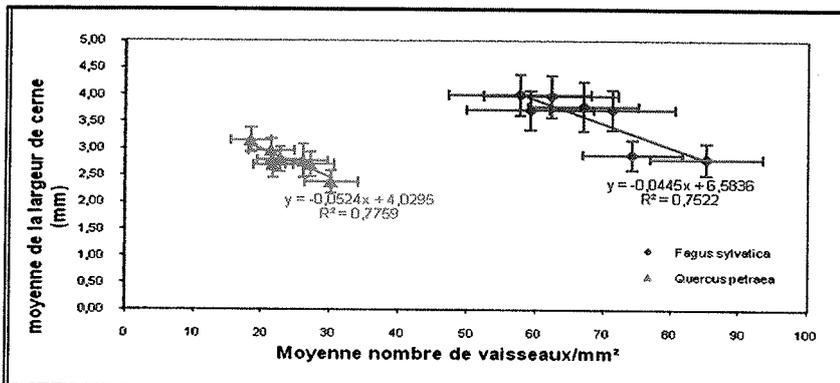
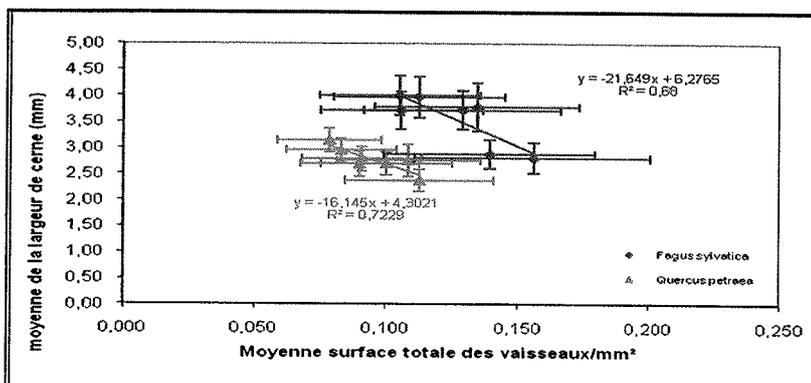


Figure 4 : Moyenne de la largeur de cerne en fonction de la moyenne de la surface totale des vaisseaux par mm²



Dans le tableau précédent, on se rend compte que l'année 2005 est marquée par des températures basses (-0,7°C par rapport à la moyenne) et de faible précipitation. Effectivement cette année a été marquée par une longue vague de froid (rapport de météo France), ce qui pourrait expliquer ces différences. Ces graphiques mettent donc en évidence, dans un premier temps, la sensibilité du hêtre à la sécheresse de 2003, qui se répercute sur l'année 2004 ; et la sensibilité du chêne en 2005, qui pourrait être due au froid et /ou à un effet tardif de la sécheresse. Puis dans un deuxième temps, on discerne une relation à tendance négative entre la largeur de cerne et le nombre et la surface totale des vaisseaux par mm², ainsi qu'une relation à tendance positive entre la surface totale des vaisseaux par mm² et le nombre de vaisseaux par mm².

2. Relation entre le nombre et la surface totale des vaisseaux par mm²

Le premier graphique (*Figure 1*), représente la surface totale des vaisseaux par mm² en fonction du nombre de vaisseaux par mm², de tous les arbres, afin de confirmer qu'il n'y a aucun effet de l'arbre (circonférence) et de la parcelle sur les paramètres anatomiques. On voit qu'il existe une relation positive entre ces deux paramètres aussi bien chez le chêne que chez le hêtre (indice de régression R² proche de 1 chez les deux espèces : 0,57 pour le chêne et 0,83 pour le hêtre).

Le deuxième graphique (*Figure 2*), représente aussi la surface totale des vaisseaux par mm² en fonction du nombre de vaisseaux par mm², mais cette fois-ci sur la moyenne des arbres par année. Il confirme cette relation positive entre la surface totale des vaisseaux par mm² et le nombre de vaisseaux par mm² (indice de régression R²: 0,91 chez le chêne et 0,93 chez le hêtre), ainsi que le fait qu'il n'existe pas ou peu d'effet de l'arbre et de la parcelle sur ces paramètres anatomiques.

