



**HAL**  
open science

# Relations entre les vitesses d'ouverture et de fermeture des stomates et le potentiel hydrique foliaires chez le chêne pédonculé et le peuplier noir

Laurent Justine

► **To cite this version:**

Laurent Justine. Relations entre les vitesses d'ouverture et de fermeture des stomates et le potentiel hydrique foliaires chez le chêne pédonculé et le peuplier noir. Sciences du Vivant [q-bio]. 2018. hal-02950910

**HAL Id: hal-02950910**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02950910>**

Submitted on 28 Sep 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.



2017/2018

## MASTER FAGE

Biologie et Écologie pour la Forêt, l'Agronomie et l'Environnement  
Spécialité Biologie Intégrative de l'Arbre et des plantes cultivées  
à la Faculté des Sciences et Technologies de Vandoeuvre-lès-Nancy

**Relations entre les vitesses d'ouverture et de fermeture des stomates et le potentiel hydrique foliaires chez le chêne pédonculé et le peuplier noir**

Justine LAURENT

Mémoire de projet tuteuré du 9/04/2018 au 22/06/2018

Encadrants :

Didier LE THIEC, Directeur de recherche

Oliver BRENDEL, Chargé de recherche

Equipe PHARE, UMR Silva-1434

Institut National de la Recherche Agronomique,

INRA Centre de Nancy, 54280 Champenoux

Jury :

Anthony GANDIN

Séverine PIUTTI

Alice MICHELOT

---

# Table des matières

## Abréviations

<b>g<sub>s</sub></b>	Conductance stomatique pour la vapeur d'eau	mmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
<b>A</b>	Assimilation nette du CO <sub>2</sub>	μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
<b>RWC</b>	Relative Water Content	%
<b>τ</b>	Constante de temps de g <sub>s</sub>	sec
<b>λ</b>	Temps de latence initial de g <sub>s</sub>	sec
<b>SLmax</b>	Pente maximum de g <sub>s</sub>	mol.m <sup>-2</sup> .s <sup>-2</sup>
<b>REW</b>	Réserve en eau relative du sol	(%)

## Remerciements

---

## Introduction

Les plantes supérieures possèdent une cuticule relativement étanche à la vapeur d'eau et au CO<sub>2</sub>. Afin de permettre les échanges de gaz entre l'intérieur de la feuille et l'atmosphère, les plantes ont développé des structures, appelés stomates, sur leur épiderme. Les stomates sont des cellules (appelées cellules de garde) qui délimitent de petits pores (ostiole) à la surface des feuilles. Le CO<sub>2</sub> entre à l'intérieur de la plante pour être fixé par la photosynthèse tandis que la vapeur d'eau sort de la plante par évapotranspiration. À ce titre, les stomates contribuent grandement au contrôle de l'état hydrique et à l'obtention de carbone de la plante.

L'assimilation nette du CO<sub>2</sub> dans la feuille (A) pendant la photosynthèse et la diffusion vers l'extérieur de la vapeur d'eau sont toutes deux contrôlées par la conductance stomatique (gs) qui représente le degré d'ouverture des stomates. L'ouverture stomatique est contrôlée par la différence de pression de turgescence entre les cellules de garde, entourant l'ostiole, et les cellules épidermiques des feuilles. Au sein de l'épiderme, l'accumulation et la redistribution des solutés entre les différents types et compartiments cellulaires jouent également un rôle majeur dans la régulation de la turgescence cellulaire et des mouvements des stomates induits par la turgescence (Schroeder *et al.*, 2001). Récemment, une série d'études (Brodrribb et McAdam, 2011 ; McAdam et Brodrribb, 2012a ; McAdam et Brodrribb, 2012b ; McAdam et Brodrribb, 2013 ; McAdam et Brodrribb, 2015) ont montré que les mouvements stomatiques des plantes vasculaires sont régis par deux types de processus : passif et actif. En effet, les cellules de garde sont soumises à des flux entrants et sortants d'ions (K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, Ca<sup>2+</sup>, H<sup>+</sup>) mais aussi à des flux de solutés (sucres, malate...) qui permettront la régulation de la pression de turgescence au sein des vacuoles des cellules de garde. Les variations de turgescence (entrée d'eau ou sortie par les aquaporines) créent des mouvements mécaniques qui permettront l'ouverture ou la fermeture des stomates via la déformation des parois fines, du côté extérieur des cellules de garde. Dans le cas d'une augmentation de la pression de turgescence, la déformation de la paroi permettra d'élargir le diamètre de l'ostiole et ainsi induire l'ouverture des stomates. Tandis qu'une perte de turgescence au sein des cellules de garde engendrera une diminution du diamètre de l'ostiole et donc aboutira à une fermeture des stomates.

Les stomates réagissent aux changements environnementaux, tels que l'intensité et la qualité de la lumière, la concentration du dioxyde de carbone atmosphérique, la température, le déficit de pression de vapeur d'eau de l'air, le vent... et des hormones végétales endogènes (ABA), en augmentant ou en diminuant leur ouverture. Les réactions stomatiques sont essentielles pour l'acclimatation d'une plante aux conditions environnementales (Assmann et Shimazaki, 1999 ; Hetherington et Woodward, 2003 ; Berry *et al.*, 2010) et, par conséquent, d'importants déterminants de la survie des plantes. Des études récentes ont montré que les temps de réponse stomatiques aux perturbations environnementales sont influencés par des caractéristiques anatomiques tels que la taille et la densité (Drake *et al.*, 2013 ; Raven, 2014), la

---

présence ou l'absence de cellules subsidiaires (**Franks et Farquhar, 2001**), ainsi que la forme des cellules de garde (**McAusland *et al.*, 2016**) et leur regroupement (**Papanatsiou *et al.*, 2016**).

Au début des années 1970, les réponses temporelles de la conductance stomatique ( $g_s$ ) ont été étudiées pour déterminer le degré de limitation de la photosynthèse ( $A$ ) et la régulation de la perte d'eau (**Woods et Turner, 1971 ; Davies et Kozlowski, 1974 ; Horie, 1978**). Il est connu qu'un  $g_s$  faible peut restreindre l'absorption du  $CO_2$  et donc  $A$  (**Farquhar et Sharkey, 1982 ; Barradas *et al.*, 1994 ; Barradas et Jones, 1996 ; McAusland *et al.*, 2016**), Tandis que les  $g_s$  élevées favorisent des taux plus élevés de  $A$  mais inévitablement au prix d'une plus grande perte d'eau par transpiration (**Barradas *et al.*, 1994 ; Naumburg et Ellsworth, 2000 ; Lawson *et al.*, 2010 ; McAusland *et al.*, 2013, 2016 ; Lawson et Blatt, 2014**). Il est important de noter que la photosynthèse et la conductance stomatique réagissent toutes deux à des fluctuations de lumière, mais les réponses stomatiques sont plus lentes que la réponse photosynthétique, entraînant un découplage entre  $A$  et  $g_s$  dans les environnements de lumière dynamique (**Kirschbaum et Percy, 1988 ; Tinoco-Ojanguren et Percy, 1993 ; Lawson et Weyers, 1999 ; Lawson *et al.*, 2010, McAusland *et al.*, 2016**).

La plupart de ces premières études étaient basées sur des augmentations et des diminutions d'intensité de la lumière, révélant une variation exponentielle ou sigmoïdale de  $g_s$  avec le temps. La réponse de  $g_s$  à un changement d'intensité de la lumière a été initialement évaluée comme le temps pour que  $g_s$  atteigne un nouvel état stable ( $G_s$ ) au nouveau niveau de lumière ou un pourcentage de cette valeur comme estimateur de la rapidité de réponse (**Woods et Turner, 1971 ; Davies et Kozlowski, 1974 ; Grantz et Zeiger, 1986 ; Dumont *et al.*, 2013**). Récemment, un modèle sigmoïdal dynamique a été développé par **Violet-Chabrand *et al.* (2013)** pour analyser la réponse temporelle de  $g_s$  en estimant le temps de latence initial ( $\lambda$ ), une constante de temps ( $\tau$ ) et l'amplitude de la réponse entre les valeurs en régime permanent.

