HAL
open science

Analyse des effets du génotype et d'un déficit hydrique du sol sur la production et la qualité des baies de goji (Lycium)

Vincent Hitte

To cite this version:

Vincent Hitte. Analyse des effets du génotype et d'un déficit hydrique du sol sur la production et la qualité des baies de goji (Lycium). [Stage] Université Clermont Auvergne (UCA); INRAE. 2018, pp.1-84. hal-03763422

HAL Id: hal-03763422

https://hal.inrae.fr/hal-03763422

Submitted on 29 Aug 2022

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.

UFR BIOLOGIE
UNIVERSITÉ
Clermont Auvergne

VetAgro Sup

MASTER II Biologie Végétale
« Plant Integrative Biology and Breeding »

RAPPORT DE STAGE PRESENTE PAR :

HITTE Vincent

SUJET:

Analyse des effets du génotype et d'un déficit hydrique du sol sur la production et la qualité des baies de goji (*Lycium*).

Ce travail a bénéficié d'une aide de l'état générée par l'agence nationale de la recherche au titre du programme "Investissements d'avenir" portant la référence ANR-10-LABX-001-01 Labex Agro et coordonnée par Agropolis Fondation

Responsables du Stage:

Anne-Laure FANCIULLINO (INRA PSH)
Florent PANTIN (LEPSE)

INRA SCIENCE & IMPACT
PSH UR 1115
Laboratoire d'Ecophysiologie des Plantes Sous Stress Environnementaux
lepse Montpellier

Septembre 2018

Remerciements

Je tiens à remercier grandement mes tuteurs de stage Anne-Laure FANCIULLINO (Unité Inra Plantes et Systèmes de culture Horticoles, PSH) et Florent PANTIN (UMR Laboratoire d'Ecophysiologie des Plantes sous Stress Environnementaux, LEPSE) pour m'avoir accueilli, intégré au sein de l'unité PSH et énormément aidé tout au long du stage.

Je remercie Hélène GAUTIER, directrice de l'unité PSH, de m'avoir accueilli dans son équipe.

Je remercie aussi Jean-Pierre FAURE pour son implication et son hospitalité. Egalement, merci à Guillaume GARCIA, Béatrice BRUNEL et Valérie SERRA pour leur aide apportée pendant la partie technique d'expérimentation en serre.

Un grand merci aux stagiaires avec qui j'ai pu travailler en serre et au laboratoire pendant mon stage.

Et enfin, je tiens à remercier Agnès PIQUET-PISSALOUX et son équipe d'encadrement pour leur investissement dans la formation Master 2 « Plant Integrative Breeding and Biology ».

Résumé

Dans le contexte de la création d'une filière pour la production et la commercialisation de baies de goji en France, il est nécessaire de mieux connaître la biologie de cette plante (*Solanaceae*). Cette étude analyse les effets du génotype et d'un déficit hydrique du sol sur la qualité et le rendement des baies de goji. Une variété de *Lycium barbarum* ('FPW07') et de *L. ruthenicum* ('BLACK'), un hybride entre les deux ('1702/1'), et un hybride entre 'FPW07' et la tomate, *Solanum lycopersicum*, ('1708/3') étaient à disposition. Ces quatre génotypes ainsi qu'une variété de tomate ('Levovil') ont été analysés sur la croissance, la phénologie, l'allocation de biomasse, les échanges gazeux et les relations hydrique de la plante en réponse à un stress hydrique modéré. Chez les gojis, la croissance des rameaux, la conductance stomatique et le rendement semblent être impactés prioritairement en condition de stress contrairement à l'apparition de nouvelles feuilles, la photosynthèse et la qualité des fruits qui varient peu. Par ailleurs, il existe de la variabilité chez les *Solanaceae* sur le maintien du statut hydrique, avec un gradient allant du plus isohydrique ('Levovil') au plus anisohydrique ('FPW07' et '1708/3'). De plus, les analyses phénotypiques mettent en doute le caractère hybride de '1708/3'.

Mots-clés : *Lycium barbarum*, *Lycium ruthenicum*, déficit hydrique, croissance, état hydrique, rendement, qualité

Abstract

In the context of the the development of a crop production such as goji berries in France, it is necessary to better understand the biology of this plant (*Solanaceae*). This study analyses the effects of genotype and soil water deficit on the quality and yield of goji berries. A variety of *Lycium barbarum* ('FPW07') and of *L. ruthenicum* ('BLACK'), an hybrid between both of them ('1702/1'), and an hybrid between 'FPW07' and tomato ('1708/3') were available. These four genotypes and one tomato variety ('Levovil') were analysed on growth, phenology, biomass allocation, gas exchange and water relations of plants in response to moderate water stress. In goji, branch growth, stomatal conductance and yield seem to be primarily affected in stressful conditions, unlike the appearance of new leaves, photosynthesis and fruit quality, which showed low variations. In addition, variability in *Solanaceae* was observed on the maintenance of water status, with a gradient ranging from the most isohydric ('Levovil') to the most anisohydric ('FPW07' and '1708/3'). In addition, the phenotypic analyses question the hybrid nature of '1708/3'.

Keywords : *Lycium barbarum*, *Lycium ruthenicum,* water-stress, growth, water condition, yield, quality

Liste des abréviations :

% : pourcent
‰ : pour mille
°Brix : degré Brix
°C : degré Celsius
°C jours : degré jours
ABA : acide abscissique
CO_2 : dioxyde de carbone
DH : déficit hydrique
dS : déci-Siemens
E : transpiration
EV : électrovanne
g : gramme
gs : conductance stomatique
h : heure
J : joule
K : degré Kelvin
Kfeuille : conductance hydraulique foliaire
L : litre
m : mètre
mol : molaire
MPa : mégapascal
Osmol : osmole
PAR : rayonnement photosynthétique actif
PF : poids frais
Pn : photosynthèse nette
ppm : partie par million
PS : poids sec
s : seconde
SF : surface foliaire
T_{base} : zéro de végétation
Yfeuille : potentiel hydrique foliaire

Table des matières

1. Introduction 1
2. Synthèse bibliographique 2
   a. Présentation de *Lycium spp.* 2
      i. Morphologie et phénologie 2
      ii. Développement et qualité du fruit 3
      iii. Variétés cultivées de goji 4
   b. Elaboration du rendement, de la qualité et facteurs de variation 5
      i. Variabilité génétique du rendement 5
      ii. Effets du stress hydrique 11
         1. Effets sur la croissance et l'organogenèse 6
         2. Effets sur les relations hydriques et les échanges gazeux 7
         3. Rendement et qualité du fruit 8
   c. Objectif du projet et stratégie de recherche 9
3. Matériel et méthodes 19
   a. Matériel végétal 19
   b. Conditions de culture et traitement hydrique 19
   c. Analyses physiologiques 12
      i. Cinétiques de croissance et développement 23
      ii. Echanges gazeux 25
      iii. Potentiel hydrique foliaire 25
      iv. Potentiel osmotique 14
      v. Réponses hydrauliques à l'acide abscissique 15
      vi. Détermination de la teneur en eau relative et de la surface spécifique foliaire 16
      vii. Rendement et qualité des fruits 3116
   d. Récoltes destructives 17
4. Résultats 18
   a. Croissance de la plante, phénologie et allocation de biomasse 18
   b. Relations hydriques et échanges gazeux 22
      i. Potentiel hydrique foliaire 22
      ii. Photosynthèse et conductance stomatique 23
      iii. Conductance hydraulique foliaire en réponse à l'ABA 24
5. Discussion 26
   a. Effet du stress hydrique sur les différentes variables 26
   b. Aspects génotypique et phénotypique des hybrides 27
   c. Différences de comportement iso- et anisohydrique 28
6. Conclusion et perspectives 5729

1. Introduction

Le goji (*Lycium barbarum*) est une plante de la famille des Solanacées, à laquelle appartient également la tomate (*Solanum lycopersicum*). Bien qu'environ 70 espèces de *Lycium* poussent dans des régions très distinctes, allant du climat tempéré au climat subtropical, telles que l'Amérique du nord, l'Amérique du sud, l'Afrique du sud, l'Eurasie et l'Australie (Fukuda *et al.*, 2001), cette plante est principalement cultivée en Chine, au Tibet et dans d'autres endroits de l'Asie (Amagase and Farnsworth, 2011). Le fruit mûr est consommé frais ou séché pour ses propriétés médicinales et nutritionnelles dans ces pays d'Asie (Amagase and Farnsworth, 2011). La valeur-santé du fruit de *L. barbarum* est conférée par des composés comme les polysaccharides, les caroténoïdes et les polyphénols qui contribueraient au ralentissement du vieillissement ou à la neuroprotection, notamment grâce à leurs propriétés antioxydantes (Amagase and Farnsworth, 2011).

Il existe en France une attente sociétale pour une production de goji permettant la consommation de ces fruits frais et locaux. Cependant, les effets de l'environnement, de la variabilité génétique et des pratiques culturales sur la production et la qualité des baies sont assez peu documentés. Le projet GOJINOV, démarré en 2018, a pour but de rechercher de nouvelles perspectives d'amélioration sur la qualité et la durabilité de la production de baies de goji. Il se divise en deux axes : un axe écophysiologique et un métabolomique. Ce projet vise à répondre aux questions suivantes :

- Comment les composantes du rendement sont-elles affectées par la sécheresse ?
- Quelles sont les bases écophysiologiques et génétiques de la qualité des baies de goji ?
- Quelles sont les étapes clés différenciant les baies de goji des fruits de tomate, et comment les transcender ?

Dans le cadre de mon stage, l'objectif sera de caractériser la variabilité génétique des réponses du goji à un déficit hydrique du sol.

La suite du document présente une synthèse bibliographique sur cette problématique. Lorsque les références font défaut pour le goji, nous présenterons l'état des connaissances pour d'autres fruits charnus et notamment pour la tomate (plante modèle pour les fruits charnus et de la même famille que le goji) et la vigne (plante pérenne, comme le goji).

Figure 1 : Fleurs du goji (adapté de Maughan and Black, 2015)

Figure 2 : Fruits du cultivar ‘Phoenix Tears’ (source : FPW Développement)

2. Synthèse bibliographique

a. Présentation de *Lycium spp.*

i. Morphologie et phénologie

Contrairement à la tomate qui est une herbacée annuelle sous nos climats tempérés, le goji est une plante pérenne. Les habitudes de croissance de *L. barbarum* varient en fonction du cultivar et peuvent donner une plante avec un port érigé (Maughan and Black, 2015). La plante est acrotone, c'est-à-dire que les bourgeons situés aux extrémités des rameaux ont la croissance la plus forte. Lorsque le goji est taillé, la plante fait 1 à 2 mètres de hauteur mais si elle n'est pas entretenue ni même cultivée, elle peut mesurer jusqu'à 3,5 mètres. Il y a de une à trois fleurs axillaires (Amagase and Farnsworth, 2011). Le pistil et le calice sont fusionnés et ce dernier est bilabial. Il y a quatre étamines avec des poils à la base et l'ovaire se divise en deux parties avec un style. La corolle est en forme d'entonnoir, de couleur violette, avec 5 bordures lobées. Les premières fleurs se forment vers la fin du printemps (figure 1) et sont suivies, 4 à 6 semaines plus tard, d'un petit fruit fusiforme rouge-orangé (figure 2) (Maughan and Black, 2015 ; Amagase and Farnsworth, 2011). Le fruit mûrit au bout d'environ 35 jours après anthèse. Les plantes sont autofécondes (Maughan and Black, 2015).

L. ruthenicum, autrement appelé goji noir, est un buisson qui peut atteindre 2 m de haut (www.asklepios-seeds.de ; www.planetefleurs.fr). Les branches sont épineuses et robustes et les épines mesurent jusqu'à 2 cm de long. Les épines présentes sur l'arbre constituent une défense naturelle physique contre les herbivores. Les feuilles de *L. ruthenicum* sont organisées par petits groupes de 3, sont charnues et de couleur vert gris et ont une longueur de 4 cm. Le calice peut mesurer de 2,5 à 4,5 mm et la corolle de 8 à 15 mm de long. Les baies du goji noir ont un diamètre variant de 4 à 8 mm et sont vertes dans un premier temps et virent au violet/noir lorsqu'elles mûrissent (figure 3). Il existe également l'espèce *L. chinense* qui apparaît comme plutôt résistante à la sécheresse mais contient moins de phyto-nutriments que *L. ruthenicum* (www.asklepios-seeds.de).