Ces deux graphiques affirment donc la conclusion de la partie précédente, sur la relation positive qui existe entre le nombre et la surface totale des vaisseaux par mm². La surface totale des vaisseaux par mm² dépend donc du nombre de vaisseaux par mm² et pas l'inverse.

3. Largeur du cerne en fonction du nombre et de la surface totale des vaisseaux par mm²

Le troisième graphique (*Figure 3*), représente la largeur de cerne en fonction du nombre de vaisseaux par mm² et par année. On note, une relation négative entre ces deux paramètres quelle que soit l'espèce (R²=0,77 pour le chêne et 0,75 pour le hêtre).

Le quatrième graphique (*Figure 4*), lui représente la largeur de cerne en fonction de la surface totale des vaisseaux par mm². Comme pour le graphique précédent, on examine une relation négative entre ces deux paramètres quelle que soit l'espèce (R²=0,72 pour le chêne et 0,68 pour le hêtre).

Ces deux graphiques corroborent la conclusion de la partie précédente, sur la relation négative entre la largeur de cerne et le nombre et la surface totale de vaisseaux par mm². De plus il consolide le fait que la surface totale de vaisseaux par mm² dépend du nombre de vaisseaux par mm² puisqu'on obtient exactement la même relation entre ces deux paramètres et la largeur de cerne. La largeur de cerne dépend alors du nombre et de la surface totale des vaisseaux par mm².

Discussion/Conclusion

L'anatomie du bois (vaisseaux, fibres, parenchymes,...) est une caractéristique écophysiological constitutive des arbres (conduction de la sève brute et soutien). De plus selon les espèces cette anatomie varie, comme on a pu le constater chez *Q. petraea* et *F. sylvatica*. C'est pour cela, que l'objectif de mon stage a été d'établir une relation entre les différents paramètres anatomiques du bois (largeur du cerne, nombre et surface totale des vaisseaux par mm²) chez ces deux espèces forestières, ainsi que d'étudier l'impact de la sécheresse de 2003 sur ces paramètres. Les résultats obtenus, démontrent, qu'il existe une véritable relation entre les paramètres anatomiques de ces deux espèces : la surface totale des vaisseaux par mm² dépend du nombre de vaisseaux par mm² et la largeur de cerne est inversement proportionnelle à ces deux paramètres. Cette dernière relation, pourrait être expliquée indirectement par la densité du bois. Effectivement, nous savons que la densité du bois dépend de la nature et du nombre de fibre et que plus le bois est dense (nombre et surface totale des vaisseaux par mm² diminue), plus le bois final est développé et plus sa croissance est rapide (largeur de cerne augmente) et vice-versa. Outre cela, on constate que les paramètres anatomiques dépendent fortement du temps et particulièrement des changements climatiques comme la sécheresse de 2003, mais avec une réponse différente selon l'espèce. Cette variation, ainsi que l'hypothèse énoncée précédemment confirme et complète les deux premiers types de stratégies qui ont été mise en évidence, en réponse à une sécheresse édaphique (Thèse Marion Zapater, 2009) :

- espèces tolérantes à la sécheresse comme *Q. petraea* (Ponton *et al.*, 2001) comportant les caractéristiques suivantes : enracinement profond, potentiel hydrique de base peu négatif (faible sécheresse) et vulnérabilité à la cavitation (=germe d'air qui envahit et bouche les vaisseaux du bois empêchant la circulation de la sève xylémienne dans ces vaisseaux). D'après nos résultats on pourrait compléter ces caractéristiques physiologiques et anatomiques foliaires par les caractéristiques anatomiques du bois : Largeur de cerne, nombre et surface totale de vaisseaux par mm² constants.

- espèces les moins tolérantes à la sécheresse comme *F. sylvatica* avec un enracinement superficiel, un potentiel hydrique de base très négatif (forte sécheresse) et une forte résistance à la cavitation. Comme pour les espèces tolérantes à la sécheresse, on pourrait compléter ces caractéristiques par les caractéristiques anatomiques du bois : Largeur de cerne diminue, nombre et surface totale de vaisseaux par mm² augmentent.