La conductance stomatique diminue généralement avec la diminution du potentiel hydrique des feuilles. De plus, en condition de sécheresse les plantes ont tendance à fermer leurs stomates afin de minimiser les pertes en eau. C'est pour cela que le potentiel hydrique foliaire est corrélé très significativement avec la transpiration ; il décroît très rapidement dans la matinée lorsque les stomates sont ouverts.

En fin de journée, le potentiel hydrique remonte ce qui correspond à la fermeture des stomates. Si le potentiel hydrique devient trop faible, le transport de l'eau peut cesser complètement, via la cavitation, menant finalement à une dessiccation complète et à la mort des plantes (**Tyree *et al.*, 2012 ; Tyree et Sperry, 1988 ; Tyree et Zimmermann, 2002**). Il existe plusieurs mécanismes par lesquels les plantes peuvent réguler le transport de l'eau pour éviter les défaillances hydrauliques, y compris les ajustements structurels et physiologiques (**Maseda & Fernández 2006**). Cependant, à des échelles de temps courtes,

la fermeture des stomates est le principal mécanisme par lequel les plantes limitent les pertes par transpiration et maintiennent ainsi les potentiels hydriques dans des limites tolérables. Par contre, l'impact de la sécheresse sur la réponse dynamique des stomates à un changement de lumière est moins bien connu.

L'objectif de mon stage était de mettre en évidence d'éventuelles relations entre potentiel hydrique, potentiel osmotique et les vitesses d'ouverture et de fermeture des stomates au cours d'une sécheresse. Notre hypothèse émise est que cette vitesse est dépendante du potentiel hydrique.

Durant cette étude, nous avons choisi deux espèces : le chêne pédonculé et le peuplier noir. Afin de suivre l'évolution et la vitesse des mouvements stomatique chez ces dernières nous avons appliqué deux intensités lumineuses différentes. Cette cinétique stomatique a été mesurée à différents états hydriques des feuilles, modulé par une sécheresse progressive appliquée au sol. De plus, au cours de nos expériences nous avons mesuré les potentiels hydriques et osmotiques des feuilles ainsi que leur teneur relative en eau (Relative Water Content, %) afin de déterminer si une corrélation existe entre la vitesse des mouvements stomatiques et l'état hydrique général des feuilles.

## **Matériel et méthodes**

### **I. Matériel : composition et provenance**

Deux essences végétales ont été mises à disposition pour ces expérimentations : le chêne pédonculé et le peuplier noir (génotype N38). Ces deux espèces ont été cultivées sous serre en conditions contrôlées dans des pots contenant un sol constitué de 30% de tourbe, 50 % de sable et 20% de sol provenant de Mondon. Nos plants de chêne sont issus de boutures prélevées en 2016 sur des arbres qui ont été cultivés un an en pépinière. Au total, nous avons 6 plants de chêne dont 3 d'une provenance moyennement sec et 3 d'une provenance humide ainsi que 4 plants de peuplier (boutures plantées en 2018). Nos boutures en pots ont été fertilisées avec 14g de Nutricote (NPK/Mg, 13-13-13/2) en 2017 (pour les chênes), puis deux fois avec 8g depuis 2018. Et enfin le débourrement des feuilles a eu lieu courant mai 2018. Les pots contenant nos plants sont numérotés par des numéros de palette afin d'être identifiés et manipulés par un automate convoyeur et d'irrigation POLLUX.

### **II. Condition de croissance : la serre**

La serre est maintenue à 18°C durant la nuit et à 25°C pendant la journée, tandis que l'intensité et la qualité lumineuse fluctuent au cours de la journée et en fonction des saisons. Elle est équipée d'un robot qui, grâce à un système de déplacement continu des pots, permet d'homogénéiser les conditions climatiques et atmosphériques pour tous les plants. La gestion de cet automate est permise par un

programme de pilotage des conditions via un interface PC tactile. Les données produites sont enregistrées quotidiennement sous forme de fichiers «.csv» dans une base de donnée (BD). Ce système automatisé permet également à chaque cycle de rotation du pot, dans la serre, de mesurer son poids et ainsi de déterminer un volume et une fréquence d'arrosage en fonction d'une valeur consigne préalablement définie par l'expérimentateur (**voir annexe 1**). De ce fait, l'intensité de la sécheresse du sol est maintenue par un arrosage contrôlé qui compense les pertes évapotranspiratoires (**Buré et al. 2015**). En pot, le niveau de sécheresse édaphique appliqué est déterminé à partir d'une calibration entre l'humidité volumique du substrat, mesurée manuellement par TDR (time domain reflectometry), et sa masse. Le principe étant que pour une condition de sécheresse donnée, le pot sera pesé afin d'atteindre la valeur de consigne. Un ajustement sera réalisé, *via* la différence entre la masse mesurée et la consigne, du volume d'eau par l'arrosage automatique. Le volume est prélevé dans un réservoir et est délivré avec une incertitude de  $\pm 2\text{mL}$ .

### **III. Méthodes**

Un suivi de la conductance stomatique a été effectué à la fréquence de 2 jours par semaine durant un mois. Pour chaque semaine, l'humidité du sol a été progressivement descendue afin d'appliquer quatre niveaux de sécheresse à nos différents plants. Suite à la mesure de la cinétique stomatique, les potentiels hydriques et osmotiques de nos feuilles ont été mesurés. De plus, un taux de RWC a été calculé grâce à des pesées de masses fraîche, sèche et en pleine turgescence. L'ensemble des résultats a été analysé par Excel puis par le logiciel R (Project for Statistical Computing).

#### **1. La conductance stomatique à la vapeur d'eau**

Une fois que l'état de sécheresse du sol voulu est atteint, nous avons réalisé des mesures de cinétique de gs en faisant varier l'intensité lumineuse (de 1200 à 100 puis retour à 1200  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ). Les cinétiques de gs ont été mesurées avec 3 appareils de mesures d'échanges gazeux (LiCor, modèle 6400). L'appareil est un outil qui permet de mesurer les échanges gazeux des végétaux à l'échelle de la feuille afin de déterminer les paramètres photosynthétiques et de conductance stomatique à la vapeur d'eau (gs). C'est un système non destructeur qui permet d'obtenir des mesures dans un environnement donné (serre, champs) et dans des conditions définies et contrôlées (température, humidité relative, concentration en  $\text{CO}_2$ , et intensité lumineuse). L'appareil est piloté par une interface qui mesure et enregistre 48 variables liées aux teneurs en  $\text{CO}_2$  et  $\text{H}_2\text{O}$ , aux températures et aux intensités lumineuses (**Beauclair et Jacquet, 2003**). Le principe repose sur la mesure différentielle du  $\text{CO}_2$  et de la vapeur d'eau. Cette différence de concentration est obtenue à partir d'un flux d'air qui entre et qui sort de la chambre de mesure, de part et d'autre d'une portion de feuille. C'est un système dit ouvert car l'air traverse continuellement cette

---

chambre. Le taux d'absorption de CO<sub>2</sub> est utilisé pour évaluer le taux de photosynthèse, tandis que le taux de perte d'eau sert à évaluer le taux de transpiration (*équation ci-dessous*).

$$\text{Photosynthesis} = \frac{\text{Flow} \times \Delta\text{CO}_2}{\text{Area}} \quad \text{Evapotranspiration} = \frac{\text{Flow} \times \Delta\text{H}_2\text{O}}{\text{Area}}$$

L'appareil dispose de deux pièges à H<sub>2</sub>O et à CO<sub>2</sub> qui permettent de contrôler la concentration en CO<sub>2</sub> et en H<sub>2</sub>O de l'air entrant. Les capteurs de mesure sont deux IRGA (Infra Red Gaz Analyzer) affectés l'un à l'air de référence, et l'autre à l'air soumis à l'échantillon. De plus, le système est équipé de refroidisseurs thermoélectriques pour le contrôle de la température et de capteurs de lumière pour un contrôle de l'éclairage.