En comparaison, les branches de la tomate (*S. lycopersicum*) ne sont pas épineuses. La taille des feuilles varient de 10 à 25 cm (www.futura-sciences.com). Le calice de cette plante compte cinq sépales verts et la corolle possède cinq pétales jaune vif soudés à la base. Les fleurs de la tomate se forment à la même période que le goji. Les baies sont vertes puis

Figure 3 : Fruits de la variété ‘FPW_Black’ de *Lycium ruthenicum* (source : FPW Développement)

prennent une couleur rouge, dépendamment de la variété, lorsqu'elles arrivent à maturité et leurs poids, dépendent aussi de la variété, est compris entre 20 g à 2 kg environ.

Concernant la cinétique de développement du fruit, très peu d'information couvre ce sujet hormis les chiffres mentionnés dans la partie précédente de ce rapport. Lorsque le goji commence à produire des baies vers le mois de juillet, il continue de faire des fleurs pendant la même période (Maughan and Black, 2015). Cela donne donc deux cycles annuels de production de fruits dont un en été et l'autre plutôt en automne.

ii. Développement et qualité du fruit

Comme chez les autres fruits charnus, l'obtention d'un fruit nécessite l'accomplissement de trois phases distinctes : la division cellulaire, l'expansion cellulaire et la maturation (Bertin *et al.*, 2002).

Les fruits charnus peuvent être classés en deux catégories : les fruits climactériques (tomates, bananes, pêches, pommes…) caractérisés par une forte augmentation de la production d'éthylène et de la respiration au cours de la dernière phase de développement du fruit, et les fruits non climactériques (agrumes, raisin, poivrons, fraises…) pour lesquels la maturation ne s'accompagne pas d'un pic de production d'éthylène. Quelle que soit le type de fruit, climactérique ou non climactérique, le développement des fruits charnus comprend trois phases: la division cellulaire, l'expansion cellulaire et la maturation (Bertin *et al.*, 2002). Chez la tomate, la période de division cellulaire a un impact très important sur la taille finale du fruit. En effet, Le nombre de cellules formées détermine le potentiel de croissance du fruit. La durée de cette phase peut varier de 10 jours, pour des petits fruits, à 25 jours, pour des gros fruits (Ripoll *et al.*, 2016). L'expansion cellulaire, qui peut durer de 6 à 8 semaines, correspond à la réalisation du potentiel de croissance généré lors de la première phase en fonction des conditions climatiques et de la disponibilité en assimilats carbonés pour les organes puits. Durant cette période l'importation des composés carbonés depuis les feuilles est maximale. Le gradient osmotique généré par le déchargement en sucres dans les cellules puits, entraîne un gradient de pression osmotique causant l'entrée massive d'eau dans les cellules et crée une pression de turgescence qui est le moteur de l'expansion cellulaire. (Bertin *et al.*, 2002 ; Ripoll *et al.*, 2016). Quant à la maturation, elle débute à la fin de la phase d'expansion et se caractérise par un pic de respiration lié à la production d'éthylène pour les fruits climactériques, et des changements métaboliques : changement de couleur (dégradation

des chlorophylles et accumulation des caroténoïdes), changement de texture (dégradation des pectines), des variations des teneurs en sucres solubles, acides organiques et arômes (Giovannoni, 2007).

La qualité des fruits s'élabore donc tout au long des trois phases de développement. La qualité est une notion composite qui recouvre plusieurs aspects : la qualité visuelle et organoleptique (calibre, forme, couleur, texture et goût), la qualité nutritionnelle (teneurs en fibre, vitamines et micronutriments), la qualité sanitaire, et la qualité sociétale (respect de l'environnement, solidarité sociale, etc). Les critères commerciaux correspondent majoritairement à la qualité visuelle et organoleptique même si les consommateurs expriment de plus en plus d'attentes vers les critères nutritionnels et sociétaux.

Bien que faisant partie de la même famille, les fruits du goji et de la tomate sont très différents. A commencer par le calibre du fruit : la baie de goji mesure 1 à 2 cm de diamètre alors que la tomate varie de 2,5 à 10 cm de diamètre. Les fruits de *L. barbarum* et *S. lycopersicum* ont une couleur rouge relativement similaire mais la texture diffère. Une fois séchée, la baie de goji a plutôt une texture moelleuse qui s'apparente fortement à celle du raisin sec alors que la tomate a une texture plus ferme. Le goût dépend fortement du rapport sucres/acides. Les teneurs en sucres solubles totaux contenus dans les tomates séchées sont de l'ordre de 38g/100g contre 46g/100g chez les baies de goji séchées (www.ndb.nal.usda.gov). Le pourcentage d'acide citrique contenu dans le jus de baies de goji diminue régulièrement pendant le développement du fruit pour donner des valeurs inférieures à 1% au dernier stade de maturité (Lu *et al.*, 2017). Le °Brix, au dernier stade de maturité du fruit, est proche de 13 indépendamment des variétés (Lu *et al.*, 2017). Concernant la qualité sanitaire de ces deux fruits, la baie de goji a une faible aptitude à la conservation en frais : elle se conserve deux fois moins longtemps que la tomate.

iii. Variétés cultivées de goji

L'amélioration génétique et la production de cultivars de goji, en Amérique du nord, n'est que très récente et il n'existe que peu de variétés (Demchak and Heindenreich, 2014). 'Crimson Star' (variété commercialisée en Chine) et 'Phoenix Tears' (provenant de l'ouest de l'Utah aux Etats-Unis) sont deux cultivars provenant de l'Amérique du nord (Maughan and Black, 2015). En France, la société FPW Développement a initié un travail de sélection

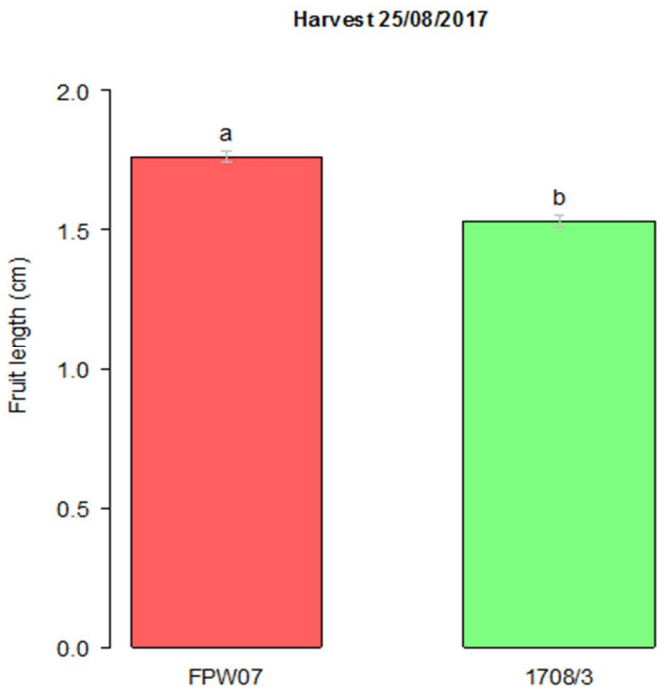


Figure 4 : Longueur (cm) du fruit en fonction des génotypes. *Les moyennes avec une lettre différente (a ou b) sont significativement différentes d'après le test de Student (p < 0.05) (*adapté de FPW Développement*).*

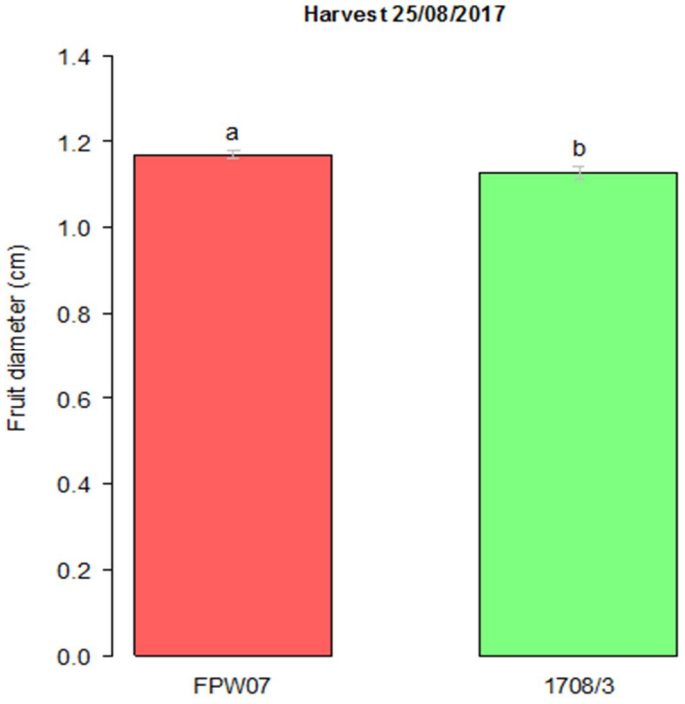


Figure 5 : Diamètre (cm) du fruit en fonction des génotypes. *Les moyennes avec une lettre différente (a ou b) sont significativement différentes d'après le test de Student (p < 0.05) (*adapté de FPW Développement*).*

variétale sur *Lycium*. Elle a notamment développé les variétés 'FPW07' (primée au concours Sival Innovation 2017) et 'FPW_Black' de *Lycium ruthenicum* (dont le fruit a une couleur noire) (figure 3).

Plusieurs variétés sont actuellement à l'essai, ainsi que des croisements interspécifiques (*L. barbarum* x *L ruthenicum*) et intergénériques (*L. barbarum* x *S. lycopersicum*).

Dépendant du marché ciblé, les critères de sélection mis en avant auprès du consommateur sont la taille et le goût des fruits, et leur valeur-santé. D'un point de vue agronomique, les critères retenus sont la résistance aux maladies, le rendement et la tolérance à la sécheresse (voir ci-après). Cependant, les données phénotypiques disponibles restent très limitées.

Enfin, on sait que les caractères phénotypiques d'intérêt dépendent de l'environnement. Par exemple, les fruits de *L. chinense* obtenus en climat tempéré sont significativement plus petits, plus légers et plus brillants que les fruits provenant de climat continental (Yao *et al.*, 2018). Cependant, les interactions génotypes x environnement restent très peu documentées.

b. Elaboration du rendement, de la qualité et facteurs de variation

Le rendement dépend du nombre et du poids des fruits, qui sont conditionnés par la surface foliaire, l'activité photosynthétique et l'allocation du carbone entre les différents organes. Ces facteurs sont modulés, notamment, par le génotype et l'état hydrique du sol.

i. Variabilité génétique du rendement

Le maximum de rendement de baies de goji en Chine est estimé à 7,85 t/ha (Demchak and Heindenreich, 2014), alors que le rendement de la tomate dans le même pays est estimé à 58 t/ha en 2014 (www.fao.org). Cette différence de rendement peut provenir soit du poids des fruits, soit du nombre de fruits par plantes ou bien d'une combinaison de ces deux facteurs.

L'étude de Zhao *et al.* (2015) montre que pour trois cultivars 'Damaye', 'Baihua' et 'Ningqi N°1' de *L. barbarum,* la croissance et le développement des fruits peuvent se diviser en deux phases. Tout d'abord, une phase de croissance lente entre 9 et 30 jours après anthèse et une phase très rapide entre 30 et 34 jours après anthèse. Le poids moyen d'un fruit, la taille

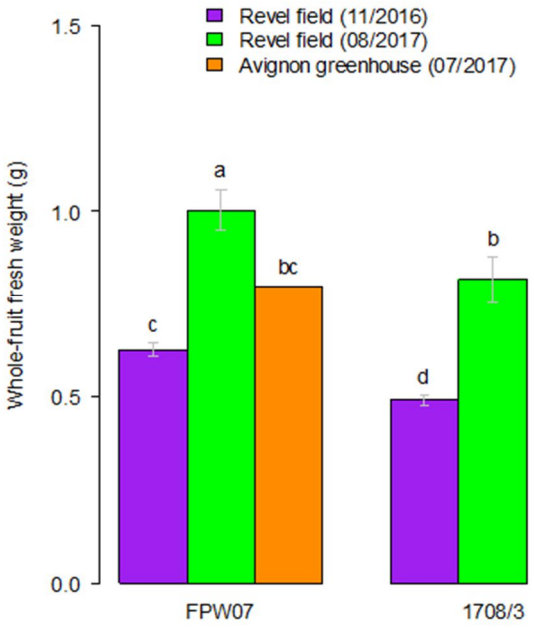


Figure 6 : Poids frais (g) du fruit pour deux génotypes. *Les moyennes avec une lettre différente (a ou b) sont significativement différentes d'après le test de Student (p < 0.05) (*adapté de FPW Développement*).*

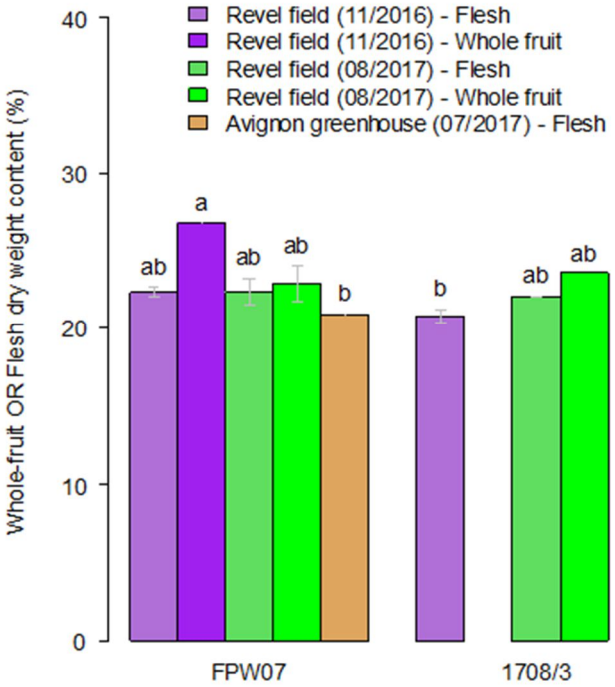


Figure 7 : Pourcentage de matière sèche du fruit entier ou de la chair pour deux génotypes. *Les moyennes avec une lettre différente (a ou b) sont significativement différentes d'après le test de Student (p < 0.05) (*adapté de FPW Développement)

et le diamètre semblent varier de manière plus ou moins significative entre les différents cultivars entre 14 et 30 jours après anthèse. Cependant, au 34ième jour après anthèse, ces paramètres ne sont plus significativement différents entre les cultivars. Ainsi, le poids moyen d'un fruit de *L. barbarum* est de 0,5g et mesure 15mm de long (Zhao *et al.*, 2015).