En conclusion la diversité anatomique du bois de ces deux espèces en réponse à une sécheresse édaphique et probablement due aux différentes stratégies développées par ces espèces.

Néanmoins pour optimiser et améliorer la qualité de nos résultats et de nos relations, il est important de respecter scrupuleusement le protocole de préparation des échantillons décrit dans ce rapport, pour troubler le moins possible la surface des vaisseaux et donc limiter les erreurs dans le nombre et la surface totale des vaisseaux. Ce protocole pouvant être amélioré en ce qui concerne la découpe (angle de découpe) et le nettoyage (matériel utilisé) des échantillons.

Par ailleurs et dans cette même optique d'amélioration, on pourra aussi utiliser d'autres logiciels d'analyse d'image et de données. En effet, malgré sa performance d'analyse d'image la macro (analyse et met en place les filtres des images) du logiciel Image J a une marge d'erreur de 4,41% : chez le chêne, ce qui reste faible. Il pourrait donc être judicieux d'utiliser un ou plusieurs logiciels d'analyse d'image comme Visilog ou Aphélon, pour limiter cette erreur car ils offrent d'avantages de filtres pour le traitement d'images. Pour le traitement de données, on aurait pu utiliser un logiciel de traitement statistique comme R mais par manque de temps, nous avons utilisé Microsoft Excel 2003.

Ceci étant, les relations que nous avons obtenues avec ces méthodes sont correctes (indices de régressions proches de 1) et nous permettent d'approfondir la conclusion. On a conclu que la diversité anatomique du bois chez ces deux essences de feuillues en réponse à une sécheresse dépendait de la stratégie adoptée par ces espèces. Par ailleurs, les caractéristiques propres à ces stratégies dont la modification de l'anatomie du bois (potentiel hydrique de base, résistance à la cavitation,...) semblent dépendre de la capacité de ces espèces à acquérir leur ressource (carbone et eau : WUE). Effectivement, il semblerait qu'une espèce vulnérable à la cavitation allouerait son carbone aux racines (croissance en largeur= largeur de cerne grande) et aurait un potentiel hydrique de base peu négatif (faible sécheresse) (*Q. petraea*) alors qu'une espèce résistante à la cavitation allouerait son carbone aux branches (croissance en hauteur=largeur de cerne petite) et aurait un potentiel hydrique de base très négatif (forte sécheresse) (*F. sylvatica*) (Thèse Marion Zapater, 2009).

Pour confirmer cette hypothèse ainsi que les hypothèses sur la densité du bois et les stratégies développées en réponse à la sécheresse, on pourra étendre cette étude aux 6 espèces échantillonnées et développer plusieurs axes d'études qui seraient les suivants :

1. mesurer la densité du bois de chaque cerne, de chaque arbre pour confirmer qu'il existe une relation indirecte entre la densité du bois et les paramètres anatomiques du bois étudiés.
2. mesurer la discrimination isotopique en ^{13}C dans la cellulose des cernes de bois pour confirmer qu'il existe une relation entre WUE et l'anatomie du bois.
3. étudier l'impact des différents événements climatiques qui ont eu lieu de 2000 à 2006 : soit la sécheresse de 2003 et la vague de froid de 2005 qui semblent avoir un effet différent sur le *Q. petraea* et le *F. sylvatica* pour relier à nouveau l'anatomie du bois et les stratégies développées par ces espèces. D'autres parts, il serait intéressant de vérifier s'il pourrait y avoir un impact retardé de la sécheresse sur l'anatomie du bois de chêne (Diminution de la largeur des cernes en 2005).

Plus largement ces axes d'études permettraient d'affirmer ou d'infirmer qu'il y a une complémentarité de l'utilisation des ressources dans un peuplement mélangé (thèse de Marion Zapater, 2009). Ce qui serait très intéressant pour développer des outils ou des protocoles de gestion permettant de préserver au mieux la biodiversité forestière au vue de l'augmentation du nombre d'épisode de sécheresse dû aux changements climatiques.