## 2. Le potentiel hydrique

Après chaque mesure de cinétique, le potentiel hydrique de nos feuilles a été mesuré *via* une chambre à pression de type Scholander. La feuille est prélevée avant la mesure afin de ne pas perdre de l'eau suite à la scission du pétiole. Le pétiole est amputé à son extrémité, au niveau de son insertion sur le nœud, à l'aide d'une lame de rasoir pour ne pas écraser les tissus. Il est ensuite introduit dans l'orifice du couvercle où l'étanchéité sera faite autour de celui-ci avant de placer la feuille dans la chambre de mesure. La chambre est mise sous pression très progressivement. Le potentiel hydrique est noté lors de l'apparition d'humidité sur la section du faisceaux ligneux du pétiole. Cette valeur en bar (1 bar = 0,1MPa) correspond à la pression de la chambre . A noter que cette valeur de potentiel hydrique est toujours négative et donc la valeur négative de la pression affichée lors de nos mesures.

## 3. Relative Water Content

Suite aux mesures de potentiel hydrique, afin de déterminer un taux d'eau relative dans nos feuilles, les masses fraîches totales de ces feuilles ont été pesées. Après pesée des masses fraîches totales, les pétioles de ces feuilles ont été mis en solution dans de l'eau afin d'obtenir le lendemain (24h après) les masses fraîches totales en pleine turgescence. Après la pesée des masses fraîches totales en pleine turgescence, les deux limbes ainsi que la nervure principale ont été découpés à l'aide d'un scalpel. La nervure principale ainsi qu'une moitié de la feuille ont été pesées tandis que l'autre moitié de la feuille a été insérée dans une seringue, et mis au congélateur, afin de mesurer le potentiel osmotique ultérieurement. Pour finir, les autres limbes et les nervures principales de chaque plants ont été placés à l'étuve afin d'obtenir après 24 heures leurs masses sèches. Les masses fraîches (MF), masses fraîches en pleine turgescence (MFT) et masses sèches (MS), nous ont permis d'estimer le contenu relatif en eau (RWC) de nos feuilles.

$$\text{RWC (\%)} = \frac{\text{MF} - \text{MS}}{\text{MFT} - \text{MS}} \times 100$$

### 3. Le potentiel osmotique

Les moitiés de limbe contenues dans les seringues ont été plongées dans de l'azote liquide, afin de lyser les cellules et ainsi libérer les solutés intracellulaires. Ces solutés intracellulaires ont été mesurés via un osmomètre de type WESCOR 5500 afin de déterminer le potentiel osmotique de chacune de nos feuilles. L'osmomètre à pression de vapeur Wescor 5500 nécessite un volume d'échantillon de seulement 10 microlitres qui est déposé sur un disque. L'élément de détection est un hygromètre à thermocouple à fil fin qui mesure la pression de vapeur de la solution en comparaison avec une référence. Les avantages de cette méthode de pression de vapeur proviennent du fait qu'elle ne nécessite pas de modifier l'état physique de l'échantillon.

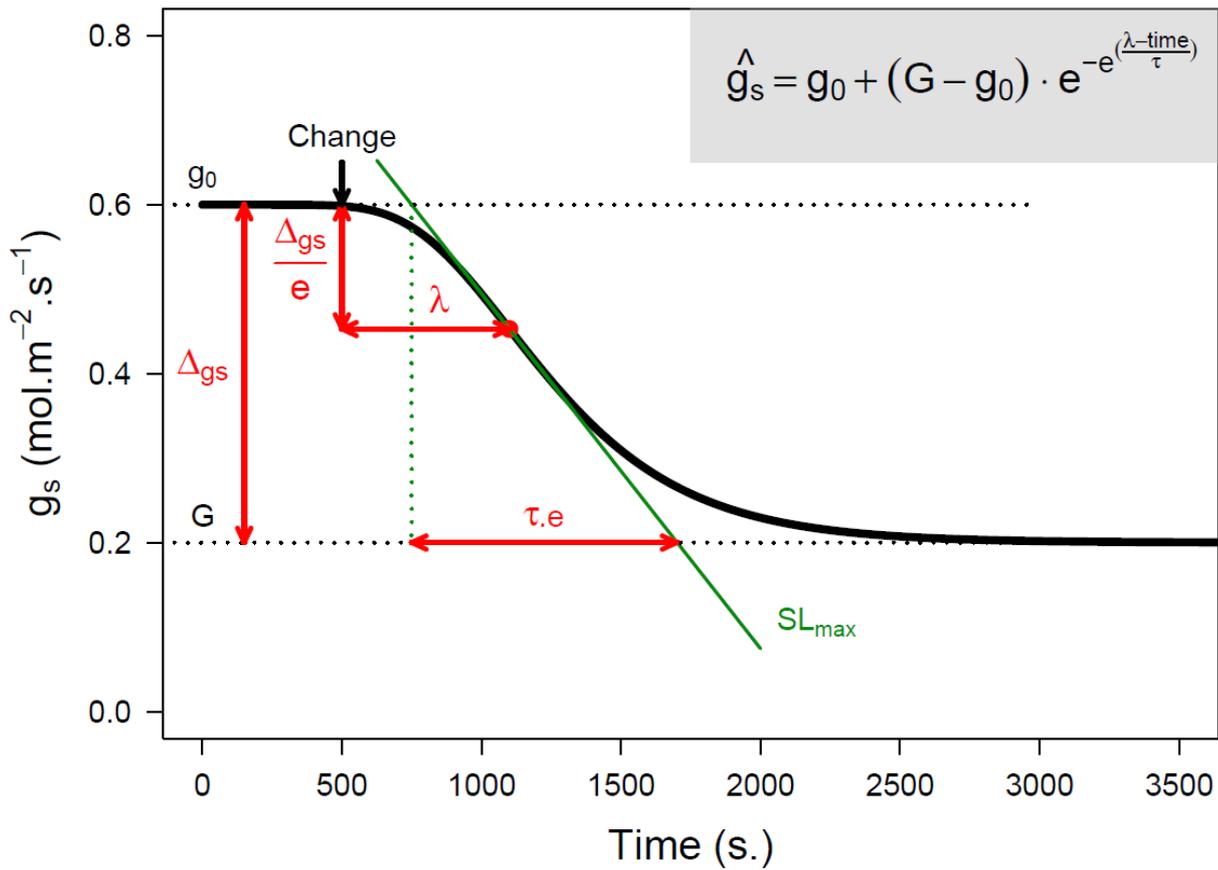
### IV. Analyse des données et statistiques

Dans un premier temps, les fichiers Licor ont été traités avec Excel afin d'obtenir les paramètres des  $gs_0$  (à  $1200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ),  $gs_1$  (à  $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ),  $gs_2$  (retour à  $1200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) en « steady state » pour les différents plants. Les valeurs de masses fraîches, sèche et en pleine turgescence ont été reportées sur Excel afin d'estimer le taux RWC. Les valeurs de potentiel hydrique et osmotique ont également été reportées en fichier « .cvs » dans le but de réaliser des corrélations avec la conductance sur le logiciel R. Au final, à partir du logiciel R, des corrélations entre  $gs$  et le potentiel hydrique ont été réalisés et traités, mais également des corrélations entre  $gs$  et le RWC, ainsi que les corrélations entre  $gs$  et le potentiel osmotique. Parallèlement les fichiers Licor ont été convertis en fichier « .csv » afin d'être utilisés par le logiciel R. Deux scripts ont été réalisés pour le traitement des données sous le logiciel R. Le premier script servant à sélectionner les valeurs de  $gs_0$ ,  $gs_1$  et  $gs_2$  en « steady state », lors des changements de l'intensité lumineuse. Ces données ont été réutilisées pour le second script qui a permis de réaliser des sigmoïdes de ces conductances (voir schéma ci-dessous). Des tests de corrélation ont été utilisés avec un niveau de significativité  $p > 0,05$  et les coefficients de corrélations  $R^2$  permettent d'apprécier l'importance de cette corrélation.