A titre de comparaison, dans l'étude de Ripoll *et al.* (2016), deux cultivars de tomate (*S. lycopersicum*) ont été analysés : 'PlovdivXXIVa' et 'LA1420'. Le poids moyen d'un fruit est de 30g pour 'LA1420' et de 40g pour 'PlovdivXXIVa' alors que la longueur, d'environ 40mm, est identique pour ces deux variétés.

Des données préliminaires sur la variabilité génétique ont été obtenues, par FPW Développement, sur deux génotypes de goji : 'FPW07' (*L. barbarum*) et '1708/3' (supposé *L. barbarum* x *S. lycopersicum*, voir Matériel & Méthodes). Le calibre des fruits est significativement différent entre les deux variétés (figures 4 et 5). La baie de 'FPW07' est en moyenne plus longue et a un diamètre supérieur à celle de '1708/3'. Le poids frais du fruit est également un facteur qui semble impacté par la variabilité génétique car il apparaît comme significativement différent entre les deux génotypes (figure 6). Enfin, la teneur en matière sèche n'était pas significativement différente entre ces deux génotypes (figure 7).

ii. Effets du stress hydrique

Chez les plantes, le stress hydrique affecte le rendement et la qualité des fruits en diminuant la vitesse de croissance, l'organogenèse, la photosynthèse et la conductance stomatique. Le déficit hydrique peut être létal s'il conduit à l'embolie des vaisseaux xylémiens de la tige, ce qui est rarement observé en conditions agronomiques (Charrier *et al.*, 2018).

1. Effets sur la croissance et l'organogenèse

La première réponse de la plante au déficit hydrique est généralement le ralentissement voire le blocage de la croissance foliaire, qui nécessite une pression de turgescence élevée, et une chute de la vitesse d'initiation des nouvelles feuilles ; la fermeture stomatique et la diminution de photosynthèse sont plus tardives (Muller *et al.*, 2011 ; Tardieu *et al.*, 2018). En revanche, lors d'un stress hydrique sévère, les plantes peuvent allouer plus de ressources au niveau des racines pour augmenter leur capacité à extraire l'eau, comme chez le

goji (Hu *et al.*, 2017). Chez les plantes pérennes, la mise en réserve peut être affectée par un stress hydrique sévère, ce qui peut pénaliser la production du cycle suivant.

2. Effets sur les relations hydriques et les échanges gazeux

Face à la contrainte hydrique, toutes les plantes n'adoptent pas la même stratégie. Notamment, distingue les plantes isohydriques des plantes anisohydriques (Tardieu and Simonneau, 1998). Les plantes isohydriques ou "conservatrices" maintiennent un potentiel hydrique ($Y_{feuille}$) élevé (proche du potentiel de base) en cas de sécheresse, notamment en fermant leurs stomates précocement. Les plantes anisohydriques ou "optimistes" adoptent une stratégie plus risquée, en autorisant des dépressions de potentiel plus importantes au bénéfice du maintien des échanges gazeux. Chez la vigne, il existe un continuum de cépages allant de l'isohydrie à l'anisohydrie (Chaves *et al.*, 2010 ; Coupel-Ledru *et al.*, 2017). L'acide abscissique (ABA), hormone synthétisée en cas de stress hydrique et causant la fermeture des stomates, jouerait un rôle dans le comportement (an)isohydrique allant au-delà de son action sur les mouvements stomatiques. En effet, chez la vigne, l'ABA diminue la conductance hydraulique foliaire ($K_{feuille}$, le ratio entre le flux de transpiration et la différence de potentiel hydrique entre la tige et la feuille) chez les génotypes isohydriques mais pas chez les anisohydriques, ce qui contribuerait à un meilleur maintien de $Y_{feuille}$ (Couple-Ledru *et al.*, 2017). Cependant, le caractère (an)isohydrique d'un génotype est en forte interaction avec l'environnement (Hochberg *et al.*, 2017). Globalement, les plantes anisohydriques sont réputées tolérantes à la sécheresse, mais s'exposent à risques de mortalité plus élevés (McDowell *et al.*, 2008). Aucune donnée ne permet actuellement d'établir si le goji est iso- ou anisohydrique.

L'étude de Zhao *et al.* (2017), sur le goji, montre que les échanges gazeux (photosynthèse nette et transpiration), le taux de chlorophylles (*a*+*b*), le ratio chlorophylle *a*/chlorophylle *b*, et le taux de caroténoïdes, chutent plus ou moins fortement en même temps que la sévérité du stress hydrique augmente dépendamment des espèces (*L. chinense* Mill. var. *potaninii*, *L. chinense* Mill., *L. barbarum* L. et *L. yunnanense*). *L. chinense* Mill. et *L. barbarum* L. ont une résistance accrue à la sécheresse sur la base de leur activité antioxydante et d'autres caractères physiologiques liés (Zhao *et al.*, 2017). Toujours dans cette même étude, *F*v/*F*m (rendement quantique maximum du photosystème 2 (PSII)), l'efficacité du rendement quantique du PSII (Photosystème II), le coefficient fluorescence-quenching photochimique et

le taux relatif du transport d'électrons diminuent moins fortement chez *L. chinense* Mill. et *L. barbarum* L. ce qui indique que les capacités de capture et transformation de la lumière sont plus efficaces que pour d'autres espèces moins résistantes voire sensibles à la sécheresse. Pour ces deux espèces résistantes, ils observent également que le taux de proline et d'aldéhyde malonique (MDA) augmentent au fur et à mesure que le stress augmente alors que pour les espèces sensibles, ces deux taux augmentent initialement puis, dès que le stress est trop important, diminuent.

La plupart des plantes, pour survivre à des stress environnementaux et surtout pour maintenir un équilibre intracellulaire, accumulent des osmolytes intracellulaires comme la proline pour augmenter leur potentiel osmotique cellulaire (Guan *et al.*, 2014). Guan *et al.* (2014) ont isolé un gène *P5CS*-like (D1-Pyrroline-5-carboxylate synthetase) dans les feuilles de *L. chinense*. Ce gène catalyse l'étape de limitation de la synthèse de proline chez les plantes. La proline a un rôle d'osmoprotecteur important et son accumulation, dans différents organismes, se fait suite à un stress osmotique (Delauney and Verna, 1993). Un lien existe potentiellement entre la régulation de l'accumulation de proline et l'application d'acide abscissique (ABA) exogène, chez *Arabidopsis* (Székely *et al.*, 2008). Très peu de preuves existent concernant la corrélation entre le rôle d'ABA endogène et le niveau d'expression du gène *P5CS* pour des stress hydriques de longue durée. Cependant, il est possible d'émettre l'hypothèse que le niveau d'expression de transcrits de *LcP5CS*, l'accumulation de proline et l'accumulation d'ABA endogène peuvent être induits par un stress hydrique chez *L. chinense* (Guan *et al.*, 2014).

3. Rendement et qualité du fruit

La diminution de surface foliaire éventuellement combinée à une réduction de l'activité photosynthétique par unité de surface conduit à une baisse de l'assimilation totale du carbone, qui se répercute sur la production en fruits. Ce phénomène est accentué lorsque la sénescence foliaire est amorcée précocement, comme lors de stress hydriques sévères. Ces derniers vont également impacter le nombre de fruits et leur croissance.

Chez *Lycium*, des changements dans l'allocation de la biomasse ont pu être observés notamment au niveau de la tige, où la biomasse va s'accumuler en cas de condition de stress hydrique, et inversement au niveau des fruits, où la biomasse va diminuer (Zhao *et al.*, 2017).

Chez la tomate, un stress hydrique léger peut ne pas affecter la croissance des fruits et le rendement chez certains génotypes (Ripoll *et al.*, 2016). De plus, pendant la phase de maturation un déficit hydrique modéré entraîne une augmentation de la concentration des composés comme les sucres et acides dans le fruit ce qui est bénéfique pour l'élaboration de la qualité organoleptique. Ce stress hydrique permet aussi de stimuler l'accumulation de certains métabolites secondaires (caroténoïdes, composés phénoliques) (Poiroux-Gonord *et al.*, 2010).

c. Objectif du projet et stratégie de recherche

L'objectif principal de l'étude est de rendre compte des effets génotypiques et d'un stress hydrique du sol sur la production et la qualité des baies de goji. Pour cela, nous utilisons cinq génotypes de goji et un génotype de tomate. Dans une première approche, nous caractérisons la croissance et le développement de ces plantes, en conditions témoin et de stress, en s'intéressant à la croissance des rameaux primaires, l'apparition de nouvelles feuilles, la floraison, la qualité des fruits et le rendement. Et dans un second temps, nous analysons ces effets sur les échanges gazeux et les relations hydriques au sein de la plante. Finalement, cette dernière partie s'intéresse aussi aux relations hydriques et aux échanges gazeux mais en réponse à l'acide abscissique. Cela permet d'en apprendre un peu plus sur le comportement de ces différents génotypes face à un déficit hydrique.

3. Matériel et méthodes

a. Matériel végétal

Pour cette étude, les cinq génotypes de goji utilisés sont : 'Ningxia n°7' (variété témoin de *L. barbarum*), 'FPW07' (variété de *L. barbarum* primée au concours Sival Innovation 2017), '1708/3' (hybride de *L. barbarum* 'FPW07' et d'une variété inconnue de *S. lycopersicum* à gros fruits), 'FPW_BLACK' (variété de *L. ruthenicum*) et '1702/1' (hybride de *L. ruthenicum* 'FPW_BLACK' et *L. barbarum* 'FPW07'). Des données de génotypage issues de l'INRA d'Angers suggèrent que '1708/3' et '1702/1' sont bien des hybrides, mais le nombre de marqueurs utilisé reste trop restreint pour éliminer toute ambiguïté.

Pour chaque génotype, 18 plants ont été fournis par FPW Développement, située à Revel (31) sous la forme de plants de un an en racines nues. Début février, ces plants ont été stockés en chambre froide à 6°C pendant 10 jours afin de synchroniser le débourrement des différents génotypes. Le 13 février 2018 les gojis ont été rempotés en serre à Avignon. Des plants de tomate, variété 'Levovil' à gros fruits, ont été cultivés dans les mêmes conditions pour permettre des comparaisons intergénériques. Elles ont été semées le 01 mars 2018, et 28 plants ont été rempotés le 29 mars 2018. Toutes les plantes ont été placées dans des pots de 9 L avec tuteurs. Les pots, plants et tuteurs ont été pesés et leur poids, sans substrat, a été ajusté à 1000 g avec du gravier. Ainsi, pour chaque pot, le même poids de substrat (Substrat 4, Klasmann-Deilmann, France) a pu être ajouté. Des prélèvements de substrat et des mesures de poids frais et sec de ces aliquots ont été effectués, au cours du rempotage, afin de déterminer la teneur en eau du substrat puis le poids de sol sec placé dans chaque pot. La teneur en eau initiale du substrat variait de 2 à 3 g d'eau par g de sol sec. Les différents génotypes et traitements hydriques ont été distribués dans la serre suivant le plan figurant en annexe 1.