Bibliographie

- ROUSSEL M. 2008. Variabilité intra spécifique de l'efficacité d'utilisation de l'eau dans une famille de chêne pédonculé (*Quercus robur* L.): causes physiologiques et/ou anatomiques. Thèse présentée pour l'obtention du titre de Docteur de l'Université Henri Poincaré, Nancy-I en Biologie Forestière, 216p.
- ZAPATER M. 2009. Diversité fonctionnelle de la réponse à la sécheresse édaphique d'espèces feuillues en peuplement mélangé : approches écophysiological et isotopique. Thèse présentée pour l'obtention du titre de Docteur de l'Université Henri Poincaré, Nancy-I en Biologie Forestière, 366p.
- BAKOUR R. 2003. Influence de l'espèce et des deux principaux chênes français (*Q. robur* L. ; et *Q. petraea* Liebl.) sur la structure anatomique et les propriétés physiques du bois de Merrain. Thèse présentée pour l'obtention du titre de Docteur de l'ENGREF, spécialité : Sciences Forestières et du Bois, 250p.
- ZAPATER M. 2005. Variabilité inter et intraspécifique de l'efficacité d'utilisation de l'eau et de la composition isotopique en ^{13}C sur un peuplement en mélange d'espèces feuillues. DEA de biologie forestière, Université Henri Poincaré, Nancy 1, 20p.
- S. PONTON, J.-L. DUPOUEY, N. BRÉDA, F. FEUILLAT, C. BODÉNÈS & E. DREYER 2001. Carbon isotope discrimination and wood anatomy variation in mixed stands of *Quercus robur* and *Quercus petraea*. Plant, Cell and Environment **24** : 861–868.
- WISSER L. 2009. Etude du rythme de croissance des arbres tropicaux. Recherche de marqueurs chimiques de la croissance radiale des arbres. Licence professionnelle Génie de l'Environnement et du Développement Durable, Université de Caen, 61p.
- M. ROUSSEL, E. DREYER, P. MONTPIED, G. LE-PROVOST, J.-M. GUEHL and O. BRENDEL 2009. The diversity of ^{13}C isotope discrimination in a *Quercus robur* full-sib family is associated with differences in intrinsic water use efficiency, transpiration efficiency, and stomatal conductance. Journal of Experimental Botany, Vol. 60, No. 8: 2419–2431.
- M. V. SKOMARKOVA, E. A. VAGANOV, M. MUND, A. KNOHL, P. LINKE, A. BOERNER, E.-D. SCHULZE 2006. Inter-annual and seasonal variability of radial growth, wood density and carbon isotope ratios in tree rings of beech (*Fagus sylvatica*) growing in Germany and Italy. Trees: 571–586.
- R. MONCLUS, E. DREYER, M. VILLAR, F. M. DELMOTTE, D. DELAY, J.-M. PETIT, C. BARBAROUX, D. LE THIEC, C. BRECHET and F. BRIGNOLAS 2005. Impact of drought on productivity and water use efficiency in 29 genotypes of *Populus deltoides* × *Populus nigra*. Journal compilation New Phytologist, 13p.
- MACAFARLANE C. et ADAMS M. A 1998. Delta ^{13}C of wood in growth-rings indicates cambial activity of drought-stressed trees of *Eucalyptus globulus*. Functional Ecology **12** : 655–664.