**Schéma :** Ajustement et équation de la sigmoïde lors de la fermeture des stomates en fonction du temps.

$gs_0$  correspond à la conductance initiale (à  $1200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) et  $G$  qui correspond à la conductance après le changement de l'intensité lumineuse (à  $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) ; ces 2 conductances ont été déterminées en « steady state ». De plus, Le paramètre  $SL_{\text{max}}$  correspond à la pente maximale qui a été ajustée par rapport à la sigmoïde.  $SL_{\text{max}}$ , quant à lui, définit la pente maximale qui a été ajustée par rapport à la sigmoïde. Pour finir, les paramètres de vitesse  $\tau$  et  $\lambda$  représentent respectivement la constante de temps, déterminée avec  $SL_{\text{max}}$  et les 2 plateaux de  $gs_0$  et  $G$ , et le temps de latence initial qui a été déterminé à

partir du point de changement de l'intensité lumineuse et le point d'inflexion de la sigmoïde.



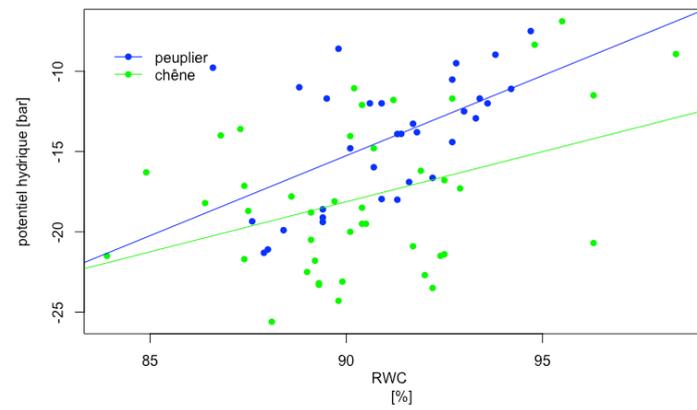
**Résultats : Suivi de la dynamique de la conductance stomatique en réponse à des modifications de lumière**

Il est important de faire attention à la graduation de ces graphiques. En effet, en condition de stress, le potentiel hydrique devient de plus en plus négatif et le RWC diminue. Le type de graphique est un graphique en nuages de points (XY). Les points de couleur verte représentent les chênes, tandis que les points de couleur bleue représentent les peupliers. Les droites de régression sont uniquement présentes lorsque les tests de corrélation sont significatifs. De plus, les valeurs de conductance initiales (gs0) en « steady state » ont été utilisées comme paramètre pour faire les relations corrélations avec les paramètres hydriques de la deuxième partie des résultats.

**1. Potentiel hydrique et Relative Water Content (RWC) / Potentiel hydrique et potentiel osmotique**

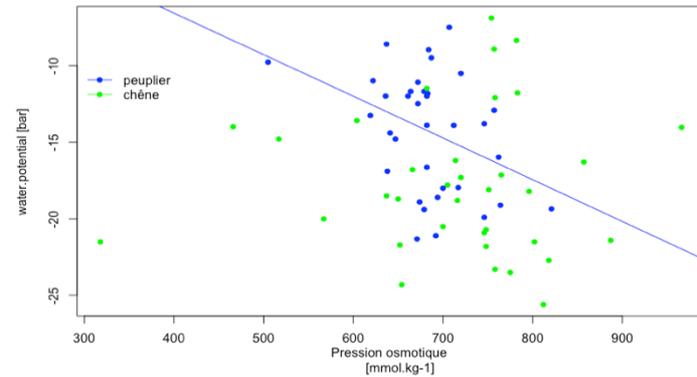
**Figure 1** : Relations entre le potentiel hydrique et la teneur relative en eau chez le chêne (vert) et le peuplier (bleu).

( $p = 0,0095, r^2 = 0,1354, y = 0,6321x - 74,2144$  ;  $p = 0,00134, r^2 = 0,2628, y = 0,9963x - 104,9272$ ).



Pour les deux espèces, il y a des corrélations positives significatives. En condition de sécheresse, le potentiel hydrique est plus faible/diminue.

**Figure 2 :** Relation entre la pression osmotique et le potentiel hydrique chez le chêne (vert) et le peuplier (bleu). ( $p = 0,0242$  ,  $r^2 = 0,1186$ ,  $y = - 0,02721x + 4,31117$ ).



Il y a une corrélation négative significative uniquement chez le peuplier. En condition de sécheresse, lorsque le potentiel hydrique est très négatif, la quantité de solutés augmente dans nos feuilles.

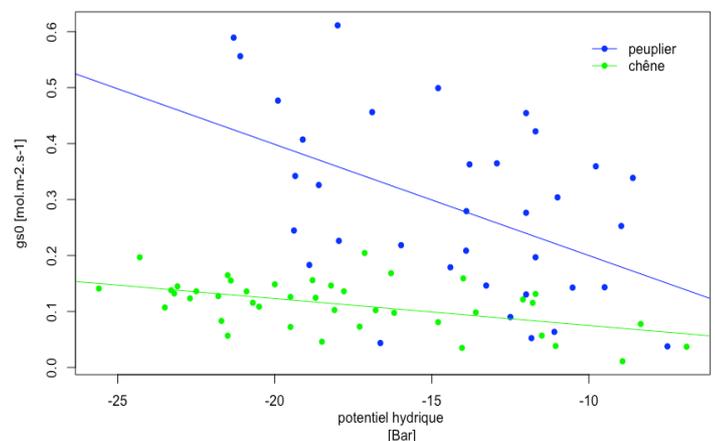
## 2. Relation entre la conductance initiale (gs0) et le potentiel hydrique, le potentiel osmotique et RWC