Le génotype 'Ningxia n°7' n'est pas pris en compte dans la suite des analyses écophysiologiques car ce génotype n'a pas poussé correctement dans ces conditions de cultures.

b. Conditions de culture et traitement hydrique

Les plantes ont été cultivées dans une serre de l'Inra d'Avignon (43°54'N 4°52'E) dans des conditions semi-contrôlées de février à juillet 2018. La température a été fixée à

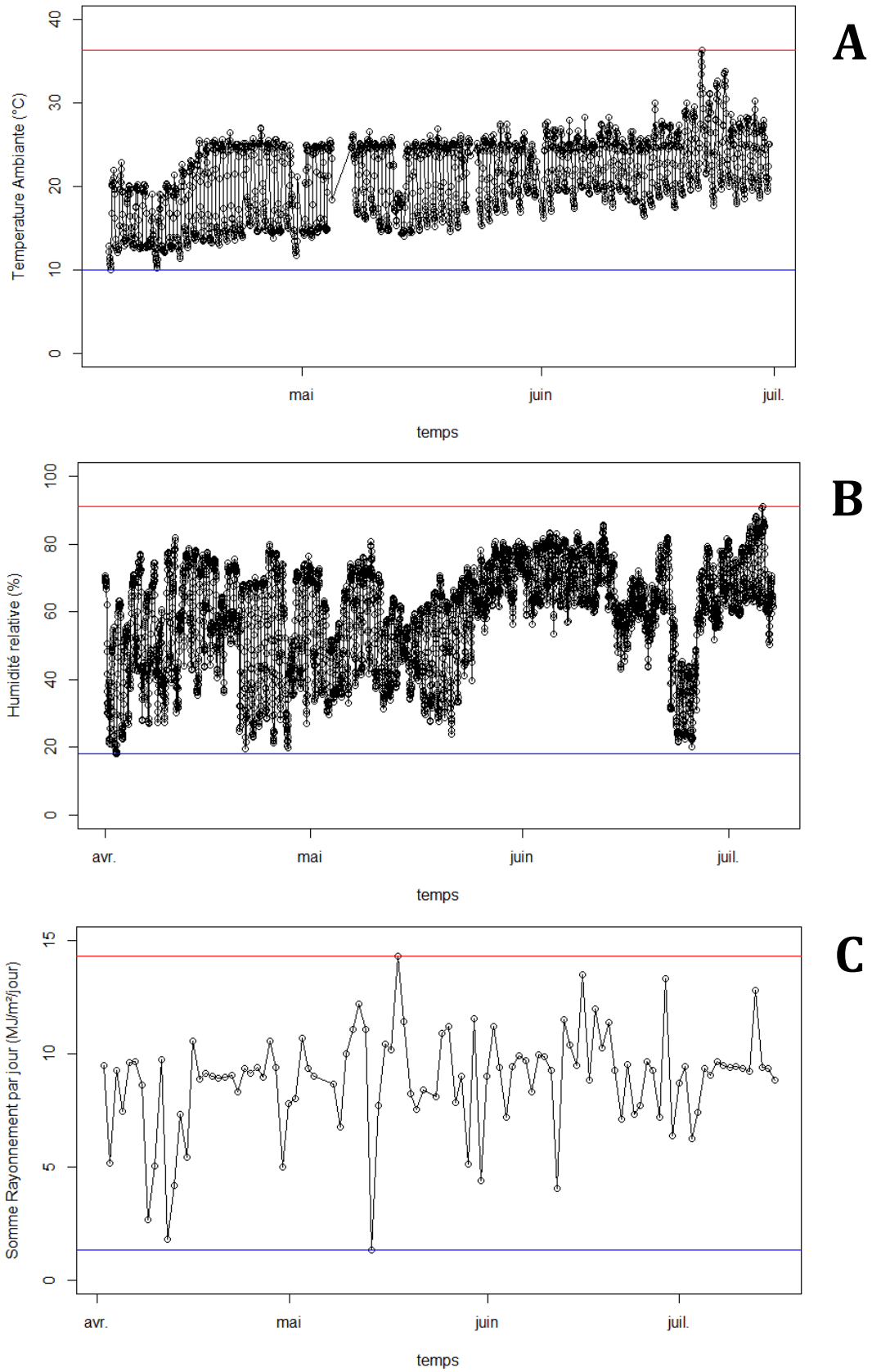


Figure 8 : Données météorologiques dans la serre S2 d'avril à juillet 2018. A) Variations horaires de la température du 1er avril au 9 juillet, B) Variations horaires de l'humidité relative de l'air (%) et C) Variations journalières de rayonnement global en MJ/m²/jour *Les barres horizontales rouge et bleue correspondent aux valeurs maximale et minimale respectivement.*

20°C la journée et 10°C la nuit jusqu'au 19 avril 2018 puis a été modifiée pour avoir 25°C la journée et 18°C la nuit. Les données horaires d'humidité relative et de rayonnement global, à l'intérieur du compartiment de serre, ont également été enregistrées pendant toute la culture. Les variations de température, humidité et rayonnement sont synthétisées dans la figure 8.

La somme des degrés jours a été calculée en fonction des deux espèces. Le zéro de végétation a été fixé à 12°C pour *S. lycopersicum* et à 10°C pour *Lycium*. Cette valeur de température correspond à la constante $T_{base.}$ Bien qu'aucune donnée n'existe vis-à-vis du zéro de végétation du goji, cette température de 10°C a été fixée en prenant en compte la valeur d'autres espèces de la famille des Solanacées : aubergine (12°C) et poivron (8°C).

L'irrigation et la fertilisation des plantes se font à l'aide de goutteurs. Ceux-ci sont rattachés à quatre circuits indépendants contrôlés par des électrovannes (EV). Ainsi, chacun des circuits corresponde à une modalité telle que bien irrigué (témoin) et en déficit hydrique (DH) et une espèce (soit tomate soit goji). Les plantes ont été irriguées quotidiennement avec une solution d'irrigation (Liquoplant Rose, Plantin, Courthézon, France) diluée entre 4‰ et 8‰ selon le stade de développement. Le pH et l'électro-conductivité de cette solution étaient contrôlés de manière hebdomadaire pour des cibles de 6,5 et 1,8 dS/m respectivement. Jusqu'au mois d'avril, toutes les plantes sont dans les mêmes conditions d'irrigation avec une programmation déterminée pour atteindre une teneur en eau du sol cible de 1,6 g eau/g sol sec ce qui correspond, pour ce substrat, à un potentiel de sol de -0,1 MPa (Nadia Bertin, communication personnelle). Pour atteindre cette teneur en eau du sol qui correspondait à un poids cible calculé, le volume de solution apporté par le goutte à goutte était inférieur au volume requis. Tous les jours, un sous-échantillon (20% des pots) était pesé et un volume de solution était ajouté à chaque pot pour atteindre le poids cible exact. Le poids cible de chaque pot a été calculé de la façon suivante :

Poids cible pot_i = poids sol sec_i * (1 + teneur en eau cible) + tare à l'$empotage_i$ + biomasse $produite_i$

La biomasse produite au cours de la culture a été évaluée pour chaque génotype par la détermination de relations d'allométrie entre longueur de rameaux et poids de ces rameaux, lors d'un élagage initial destiné à homogénéisé les plants, puis par des mesures hebdomadaires de longueur de rameaux.

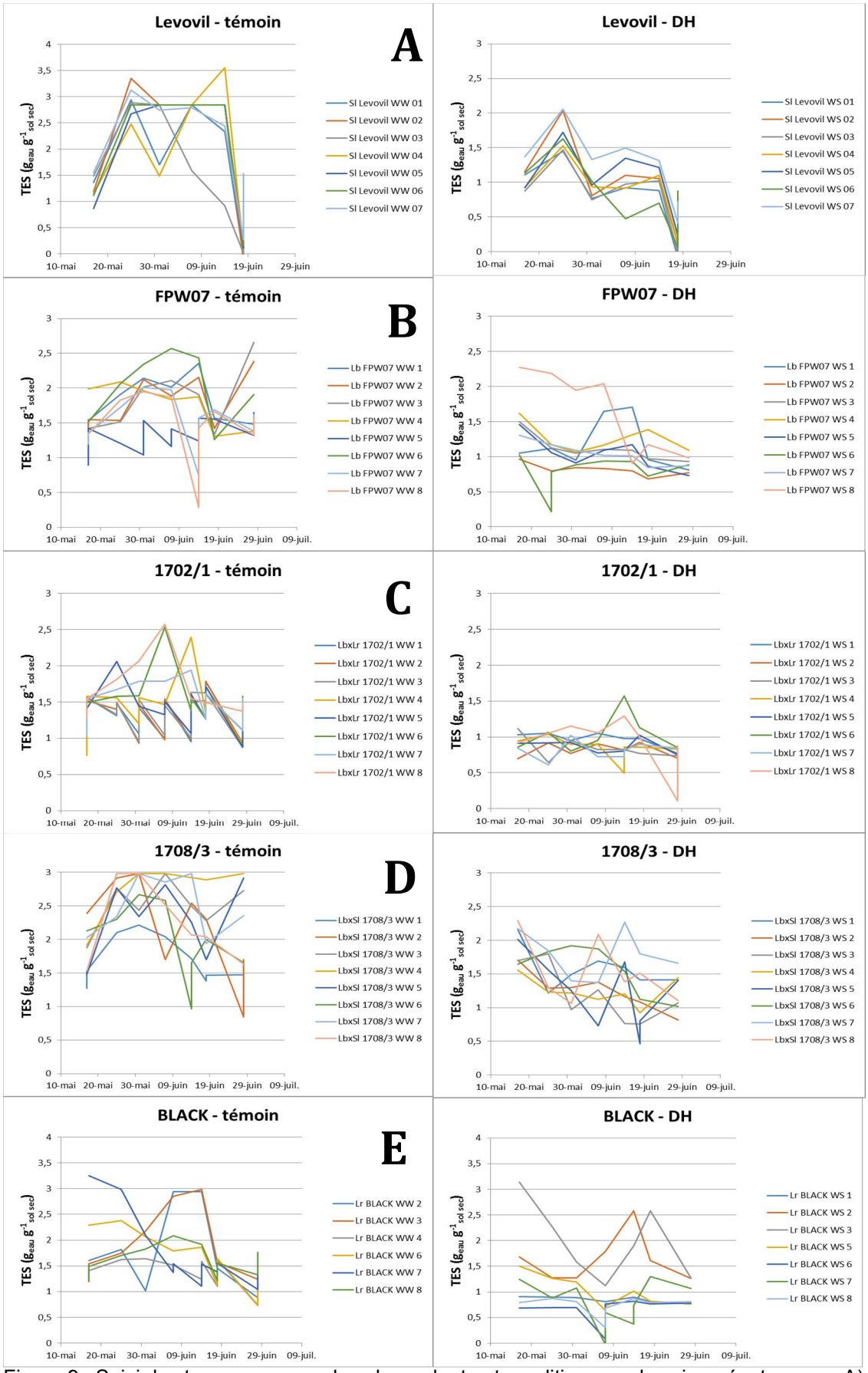


Figure 9 : Suivi des teneurs en eau du sol par plante et condition pour les cinq génotypes en A) 'Levovil', en B) 'FPW07', en C) '1702/1', en D) '1708/3' et en E) 'BLACK'. *TES = teneur en eau du sol ; DH = déficit hydrique.*

Le stress hydrique est ensuite appliqué sur la moitié des plantes à partir de l'anthèse (première fleur ouverte). Cela correspond au 30 avril pour la tomate et mi-mai pour les autres génotypes sauf 'FPW_BLACK'. En effet, deux plantes de ce dernier génotype avaient déjà commencé la floraison dès le 19 avril mais pour avoir un déficit homogène sur le génotype, la date du 30 avril a été choisie pour 'BLACK' (où la grande majorité des plantes étaient en fleurs). Le volume d'irrigation est alors diminué dans le but d'atteindre une teneur en eau du sol cible de 0,8 g eau/g sol sec ce qui correspond à un potentiel de sol de -0,5 MPa (Nadia Bertin, communication personnelle). Le suivi de la teneur en eau du sol a été synthétisé sur la figure 9.

c. Analyses physiologiques

Pour certaines analyses, un test statistique est appliqué. Il s'agit du test non-paramétrique de Kruskal-Wallis suivi d'un test de comparaisons multiples sur les rangs studentisés avec la p-value ajustée avec la métode Benjamini-Hochberg. Deux lettres différentes pour un même génotype indiquent une différence significative entre le premier et le deuxième traitement.

i. Cinétiques de croissance et développement

Toutes les plants de goji ont été homogénéisés, au début du mois d'avril, de sorte à présenter 4 rameaux primaires (pousses de 2018 sur tronc de 2017) pour les génotypes 'FPW07', '1702/1', et '1708/3' et 15 rameaux primaires pour le génotype 'FPW_BLACK' (qui présente naturellement un débourrement plus important et des rameaux plus courts). Sur ces rameaux primaires, toutes les ramifications secondaires ont été conservées. Le suivi de croissance des plantes a été réalisé en sélectionnant un rameau sur trois plantes par génotype et par condition pour les variétés de goji. De manière hebdomadaire, la taille, le nombre de feuilles, le diamètre à 2cm du tronc et tous les 30cm ont été mesurés sur chacun des rameaux suivis (figure 10). Les mêmes mesures ont été faites pour les tomates sauf la taille qui correspond à la taille totale de la tige principale.