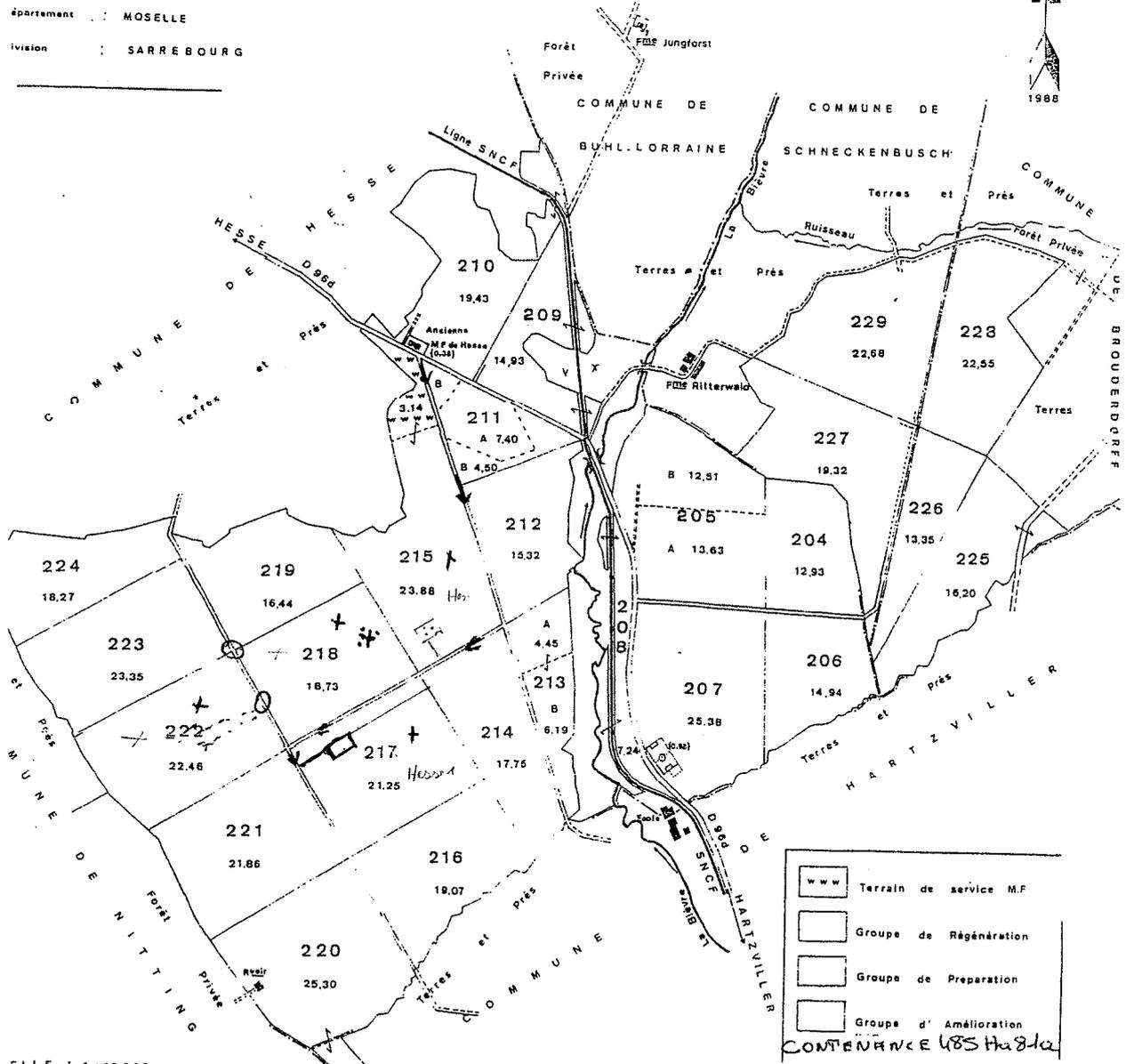
Annexe 1 : Carte du Site de Hesse

FORET DOMANIALE DE HESSE



OFFICE NATIONAL DES FORETS

Région : LORRAINE
 Département : MOSELLE
 Division : SARREBOURG



ELLE 1:10000

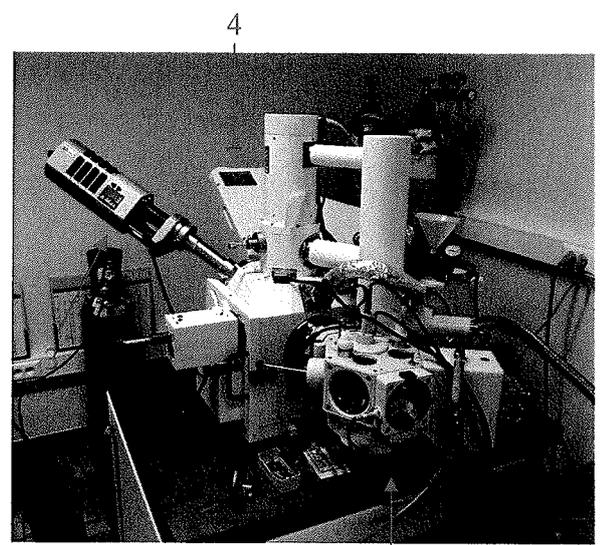
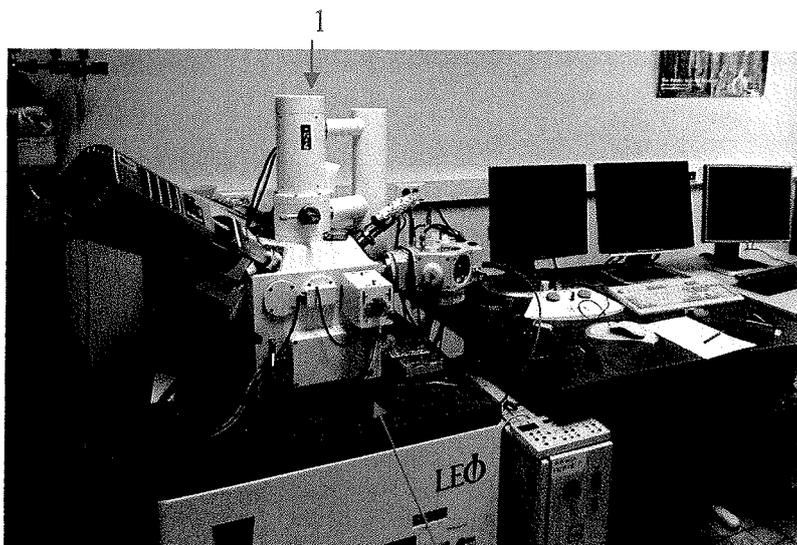
	Terrain de service M.F.
	Groupe de Régénération
	Groupe de Préparation
	Groupe d'Amélioration

CONTENANCE 485 Ha 81a

Annexe 2 : Caractéristiques des échantillons de *Quercus petraea* et *Fagus sylvatica*.

Espèce	circonférence (cm)	longueur de la carotte (mm)	épaisseur de la carotte après coupe transversale (mm)
Chêne	917	38	3,5
Chêne	926	73	3,5
Chêne	1020	70	3,5
Chêne	905	72	3,5
Chêne	645	65	3,5
Chêne	608	48	3,5
Chêne	492	66	3,5
Chêne	572	60	3,5
Chêne	351	38	3,5
Chêne	502	49	4
Chêne	417	58	3,5
Chêne	430	54	3,5
Chêne	219	34	3,5
Chêne	241	39	3,5
Chêne	222	34	3,5
Chêne	188	30	3,5
Hêtre	978	37	4
Hêtre	137	28	3,5
Hêtre	1222	50	3,5
Hêtre	1284	65	3,5
Hêtre	559	65	3,5
Hêtre	897	72	3,5
Hêtre	957	54	3,5
Hêtre	613	62	3,5
Hêtre	155	65	3
Hêtre	399	45	3
Hêtre	271	47	3,5
Hêtre	195	36	3,5
			Epaisseur moyenne=3,5

Annexe 3 : Le Microscope à Balayage Electronique (MEB) et les appareils associés



1. Canon à électrons
2. Chambre à vide du MEB
3. Spectromètre d'analyse des rayons X à sélection d'énergie (EDS)
4. Spectromètre d'analyse des rayons X à dispersion de longueur d'onde (WDS)
5. Cryoscope permettant de visualiser des échantillons congelés

Le MEB est aussi équipé de deux pompes à vide (une à pression secondaire et une à pression contrôlée), d'une caméra, de trois détecteurs (BSD, VPSE, SE), d'un moteur électrique et d'un système pelletier permettant de visualiser les échantillons à une température spécifique.