**Figure 3 :** Relation entre gs0 et les différents paramètres hydriques chez le chêne (vert) et le peuplier (bleu).

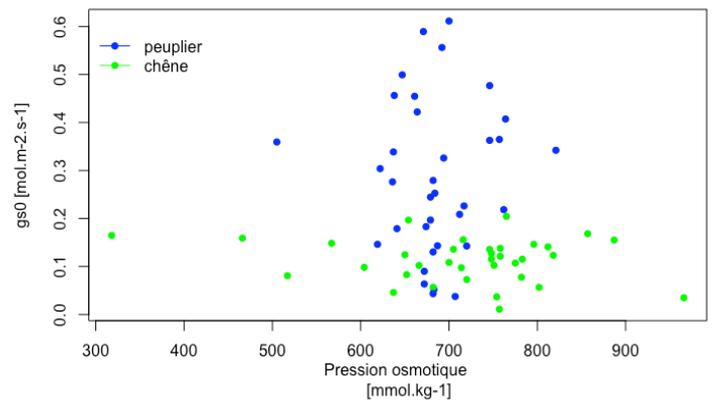
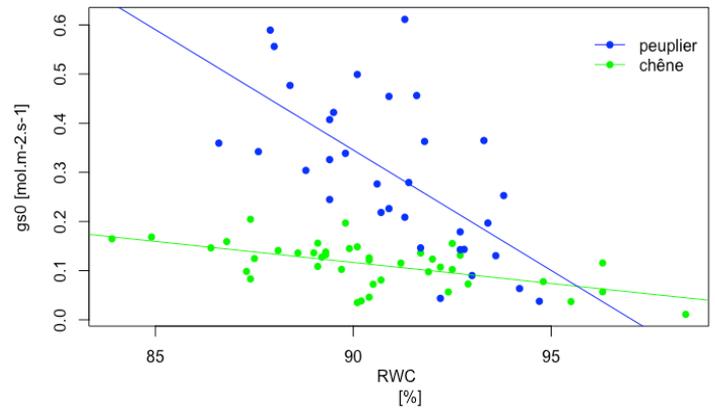
A noter que le peuplier possède des valeurs de gs0 plus élevées et une variabilité de gs0 plus importante, tandis que le chêne possède des valeurs de gs0 plus faibles et plus stables. *A contrario*, le chêne possède une variabilité plus importante pour les paramètres hydriques.

Pour le **potentiel hydrique**, il existe une corrélation négative significative chez le chêne ( $p = 0,00048$ ,  $r^2 = 0,2468$  ,  $y = -0,004818x + 0,026690$ ) et le peuplier ( $p = 0,00321$  ,  $r^2 = 0,2111$  ,  $y = -0,0198820x + 0,0007787$ ). Le peuplier possède une gamme de variabilité légèrement moins importante, que le chêne, pour les valeurs de potentiel hydrique.

A noter, que les stomates sont plus ouverts lorsque le potentiel hydrique est faible (condition de sécheresse).



Pour le **RWC**, il y a des corrélations négatives significativement différentes pour le chêne ( $p = 5,311.10^{-5}$ ,  $r^2 = 0,322$ ,  $y = -0,008576x + 0,888375$ ) et le peuplier ( $p = 4,426.10^{-5}$ ,  $r^2 = 0,4023$ ,  $y = -0,04899x + 4,75383$ ). Ici encore, le chêne possède encore une gamme de variabilité plus importante, que le peuplier, pour le paramètre RWC. A noter, que les stomates sont plus ouverts lorsque le RWC est faible (condition de sécheresse).



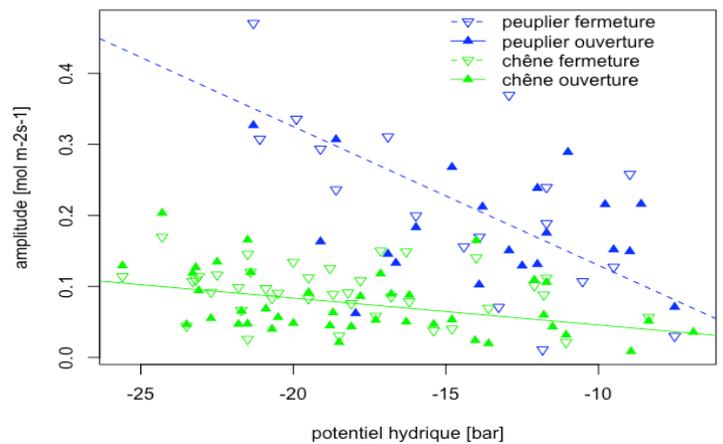
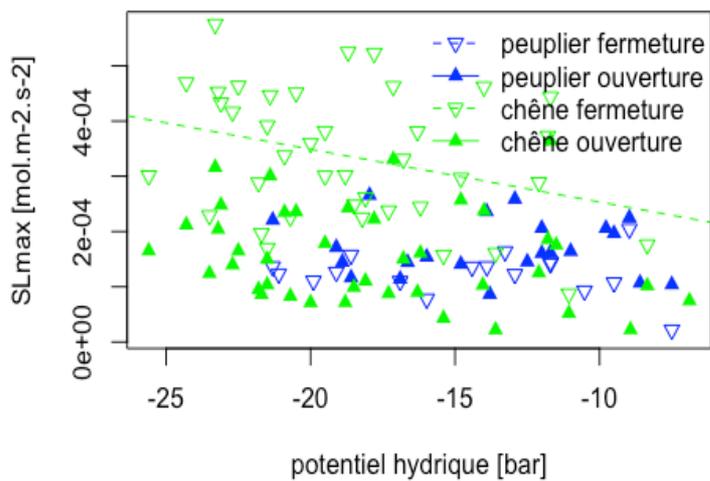
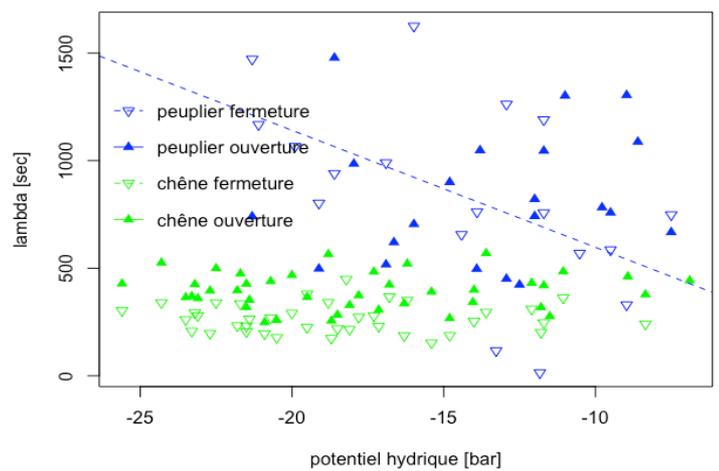
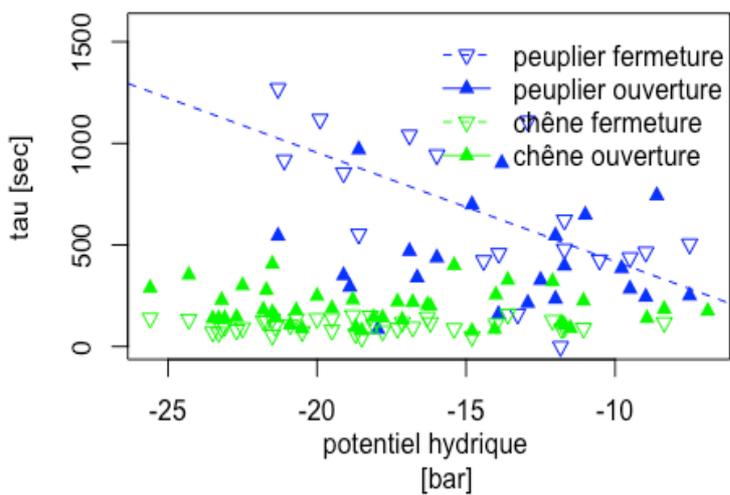
Pour la **pression osmotique**, il n'y a pas de corrélation pour les deux espèces. Néanmoins comme pour les 2 graphiques précédents, le chêne possède une gamme de variabilité de la pression osmotique plus importante que chez le peuplier.

### 1. Relation entre les paramètres en lien avec la vitesse d'ouverture et de fermeture des stomates et le potentiel hydrique, le potentiel osmotique et RWC

Ici, ceux sont toujours des graphiques en nuages de points (XY). Les triangles de couleur verte représentent les chênes, tandis que les triangles de couleur bleue représentent les peupliers. De plus, les triangles orientés vers le haut représentent l'ouverture des stomates et les triangles orientés vers le bas représentent la fermeture des stomates. Les droites de régression sont uniquement présentes lorsque les résultats sont significativement différents. Pour finir, les droites de régression en trait continu représentent les corrélations pour les ouvertures stomatiques, tandis que les droites de régression en trait discontinu représentent les corrélations pour les fermetures stomatiques.