La floraison des gojis a été suivie en comptant, dans un premier temps, le nombre de fleurs et boutons floraux et, dans un second temps, le nombre de fruits sans distinction de maturité sur l'ensemble de la plante pour pouvoir déterminer le taux de nouaison. Pour les

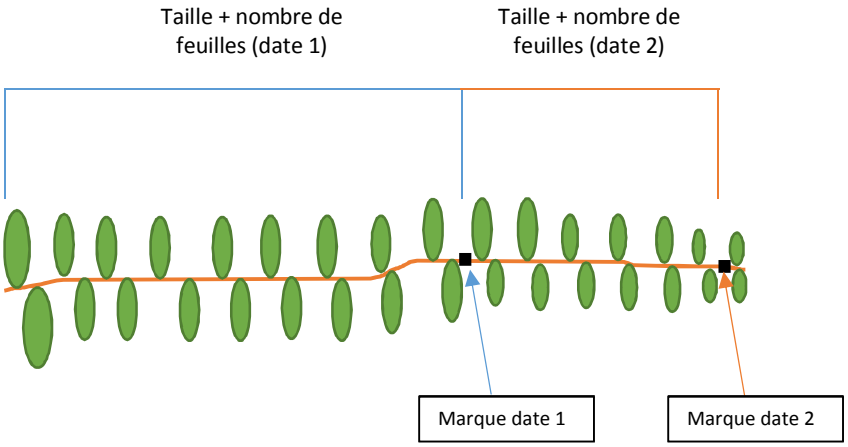


Figure 10 : Schéma simplifié du suivi de la cinétique de croissance d'un rameau.

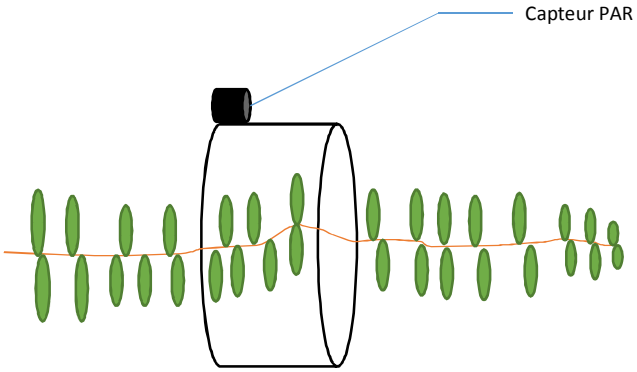


Figure 11 : Schéma simplifié de la chambre cylindrique sur un rameau du 'BLACK'.

tomates, 4 fruits par bouquet et 6 bouquets par plante ont été gardés. Les fleurs des bouquets ont été pollinisées deux fois par semaine grâce à un vibreur électrique.

ii. Echanges gazeux

Les mesures de photosynthèse nette et de conductance stomatique sont obtenues avec le Li-COR® 6400 (LI-COR Environmental, Lincoln, Nebraska Etats-Unis) et sa chambre munie de lumière LED. Cette chambre permet de pincer une surface de feuille de 2 cm² et est adaptée aux feuilles de tous les génotypes utilisés pour cette étude sauf 'BLACK'. Pour ce dernier, une chambre cylindrique, dite chambre à conifère, est préférée car les feuilles ne couvrent pas une surface suffisante (figure 11). Dans ce cas-là, il est important de compter le nombre de feuilles dans la chambre pour déduire la surface réellement utilisée par les feuilles. Les paramètres importants à fixer sur l'appareil sont le flux de CO_2 à 400 ppm, le PARin à 1500 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$ (PAR, Photosynthetically Active Radiation, rayonnement dont les longueurs d'ondes sont comprises entre 400 et 700 nm et correspondant au rayonnement envoyé directement par la chambre) et la température de la feuille à 25°C. La chambre conifère n'étant pas munie de source de lumière, il faut donc que les plantes analysées reçoivent des quantités de lumière comparables. La valeur de PARout (rayonnement extérieur) minimale pour que la mesure soit considérée a été fixée à 600 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$. Les mesures ont été effectuées sur des feuilles adultes entre 10h00 et 12h00 (heure locale). Pour chaque génotype, ces mesures ont été effectuées à au moins trois dates (une date avant le déficit hydrique, et deux dates après). A chaque date, au moins 6 mesures par génotypes et traitement hydrique ont été effectuées. Cependant, toutes ces mesures n'ont pas pu être conservées à cause du rayonnement extérieur parfois trop faible.

iii. Potentiel hydrique foliaire

Le potentiel hydrique représente le potentiel de l'eau à quitter un compartiment biologique ou chimique. Plus ce potentiel est élevé dans un compartiment, plus l'eau tend à le quitter pour aller dans un compartiment avec un potentiel hydrique plus faible. Le potentiel hydrique de base (avant le lever du soleil) fait référence au moment où la plante ne transpire presque plus (négligeable) et reconstitue ses réserves en eau. Cette mesure donne une idée de la disponibilité en eau du sol. Le potentiel hydrique au midi solaire (entre 13h30 et 14h) correspond à une forte demande climatique et donc à une forte transpiration en dehors de toute régulation stomatique.

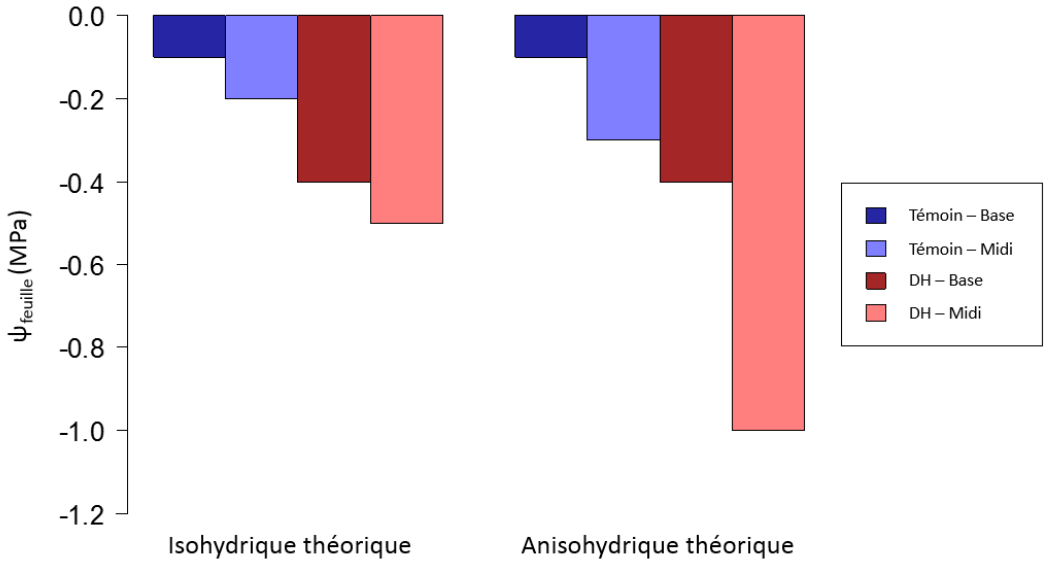


Figure 12 : Comportements isohydrique et anisohydrique théoriques. *DH = déficit hydrique ; = Base = potentiel hydrique de base ; Midi = potentiel hydrique au midi solaire.*

Les mesures de potentiel hydrique foliaire ont été effectuées par psychrométrie. Le psychromètre utilisé est le PSYPRO™ (Wescor, Etats-Unis) permettant le suivi simultané des 8 chambres de mesure (C-52) qui lui sont connectées. Chaque chambre permet de sceller un disque foliaire de 7 mm (découpé à l'emporte-pièce) dans une cavité contenant un thermocouple. Le potentiel hydrique de l'atmosphère de la cavité s'équilibre avec le potentiel hydrique du tissu foliaire contenu. Le psychromètre génère transitoirement un courant pour refroidir la jonction du thermocouple, ce qui aura pour effet de condenser la vapeur d'eau autour de cette jonction. Le psychromètre lit alors le microvoltage aux bornes du thermocouple, qui sera d'autant plus important que le potentiel hydrique de la cavité (et donc du tissu) sera négatif. La relation linéaire entre ces deux valeurs dépend des caractéristiques du thermocouple, et elle est obtenue pour chaque chambre à l'aide d'une courbe de calibration avec des solutions d'osmolalité connue (100, 290 et 1000 mOsmol).

Les potentiels de base et au midi solaire ont été analysés chez tous les génotypes dans les deux conditions à plusieurs dates entre le 26/04 et le 28/06, dans la mesure du possible en duplicat ou triplicat technique (chaque répétition biologique représente alors la moyenne de deux ou trois feuilles prélevées sur la même plante au même moment).

Les résultats ainsi obtenus, suite à cette expérience, permettent de déterminer si la plante adopte un caractère isohydrique ou plutôt anisohydrique d'après leur aspect théorique figure 12.

iv. Potentiel osmotique

En parallèle des mesures de potentiel hydrique, les mesures de potentiel osmotique ont été faites sur les mêmes feuilles que celles utilisées pour le potentiel hydrique total, en utilisant la partie du limbe restant après le découpage à l'emporte-pièce. A noter que pour réaliser cette mesure sur le génotype 'BLACK', il est nécessaire de prélever une feuille supplémentaire à chaque fois pour avoir suffisamment de matière. Ainsi, le matériel végétal utilisé ici est apparié à celui utilisé pour les potentiels hydriques.

Le potentiel osmotique des échantillons de feuilles se mesure avec l'appareil VAPRO® 5520 (Wescor, Etats-Unis). L'osmomètre permet de mesurer la concentration

osmotique d'une solution disposée sur un disque de papier buvard de 7 mm, selon le même principe que le psychromètre.

Dans un premier temps, les échantillons sont broyés succinctement dans une colonne à filtre (NucleoSpin Filters, Machery-Nagel, Allemagne, ref. 740606) puis, cette colonne est placée dans un tube collecteur de 1,5mL. Les tubes sont ensuite centrifugés à 4°C, pour éviter l'évaporation, pendant 5min. S'il y a au moins 10µL d'extrait alors ils sont dilués à un facteur 2 pour rester dans la gamme de détection de l'appareil, puis congelé à -20°C. Sinon, il est nécessaire de centrifuger à nouveau pendant 5min en tournant le filtre à 180°C pour récupérer les gouttes coincées dans le filtre. L'osmomètre est calibré, avant chaque série de mesure, à l'aide de solution standard à 100, 290 et 1000 mmol/kg. La valeur mesurée est donnée en mmol/kg et transformée en MPa avec le calcul suivant :

$$\Pi = - f \times \Pi_{VAPRO} \times R \times T_{ref} \times 10^{-6}$$

Avec Π le potentiel osmotique en MPa ; f le facteur de dilution ; Π_{VAPRO} le potentiel osmotique mesuré par le VAPRO en mmol/kg ; R = 8,31 J/mol/K (la constante des gaz parfaits) ; T_{ref} la température de référence en K.

v. Réponses hydrauliques à l'acide abscissique

La réponse de la conductance hydraulique foliaire ($K_{feuille}$) à l'acide abscissique (ABA) a été déterminée en utilisant la méthode évaporative, qui nécessite de mesurer la transpiration (E) et le potentiel hydrique ($Y_{feuille}$) d'une feuille dont le pétiole est immergé dans l'eau (Sack *et al.*, 2002). $K_{feuille}$ se réduit alors au ratio - $E/Y_{feuille}$. Pour ces expériences, uniquement les feuilles des plantes témoins sont sélectionnées. Les feuilles (ou la foliole terminale pour la tomate) sont sectionnées à leur base, puis immédiatement recoupées avec leur partie proximale (pétiole quasiment inexistant chez *Lycium*) sous l'eau pour éviter la cavitation. Les feuilles sont ensuite instantanément transférées dans des Eppendorfs® de 1,5mL d'eau mQ pour les témoins, ou d'acide abscissique (ABA) à 50µM pour obtenir une réponse saturante (Pantin *et al.*, 2013). Les tubes sont ensuite scellés au sommet pour supprimer l'évaporation de la solution. Les feuilles sont ensuite prises en photo (pour détermination de la surface sous ImageJ), et ainsi laissées dans leur tube pendant 3h dans les conditions de la serre favorables à la transpiration. Ainsi, le flux de transpiration est déterminé