Canon du MEB

F. Roussel-Dierckx, F. Chahat, F. Grillon

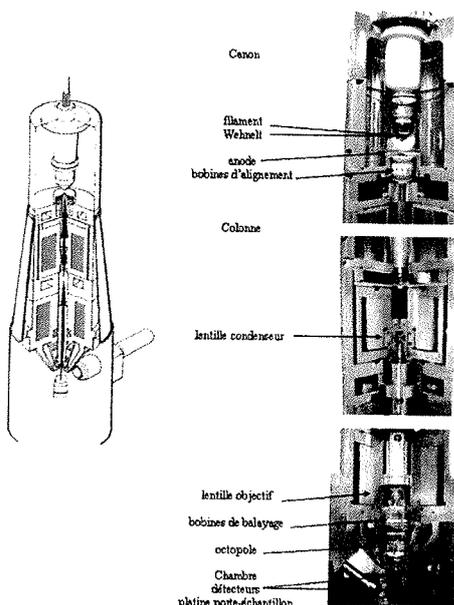


Figure 1. Schéma d'un MEB à excitation thermoelectronique et photographies de l'étruché d'un microscope (développé réalisée au CMTC par F. Curto)

Résumé

La relation entre les paramètres anatomiques du bois a été estimée chez deux espèces (*Quercus petraea* et *Fagus sylvatica*) d'une jeune forêt mixte du Nord-est de la France (Hesse, Lorraine). Ces espèces présentant des caractéristiques anatomiques différentes, notamment au niveau de la largeur de cerne, du nombre et de la surface totale des vaisseaux par mm². La comparaison entre les paramètres cités précédemment, nous a permis de mettre en évidence le fait que la surface totale des vaisseaux dépend du nombre de vaisseaux par mm² et pas l'inverse ; et aussi que la largeur de cerne est inversement proportionnelle à la surface totale des vaisseaux et au nombre de vaisseaux par mm².

L'autre objectif du stage était de comparer, l'évolution de ces paramètres anatomiques en réponse à la sécheresse de 2003. On a constaté, un effet important et immédiat de cette sécheresse sur le *Fagus sylvatica*, alors qu'aucun effet immédiat n'a été remarqué chez le *Quercus petraea*. Cette constatation nous permet de relier cette variation de sensibilité aux stratégies développées par ces espèces en réponse à une sécheresse édaphique (Thèse Marion Zapater, 2009). Le *Quercus petraea* étant une espèce tolérante à la sécheresse possédant les caractéristiques anatomiques du bois suivants : largeur de cerne, surface totale de vaisseaux et nombre de vaisseaux par mm² constants. Alors que le *Fagus sylvatica* est une espèce dite moins tolérante à la sécheresse avec les caractéristiques anatomiques suivantes : largeur de cerne faible, surface totale de vaisseaux et nombre de vaisseaux par mm² élevées.

Abstract

The relation between the anatomical parameters of the wood was estimated at two species (*Quercus petraea* and *Fagus sylvatica*) by a young mixed forest of the Northeast of France (Hesse, Lorraine). These species presenting different anatomical characteristics, in particular at the level of the width of ring, the number and the total surface of vessels by mm². The comparison between the parameters quoted previously, allowed us to bring to light the fact that the total surface of vessels depends on the number of vessels by mm² and not the opposite; and as well as the width of ring is conversely proportional on the total surface of vessels and the number of vessels by mm².

Other objective of the training course was to compare, the evolution of these anatomical parameters in answer to the drought of 2003. We noticed, an important and immediate effect of this drought on *Fagus sylvatica*, while no immediate effect was noticed at *Quercus petraea*. This observation allows us to connect this variation of sensibility with the strategies developed by these species in answer to a édaphique drought (Thesis Marion Zapater, on 2009). *Quercus petraea* being a tolerant species in the drought possessing the anatomical characteristics of the wood following: width of ring, total surface of vessels and number of vessels by mm² constant. While *Fagus sylvatica* is a less tolerant said species in the drought with the following anatomical characteristics: width of low ring, total surface of vessels and number of vessels by mm² high.