A noter, que pour les relations entre les paramètres hydriques et les paramètres de la conductance stomatique représentées dans les figure 4, 5 et 6, les vitesses d'ouverture et fermeture diminuent quand la sécheresse s'accroît.

**Figure 4 :** Relations du potentiel hydrique avec les paramètres tau, lambda, SLmax et l'amplitude de la conductance stomatique



Pour le paramètre **tau**  $\tau$  , il y a une corrélation négative significative pour la fermeture stomatique chez le peuplier ( $p = 0,003324$  ,  $r^2 = 0,3901$  ,  $y = -53,59x - 117,38$ ). A noter, les valeurs de  $\tau$  pour l'ouverture et la fermeture stomatique sont plus élevées chez le peuplier. De plus,  $\tau$  décroît lorsque le potentiel hydrique est proche de zéro.

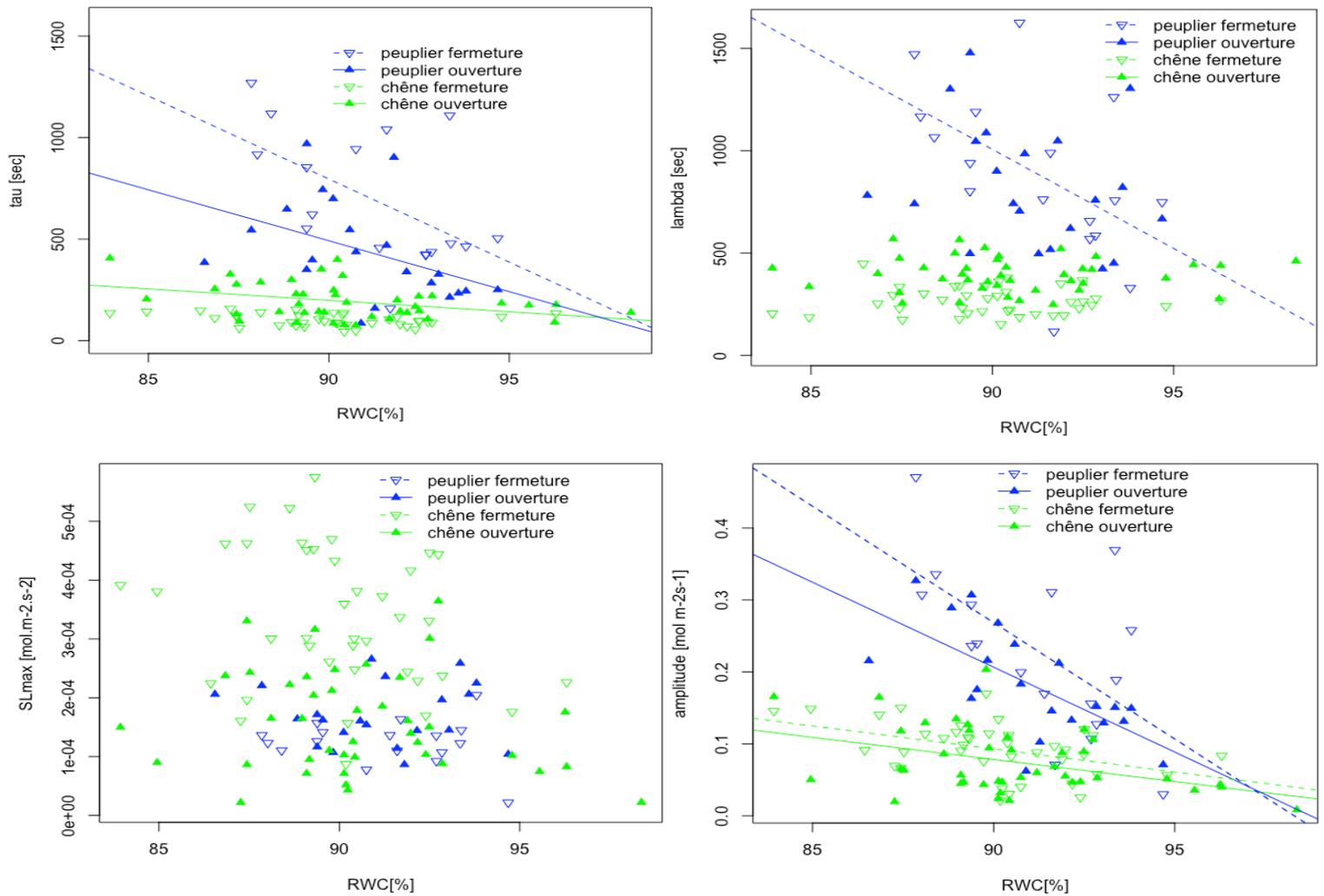
Pour le paramètre **lambda**  $\lambda$  , il y a également une corrélation positive significative pour la fermeture stomatique chez le peuplier ( $p = 0,02066$  ,  $r^2 = 0,2475$  ,  $y = -54,37x + 53,60$ ). De même que le précédent graphique, les valeurs  $\lambda$  pour l'ouverture et la fermeture stomatique sont plus élevées chez le peuplier, que chez le chêne, et  $\lambda$  décroît lorsque le potentiel hydrique est proche de zéro.

Pour le paramètre **SLmax**, il y a une corrélation négative significative pour la fermeture stomatique le chêne ( $p = 0,03984$  ,  $r^2 = 0,0852$  ,  $y = -9,555 \cdot 10^{-6}x + 1,579 \cdot 10^{-4}$ ). Ici, l'interprétation des résultats est plus difficile car il y a une très grande gamme de variabilité chez le chêne. Néanmoins, les valeurs de SLmax chez le chêne semblent plus élevées.

Pour le paramètre **amplitude**, il y a des corrélations négatives significatives pour la fermeture stomatique chez

le peuplier ( $p = 0,00165$  ,  $r^2 = 0,438$  ,  $y = -0,019529x - 0,0065537$ ) et pour l'ouverture stomatique chez le chêne ( $p = 0,007685$  ,  $r^2 = 0,1472$  ,  $y = -0,003796x + 0,007483$ ). De plus, les valeurs de l'amplitude sont plus élevées chez le peuplier.