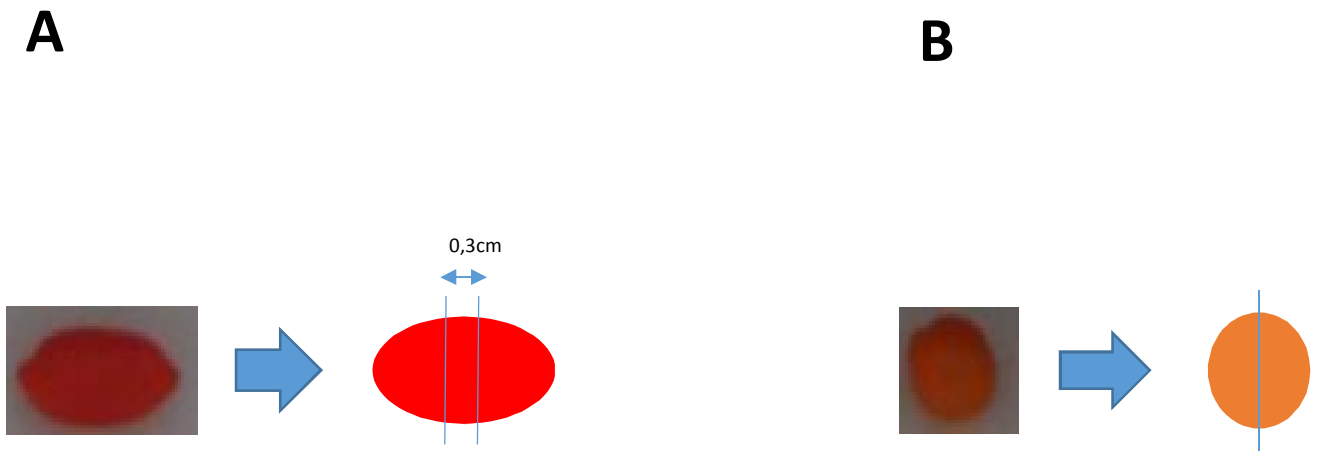


Figure 13 : Schéma de coupe du fruit en A) fruit du génotype ‘FPW07’ et en B) fruit du génotype ‘1702/1’.

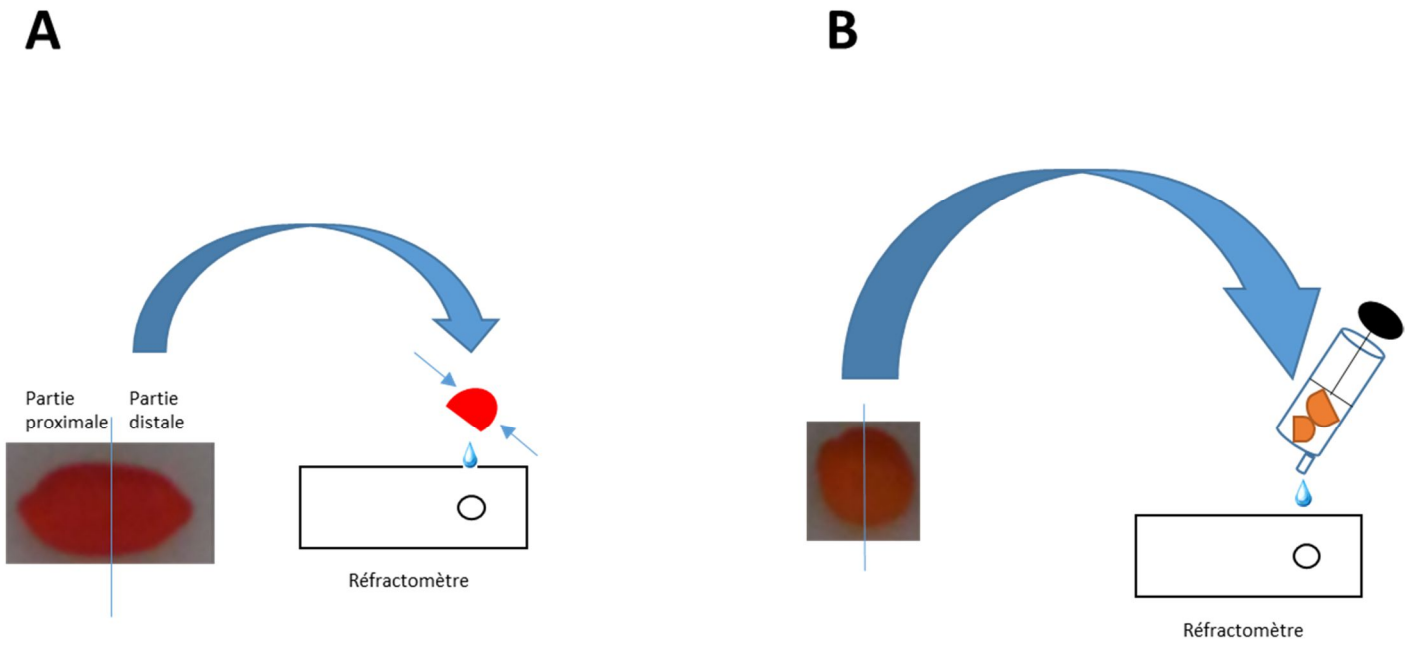


Figure 14 : Schéma de la mesure du °Brix en A) fruit du génotype ‘FPW07’ et en B) fruit du génotype ‘1702/1’.

par gravimétrie, à l'aide de deux pesées consécutives sur une balance de précision 10^{-3} g à 20 min d'intervalle. Un disque foliaire de 7mm est ensuite découpé dans chacune des feuilles et le potentiel hydrique est déterminé comme précédemment.

vi. Détermination de la teneur en eau relative et de la surface spécifique foliaire

La teneur en eau relative et la surface spécifique foliaire ont été caractérisés pour chacun des génotypes. Entre 6 et 10 répétitions biologiques ont été obtenues, chacune d'entre elle représentant un pool de deux ('FPW07' et '1708/3'), cinq ('1702/1') ou six ('BLACK') feuilles prélevées sur la même plante. Pour 'Levovil', une foliole terminale a été récoltée par plante. Tout d'abord, le poids frais (PF) est déterminé à la récolte entre 14h et 16h (heure locale). Les feuilles sont photographiées pour déterminer la surface foliaire (SF) par analyse d'image (ImageJ, https://imagej.nih.gov/ij/download.html). Elles sont placées dans un papier absorbant humide qui est lui-même dans une boîte de Petri à 4°C à l'obscurité pendant 36h. Ensuite, les feuilles sont essuyées pour enlever les gouttes d'eau résiduelles et pesées à nouveau pour l'obtention du poids frais saturant PFsat. Elles sont mises à l'étuve à 80°C pendant une semaine avant d'être repesées pour le poids sec (PS). La surface spécifique foliaire est calculée en déterminant le rapport SF/PS et est exprimée en cm² / g_{MS}. La teneur en eau relative (%) est obtenue via le calcul 100 x (PF-PS)/(PFsat-PS).

vii. Rendement et qualité des fruits

Les floraisons étant étalées (plus de 90 jours pour les variétés de goji et 45 jours pour la tomate), les anthèses de groupes de fleurs ont été marquées et les fruits mûrs récoltés régulièrement à 30 jours après anthèse, pour les variétés de gojis, et 55 jours après anthèse pour les tomates. A chaque date de prélèvement un échantillon était constitué d'un ou plusieurs fruits provenant d'un même pot. Les fruits de chaque échantillon ont été photographiés pour permettre la détermination du diamètre par analyse d'image à l'aide du logiciel ImageJ. Après la notation du nombre de fruits constituant l'échantillon et de la masse fraîche de chaque échantillon, la teneur en matière sèche (en %) a été évaluée sur un mélange de 4 fruits pour chaque échantillon et en pesant en frais et en sec (après passage à l'étuve à 80°C pendant une semaine) une portion de fruit de largeur 0,3 à 0,5 cm et prélevée au niveau équatoriale (figure 13). Dans le cas où le nombre e total de fruits était inférieur à quatre, la teneur en matière sèche a été déterminée sur chaque fruit. Le degré Brix (°Brix) mesure la

teneur en solides dissouts. Chez les fruits charnus, cette mesure est largement déterminée par les sucres, ces derniers constituant la majeure partie des solides dissouts. Dans cette étude, il a été mesuré à l'aide d'un réfractomètre digital (PR-32, Atago, Tokyo, Japon) sur trois fruits pour chaque échantillon. Pour les fruits de 'Levovil' et des gojis dont la forme est plus allongée comme 'FPW07' et '1708/3', le fruit est coupé en deux et uniquement la partie distale, située à l'opposé du pédoncule, est pressée pour obtenir le liquide. Pour les fruits de gojis ronds tels que 'BLACK' et '1702/1', le fruit est coupé en deux puis les deux moitiés sont introduites dans une seringue stérile pour être pressées (figure 14).

d. Récoltes destructives

Tous les plants de gojis (61 pots) ainsi que 20 plants de tomates (10 témoins et 10 stressés) ont été récoltés entre le 02/07 et le 10/07/2018.

Le nombre de fruits mûrs restants, de fruits verts et de fleurs a été compté et les fruits mûrs et verts (uniquement pour les tomates) pesés sur chacune des plantes. Les plantes de goji ont ensuite été disséquées pour la détermination du nombre de rameaux primaires et secondaires, de la masse fraîche puis sèche (après passage à l'étuve une semaine à 80°C) de la biomasse aérienne sans le tronc, des feuilles, des rameaux produits en 2018 et du tronc. Pour les plants de tomates 'Levovil', la longueur de la tige ainsi que son diamètre à 2 et à 30 cm du collet ont été déterminés. La masse sèche du système racinaire a été déterminée sur les deux-tiers des plants de *Lycium*, et seulement deux plants de chaque modalité pour la tomate (le système racinaire très chevelu étant exceptionnellement difficile à extraire dans le terreau utilisé). Les racines sont alors dépotées puis lavées à l'eau pour enlever le maximum de terre résiduelle avant d'être photographiées pour déterminer la taille par analyse d'image et mises à l'étuve à 80°C pendant 72h. Elles sont finalement pesées pour l'obtention de la valeur de poids sec.

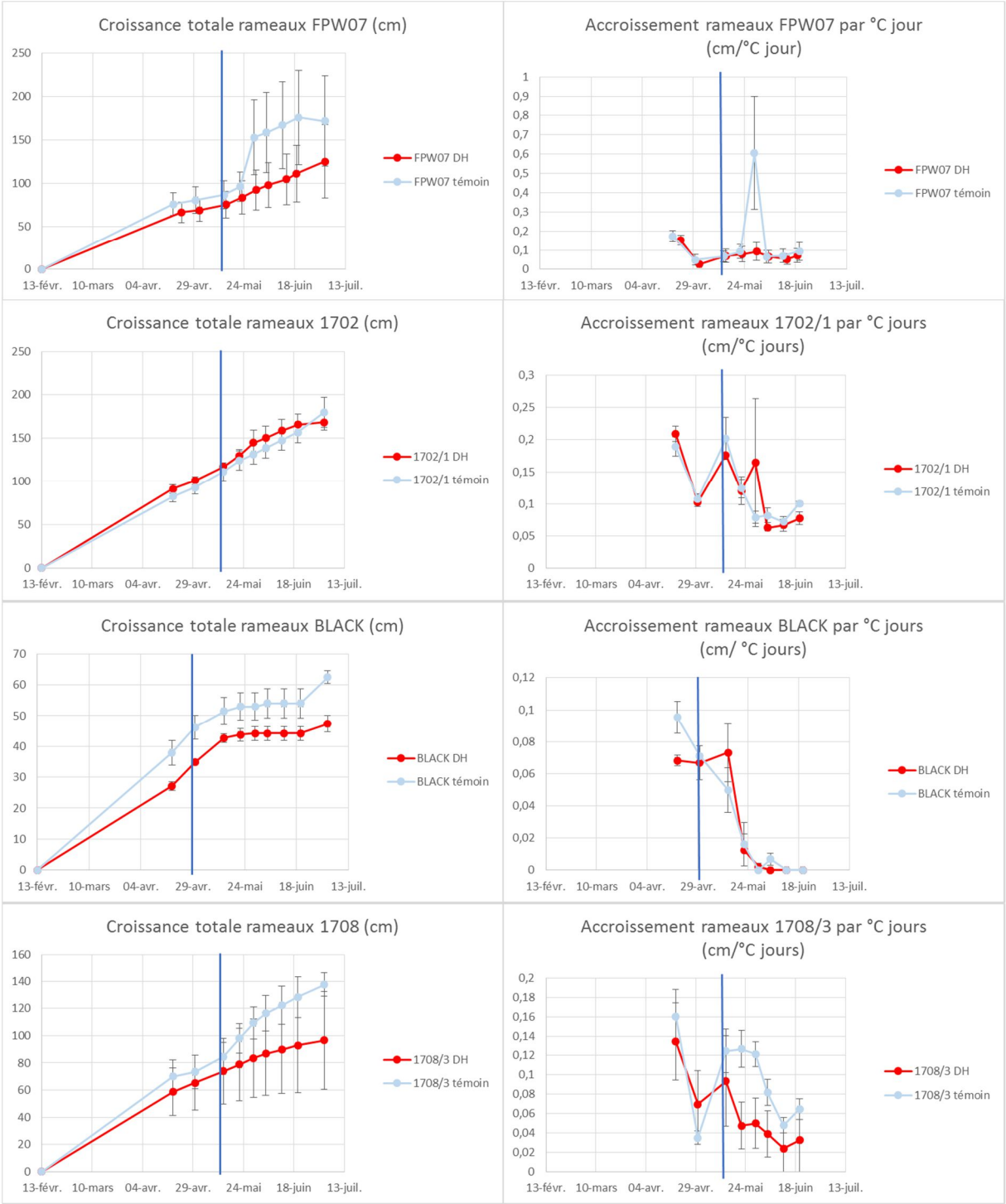


Figure 15 : Cinétique de longueur moyenne et taux d'accroissement par degré jour des rameaux par génotype et par condition pour quatre génotypes. *La barre bleue verticale symbolise la mise en place du stress hydrique* ; *DH = déficit hydrique ; Les valeurs correspondent à des moyennes de n = 3 mesures (± erreur type).*

4. Résultats

a. Croissance de la plante, phénologie et allocation de biomasse

Dans des conditions témoins (en bien irrigué), les génotypes ont, de base, des comportements différents. La croissance totale des rameaux est un critère qui permet de séparer les génotypes en deux groupes (figure 15). D'un côté 'BLACK' (*L. ruthenicum*) a des rameaux plutôt courts d'environ 50cm et de l'autre côté 'FPW07', '1702/1' et '1708/3' ont de rameaux plus longs de 140 à 170cm en fin de croissance. Bien que '1702/1' soit hybride entre 'FPW07' x 'BLACK', son caractère de croissance s'approche beaucoup plus de celui de *L. barbarum* en longueur moyenne (+150% par rapport à 'BLACK' et -10% par rapport à 'FPW07'). Cependant, un deuxième critère permet de constituer deux groupes totalement différents : il s'agit du nombre de feuilles sur un rameau (figure 16). Ici, il est possible de regrouper 'FPW07' et '1708/3' qui ont 90 à 100 feuilles sur un rameau et 'BLACK' et '1702/1' avec 180 à 250 feuilles par rameau. Cette fois-ci, le nombre de feuille sur un rameau, chez l'hybride '1702/1' semble être déterminé par *L. ruthenicum*. Il est important de noter que la croissance apparaît comme étant rythmique, avec des pics, et non comme une vraie courbe sigmoïde. Cette forte hétérogénéité inter-rameaux montre que plus de répétitions auraient été nécessaires. Enfin, pour ce qui est de la tomate, l'axe principal peut atteindre jusqu'à 200cm pour seulement 25 feuilles (figure 17).

L'impact d'un déficit hydrique sur l'allongement des rameaux primaires a été quantifié chez les quatre génotypes de *Lycium* (figure 15). De manière générale, la longueur moyenne des rameaux ne semble pas avoir été affectée par le stress hydrique sauf pour 'BLACK' où les plantes stressées ont des rameaux sensiblement différents à ceux des témoins (p-value < 0,05 d'après le test de Student) : 50cm en moyenne pour les plantes stressées et 60cm pour les témoins. Pour les autres génotypes, les longueurs des rameaux stressés ont tendance (tests statistiques non significatifs) à être plus faibles : 50cm d'écart pour 'FPW07' et 40cm pour '1708/3' au dernier jour de mesures. Toujours dans la figure 15, la vitesse d'allongement des rameaux par degré jours n'apparait pas comme impacté significativement après la mise en place du stress pour 'FPW07', '1702/1' et 'BLACK'. Ce constat n'est sans doute pas lié uniquement au faible échantillonnage qui conduit à une hétérogénéité dans les rameaux suivis mais aussi lié au choix des rameaux initiaux. En revanche, pour '1708/3', une différence est observée entre le 20 mai et le 09 juin. Pendant cette période, la vitesse d'allongement des rameaux de '1708/3' stressés est divisée par deux

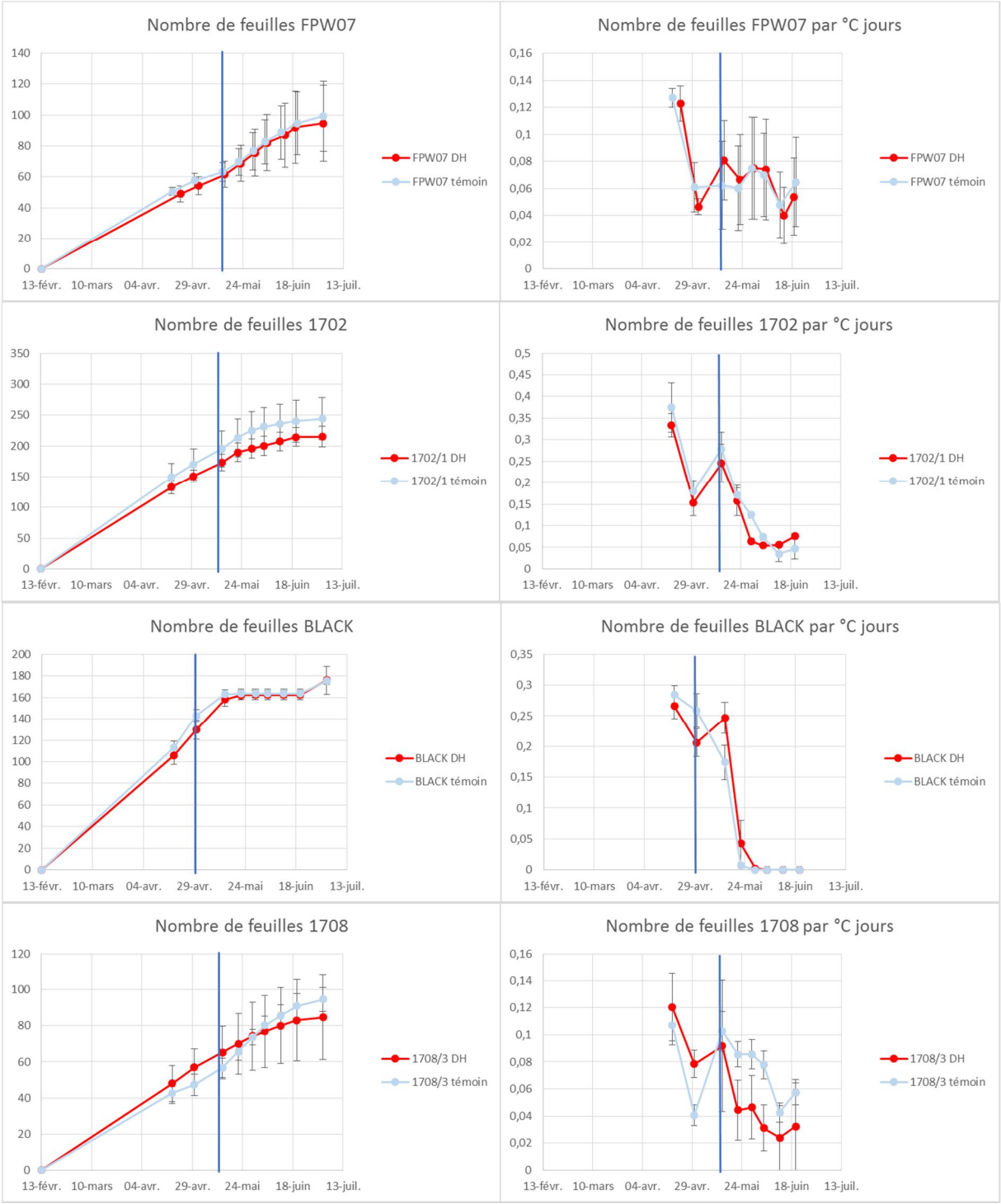


Figure 16 : Cinétique du nombre de feuilles moyen et nombre de feuilles par degré jour des rameaux par génotype et par condition pour quatre génotypes. *La barre bleue verticale symbolise la mise en place du stress hydrique* ; *DH = déficit hydrique ; Les valeurs correspondent à des moyennes de n = 3 mesures* (± erreur type).

en comparaison des témoins. Contrairement à la croissance totale qui semble affectée par ce type de stress, le nombre de feuilles total moyen sur un rameau tend à l'être un peu moins. En effet, pour 'FPW07' et 'BLACK', le nombre de feuilles total est identique pour les témoins et les stressés (figure 16). Alors que pour '1702/1' et '1708/3', la légère différence commence à se faire à partir du 24 mai. Cette date correspond à deux semaines après la mise en place du déficit hydrique. Pour ces deux génotypes, une différence de 10 feuilles en moyenne tend à être observée pour la dernière date de mesures (tests statistiques non significatifs). Egalement, la vitesse d'apparition de feuilles par degré jours n'est pas grandement impacté par le déficit hydrique sauf pour '1708/3' où ce taux tend à être deux fois plus élevé pour les témoins pendant la période du 20 mai au 09 juin exclu (tests statistiques non significatifs). Ainsi, le stress hydrique appliqué joue supposément un rôle plus important sur la taille des rameaux plutôt que sur le nombre de feuilles (sauf pour '1708/3').

Dans l'allocation de la biomasse, les génotypes étudiés emploient des stratégies différentes. *L. barbarum*, représenté par 'FPW07', a tendance à répartir sa biomasse fraîche de manière équilibrée entre les feuilles (300g) et les rameaux (200g) alors que *L. ruthenicum*, représenté par 'BLACK', dirige une quantité de biomasse fraîche plus importante au niveau des feuilles (500g) plutôt que des rameaux (200g) (figure 18A). 'Levovil' tend à allouer plus de biomasse fraîche dans les fruits mûrs (2kg) que dans le reste des parties aériennes (1,5kg). Maintenant pour ce qui est de la répartition de la biomasse sèche, *L. barbarum* a une biomasse plus importante dans les rameaux (50g) que dans les feuilles (20g) alors que *L. ruthenicum* fini par avoir une quantité de biomasse équilibrée entre les feuilles (40g) et les rameaux (50g) (figure 18B). La tomate tend également à avoir une biomasse plus équilibrée entre les fruits mûrs (100g), les feuilles (100g) et les rameaux (80g).