**Figure 5** : Relations de RWC avec les paramètres tau, lambda, SLmax et l'amplitude de la conductance



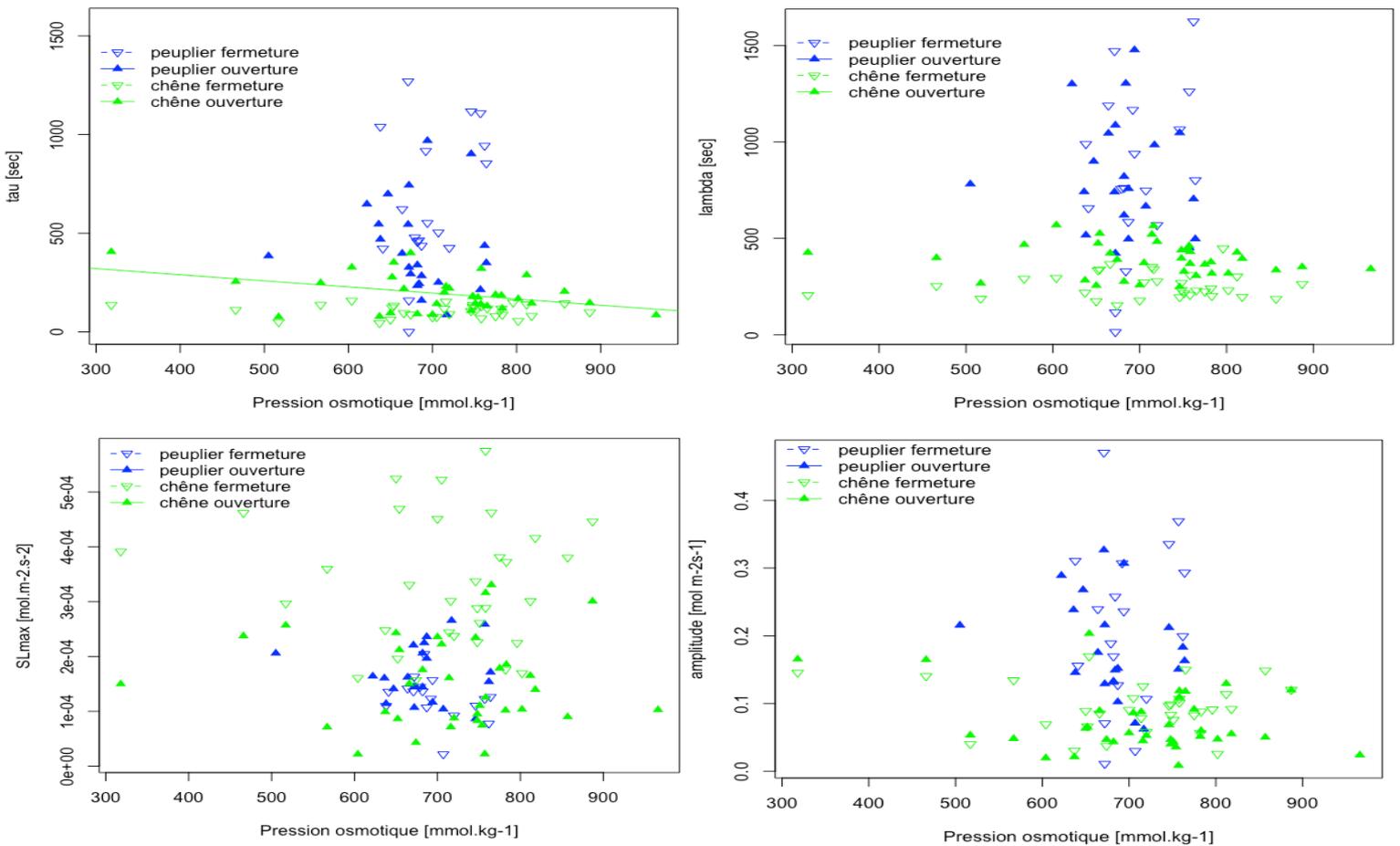
Pour le paramètre **tau**  $\tau$  , il y a des corrélations négatives significatives pour l'ouverture et la fermeture stomatique chez le peuplier (respectivement  $p = 0,04712$  ,  $r^2 = 0,1492$  ,  $y = -50,17x + 5007,47$  ;  $p = 0,0226$  ,  $r^2 = 0,2543$  ,  $y = -81,76x + 8154,08$  ) et une corrélation négative significativement différente pour l'ouverture stomatique chez le chêne ( $p = 0,01376$  ,  $r^2 = 0,1239$  ,  $y = -11,239x + 1210,169$ ). A noter, que les valeurs de tau  $\tau$  sont plus élevées chez le peuplier et nous devinons les valeurs de  $\tau$  sont plus élevées lors de la fermeture. Pour le paramètre **lambda**  $\lambda$  , il y a une corrélation négative significative pour la fermeture stomatique du peuplier ( $p = 0,0273$  ,  $r^2 = 0,2373$  ,  $y = -96,85x + 9723,58$ ). A noter, que les valeurs de  $\lambda$  sont plus élevées chez le peuplier.

Pour le paramètre **SLmax** , il n'y a pas de corrélation et l'interprétation est rendue difficile par la grande

variabilité du chêne.

Pour le paramètre **amplitude**, il y a des corrélations négatives significatives pour l'ouverture et fermeture stomatique chez le peuplier ( $p = 0,00079$ ,  $r^2 = 0,4266$ ,  $y = -0,02361x + 2,331456$  ;  $p = 0,009153$ ,  $r^2 = 0,3317$ ,  $y = -0,03235x + 3,18010$ ) mais également pour le peuplier ( $p = 0,007594$ ,  $r^2 = 0,1476$ ,  $y = -0,006159x + 0,632548$  ;  $p = 0,005228$ ,  $r^2 = 0,1705$ ,  $y = -0,006401x + 0,668984$ ). De plus, les valeurs d'amplitude sont encore une fois plus élevées chez le peuplier.

**Figure 6** : Relations de la pression osmotique avec les paramètres tau, lambda, SLmax et l'amplitude de la conductance stomatique



Pour le **paramètre tau**  $\tau$ , il y a une corrélation négatives significative pour l'ouverture stomatique du chêne ( $p = 0,01484$ ,  $r^2 = 0,1416$ ,  $y = -0,3093x + 413,1005$ ). A noter, le peuplier possède une grande gamme de variabilité pour  $\tau$ , tandis que  $\tau$  est plus stable chez le chêne.

Pour les 3 autres paramètres ( $\lambda$ , **SLmax** et **l'amplitude**), il n'y a pas de corrélation entre ces paramètres et la pression osmotique.

## DISCUSSION

En condition de sécheresse, le potentiel hydrique diminue et le potentiel osmotique augmente chez nos deux espèces. En effet, la quantité d'eau à l'intérieur des cellules de la plante diminue lorsque la plante est sous stress hydrique, alors que la quantité de solutés augmente ; on parle de régulation osmotique. La régulation osmotique fait intervenir la synthèse de différents solutés (sucres, prolines, composés ammonium quaternaire), qui permettront la mobilisation / rétention des molécules d'eau au sein des cellules, afin de maintenir un équilibre hydrique au sein de celle-ci. Sous sécheresse, la conductance stomatique augmente chez nos deux espèces. Ces résultats sont surprenants car notre hypothèse de départ était qu'en condition de stress (potentiel hydrique et RWC faible)  $g_s$  aurait dû diminuer, impliquant une ouverture moins forte des stomates afin d'éviter les pertes en eau, or ici les stomates sont plus ouverts en conditions de stress. Néanmoins, grâce à nos résultats nous avons pu estimer que la conductance du peuplier était plus forte que celle du chêne et chez le peuplier il y avait une gamme de variabilité de  $g_s$  beaucoup plus importante ( $g_s$  entre 0,05 et 0,60 mol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>) mais une variabilité pour les paramètres hydrique des feuilles beaucoup plus faible que chez le chêne. A contrario, le chêne possédait une gamme de  $g_s$  beaucoup plus constante en condition de contrôle que sous stress ( $g_s$  entre 0,02 et 0,18 mol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>) mais une variabilité beaucoup plus importante au niveau des paramètres hydriques. De ce fait, nous pouvons dire que le peuplier noir est une espèce qui joue sur la conductance stomatique pour réguler son état hydrique, tandis que les chênes maintiendraient leur état hydrique en jouant sur la régulation osmotique.

Il a été démontré que  $g_s$  était influencée par la densité stomatique (**Drake et al., 2013 ; Raven, 2014**). Pour faire une corrélation entre la densité stomatique de nos deux espèces, les expériences de **Théo Gérardin et Maxime Durand**, durant leurs thèses, ont révélé que le peuplier possédait une densité stomatique moins importante, c'est à dire un nombre plus restreint de stomates sur ces feuilles, que le chêne. Néanmoins, le peuplier possède des stomates sur la face inférieure et la face supérieure de ses feuilles (**Viger et al., 2016**), contrairement au chêne qui ne possède des stomates que sur une seule face. Dans nos résultats, nous avons reportés que le  $g_s$  du peuplier était plus important que le  $g_s$  du chêne, c'est à dire que le degrés d'ouverture de l'ostiole est plus important chez le peuplier. Il est peut être envisageable que , pour le peuplier, posséder des stomates sur les deux faces foliaires lui permettrait d'avoir plus de stomates ouverts et donc un  $g_s$  plus élevée pour une même surface foliaire projeté ??? (non ? ).

Pour la vitesse d'ouverture et fermeture des stomates, ce paramètre quant à lui est influencé par la taille global du stomate (**Drake et al., 2013 ; Raven, 2014**). En effet, pour des raisons mécaniques un stomate plus gros mettra plus de temps à se fermer qu'un stomate de petite taille. Des informations comme la forme des stomates (**McAusland et al., 2016**) influence également la vitesse stomatique. Néanmoins pour le peuplier noir et le chêne la forme des stomates est la même (forme elliptique) et les résultats de **Théo Gérardin et Maxime Durand** ont révélés que la taille des stomates des deux espèces était quasiment similaire. Les paramètres de

vitesse stomatique ;  $\tau$  et  $\lambda$  augmentent avec des potentiels hydriques plus négatives et des RWC plus bas, reflétant un mécanisme beaucoup plus lent que dans un milieu non stressé. A noter, que pour chaque paramètres hydriques, SLmax semblait plus fort chez le chêne reflétant une vitesse stomatique plus rapide que chez le peuplier. Une fois de plus ici, chez le peuplier il y avait une forte variabilité des paramètres cinétiques stomatiques, tandis que chez les chênes, les paramètres cinétiques stomatiques étaient plus constants (dans un même ordre de gamme). Toutefois, durant nos expérimentations nos résultats montrant la diminution de la vitesse d'ouverture et fermeture des stomates, sous sécheresse, sont beaucoup plus marqués lors de la fermeture, indiquant que la fermeture est plus rapide que l'ouverture stomatique ?? (Ooba et Takahashi 2003 ; Vico *et al.*, 2011 ; voir le graphique représentant  $\tau$  en fonction du potentiel hydrique sur la **figure 5**). Nous pouvons donc affirmer que la vitesse des stomates chez le peuplier noir est plus lente que la vitesse des stomates chez le chêne.

D'un point de vue d'adaptation à la sécheresse, la vitesse stomatique met en évidence une plus grande sensibilité des chênes à la sécheresse édaphique, ils ferment rapidement leurs stomates. Tandis que chez le peuplier le taux de fermeture stomatique plus lent exerce une plus faible résistance à la sécheresse. De plus, il serait avantageux que la fermeture des stomates soit plus rapide que l'ouverture, car cette réaction tendrait à maximiser l'efficacité de l'utilisation de l'eau (Jones *et al.* 1994). Pour conclure sur notre hypothèse principale, le potentiel hydrique ne semble pas influencer la conductance stomatique. En effet, au cours de nos expériences nous avons remarqué que les gs étaient plus forts lorsque les potentiels hydriques et les RWC étaient faibles ; reflétant des stomates plus ouverts en condition de sécheresse. Cette forte ouverture chez le peuplier noir devrait lui conférer une transpiration plus importante que le chêne (taux non déterminé). Ici, l'hypothèse où le potentiel hydrique influence le degrés d'ouverture des stomates est incorrecte. La mesure du potentiel hydrique du sol serait probablement une meilleure piste pour caractériser la régulation stomatique par un signal hormonal provenant des racines. En effet, tel que rapporté par Schulze (1986) et Davies et Zhang (1991), le stress hydrique du sol pourrait déclencher des signaux radiculaires stimulant la réactivité stomatique.

## **Références**

1. Buré, A Bénard , MB Bogeat-Triboulot, O Brendel, P Gross, I Hummel, D Le Thiec & F Radnai (2015) Un automate d'irrigation contrôle la sécheresse et quanti e la transpiration chez de jeunes arbres. *Cah. techn. I.N.R.A 2016* : 75-83.
2. P Beauclaire & A Jacquet (2003) Manuel simplifié d'utilisation de l'analyseur de photosynthèse Li-cor LI-6400. *Cah. techn. I.N.R.A 49* : 43-59.

3. S Vialet-Chabrand, J Matthews, L McAusland, M R. Blatt, H Griffiths & T Lawson (2017) Temporal Dynamics of Stomatal Behavior: Modeling and Implications for Photosynthesis and Water Use . *Plant Physiology* **174** : 603-613.
4. S Vialet-Chabrand , E Dreyer & O Brendel (2013) Performance of a new dynamic model for predicting diurnal time courses of stomatal conductance at the leaf level. *Plant, Cell and Environment* **36** : 1529–1546
5. G Damour, T Simonneau, H Cochard & L Urban (2010) An overview of models of stomatal conductance at the leaf level. *Plant, Cell and Environment* **33** : 1419–1438.
6. K Aasamaa & A Söber (2011) Responses of stomatal conductance to simultaneous changes in two environmental factors. *Tree Physiology* **31** : 855–864.
7. H N. Buckley & K A. Mott (2013) Modelling stomatal conductance in response to environmental factors. *Plant, Cell and Environment* **36** : 1691–1699.
8. D Xiong, C Douthe & J Flexas (2017) Differential coordination of stomatal conductance, mesophyll conductance and leaf hydraulic conductance in response to changing light across species. *Plant Cell Environ* **41** : 436–450.
9. G Besnard & G Carlier (1990) Potentiel hydrique et conductance stomatique des feuilles de frêne (*Fraxinus excelsior* L) dans une forêt alluviale du Haut-Rhône français. *Ann Sci For* **47** : 353-365.
10. N Bréda, H Cochard, E Dreyer & A Granier (1993) Field comparison of transpiration, stomatal conductance and vulnerability to cavitation of *Quercus petraea* and *Quercus robur* under water stress. . *Ann Sci For* **50** : 571-582.
11. J Martínez-Vilalta<sup>1</sup> & N Garcia-Forner (2017) Water potential regulation, stomatal behaviour and hydraulic transport under drought: deconstructing the iso/anisohydric concept. *Plant, Cell and Environment* **40** : 962–976.
12. W R. L. Anderegg, A Wolf, A Arango-Velez, B Choat, D J. Chmura, S Jansen, T Kolb, S Li, F Meinzer, P Pita, V Tesco de Dios, J S. Sperry, B T. Wolfe & S Pacala (2017) Plant water potential improves prediction of empirical stomatal models. *PLOS ONE* **12**(10): e0185481
13. L McAusland, S Vialet-Chabrand, P Davey, N R. Baker, O Brendel & T Lawson (2016) Effects of kinetics of light-induced stomatal responses on photosynthesis and water-use efficiency. *New Phytologist* **211** : 1209–1220.
14. V L. Barradas, H G. Jones & J A. Clark (1994) Stomatal responses to changing irradiance in *Phaseolus vulgaris* L. .*Journal of Experimental Botany* **276** : 931-936.
15. M Qu, S Hamdani, W Li, S Wang, J Tang, Z Chen, Q Song, M Li, Ho Zhao, T Chang, C Chu & X Zhu (2016) Rapid stomatal response to fluctuating light: an under-explored mechanism to improve drought tolerance in rice. *Functional Plant Biology* **43** : 727–738.
16. Viger M, Smith HK, Cohen D, Dewoody J, Trewin H, Steenackers M, Bastien C and Taylor G. (2016) Adaptive mechanisms and genomic plasticity for drought tolerance identified in European black poplar (*Populus nigra* L.). *Tree Physiology* **36** : 909-928.