Le déficit hydrique a plus ou moins impacté la quantité de biomasse fraîche des plantes. Chez les génotypes '1708/3' et 'BLACK', la masse de feuilles tend à être réduite de manière plus importante que la masse des rameaux et fruits verts chez les plantes stressées (surtout chez '1708/3' où p-value < 0,05 d'après le test de Student) (figure 18A). En effet, les plantes en déficit hydrique ont tendance à allouer moins de biomasse dans les feuilles et, en moyenne, entre tous les génotypes de goji, la masse fraîche du tronc n'est pas significativement impactée par le régime hydrique (p-value > 0,05 d'après le test de Student). Chez la tomate 'Levovil', en moyenne, une plante stressée pèse 2kg contre 3,5kg pour une plante témoin. Un tel écart de masse entre des plantes témoins et stressées n'est pas

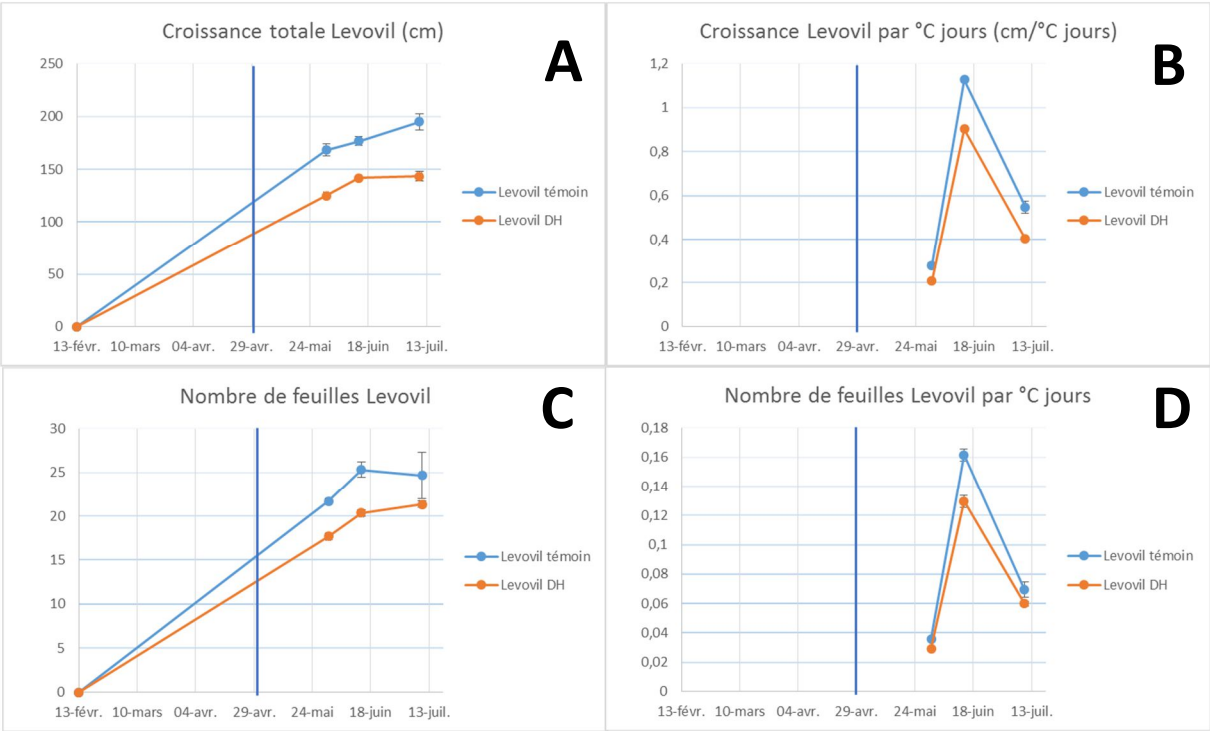


Figure 17 : Croissance et développement du génotype 'Levovil' par condition avec en A) la croissance totale (cm), en B) la croissance par °C jours (cm/°C jour), en C) le nombre de feuilles et en D) le nombre de feuilles par °C jours. *La barre bleue verticale symbolise la mise en place du stress hydrique* ; *DH = déficit hydrique ; Les valeurs correspondent à des moyennes de n = 3 mesures* (± erreur type).

observable du côté de *Lycium*. Pour ce qui est de la biomasse sèche, le déficit hydrique a également impacté le poids moyen entre deux plantes d'un génotype identique mais de modalités différentes (figure 18B). Cependant, l'écart de masse n'est pas aussi important que pour la biomasse fraîche. En termes de biomasse sèche des fruits mûrs, la différence est de 50g pour la tomate contre 1,5kg en biomasse fraîche fruits mûrs. Comme pour la biomasse fraîche, la répartition de la biomasse sèche tend à diminuer dans les fruits mûrs en priorité. Pour les génotypes avec peu de fruits, il s'agit de la masse des rameaux (plus fruits verts) qui semble être impactée prioritairement et s'en suit la masse des feuilles. Les biomasses sèches du tronc et des racines ne varient pas de manière significative en fonction du régime hydrique.

La figure 19 présente les mêmes données mais normalisées à 100% pour chaque modalité, afin de mieux comparer quels sont les compartiments privilégiés par les différents génotypes, et comment le déficit hydrique influence cette allocation. Cette analyse montre que les plantes en stress hydrique réduisent leur investissement dans les fruits. Dans le cas de 'Levovil' témoin, 50% en moyenne de la biomasse fraîche se situe dans les fruits mûrs contre presque 40% lors d'un déficit hydrique (figure 19A). De même pour 'FPW07' témoin, en moyenne il y a 15% de biomasse fraîche dans les fruits mûrs contre moins de 10% en cas de stress. Cependant, cette réduction n'est pas observée chez '1702/1'. Concernant '1708/3', il semble privilégier une distribution de biomasse fraîche plus importante dans les feuilles plutôt que dans les rameaux (plus fruits verts) lorsqu'il est soumis à un déficit hydrique alors qu'en condition témoin, il tend à équilibrer cette biomasse dans les feuilles et dans les rameaux. 'BLACK' ne voit pas sa répartition de biomasse fraîche varier en fonction de la modalité.

Au niveau de la distribution de la biomasse sèche dans la plante, la tomate montre des pourcentages de biomasse relativement similaires entre témoin et stressé (figure 19B). '1702/1' transfère en moyenne un peu plus de biomasse sèche des feuilles vers les racines en cas de déficit hydrique alors que 'FPW07', dans les mêmes conditions, réparti moins de biomasse dans les fruits mûrs et plus dans le tronc. Suite à un stress hydrique, '1708/3' réduit sa proportion de biomasse dans les rameaux pour augmenter celle dans le tronc alors que 'BLACK' semble transférer la biomasse des parties aériennes dans la partie souterraine. La biomasse sèche totale du 'BLACK' se retrouve alors à 20% dans les racines (lors du stress) contre 15% environ chez le témoin. De manière générale, la quantité de biomasse de la partie aérienne de la plante est réduite et celle de la partie souterraine reste dans l'ensemble globalement constante suite à un stress hydrique pour ces génotypes.

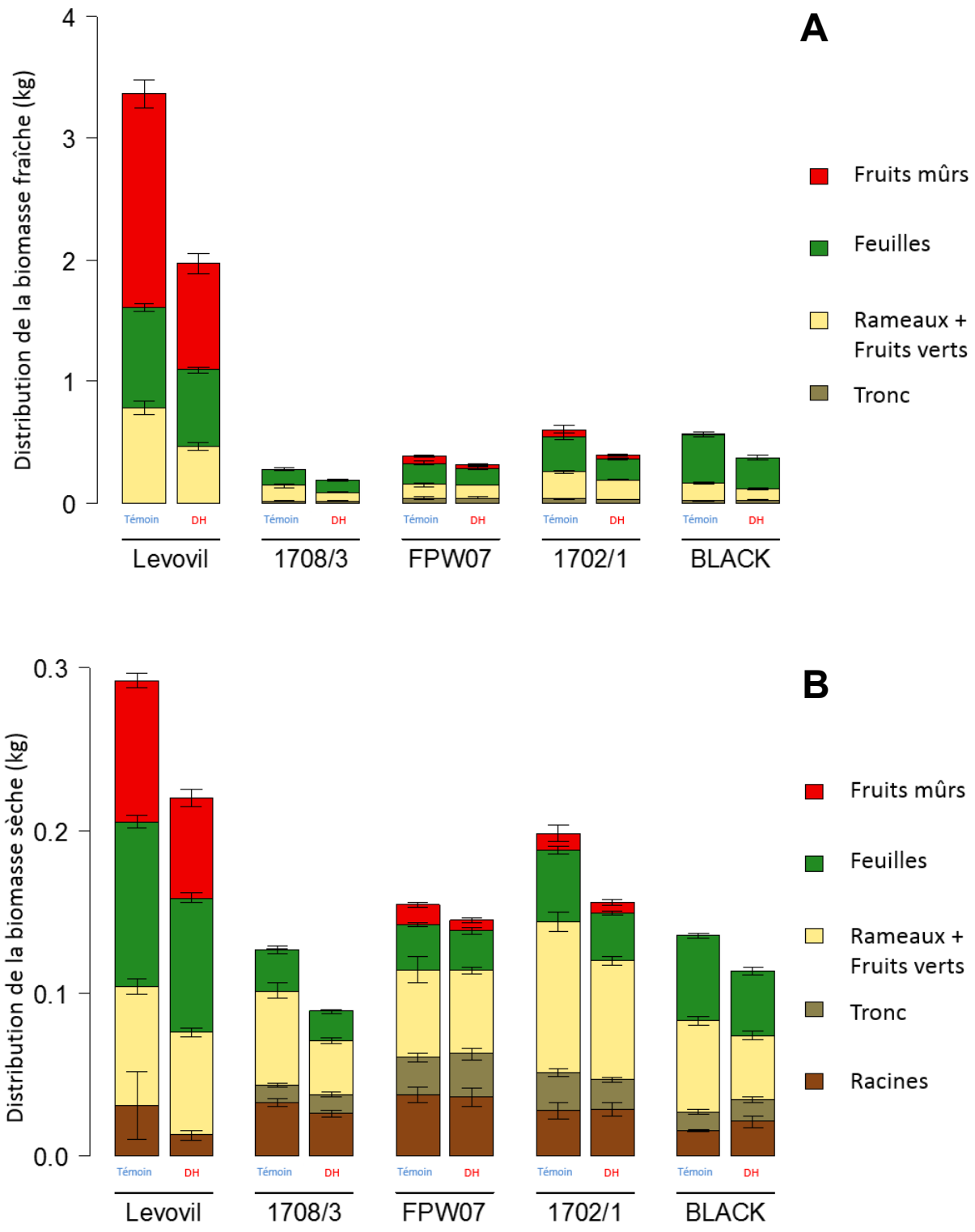
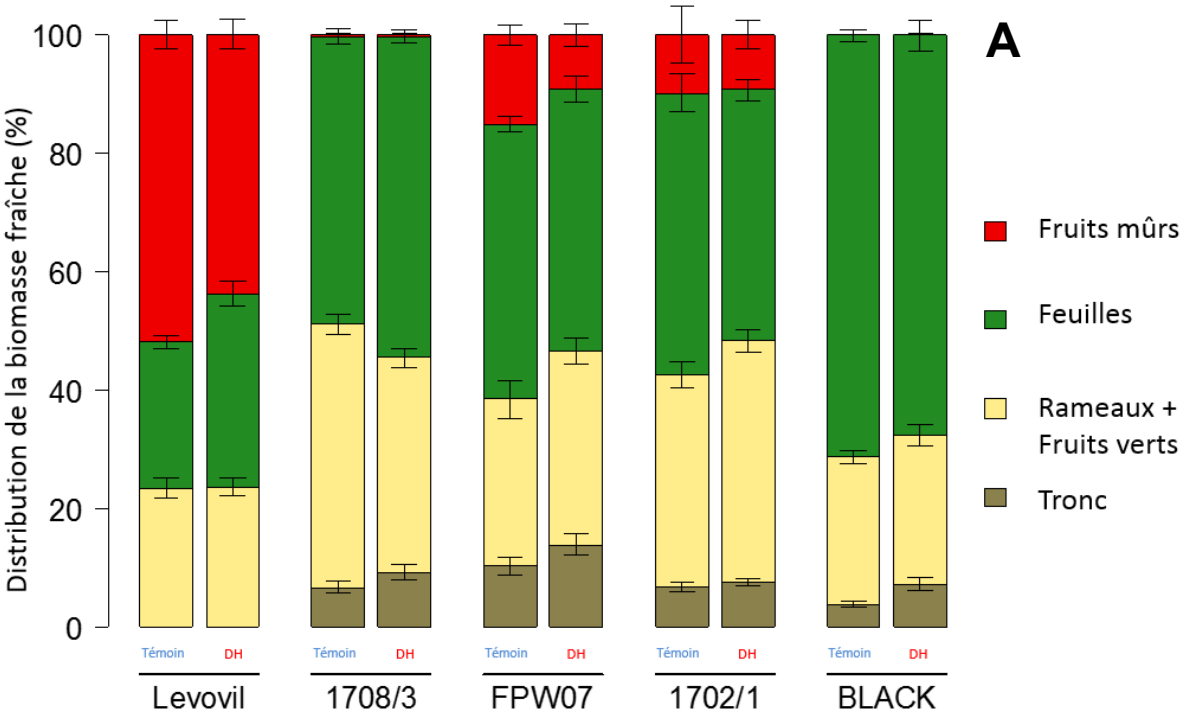


Figure 18 : Répartition des biomasses fraîche (en A) et sèche (en B) par plante pour les différents génotypes. *DH = déficit hydrique. Les valeurs correspondent à des moyennes de n ≥ 7 mesures* (± *erreur type)*

Le rendement moyen par plante est fortement impacté suite à un déficit hydrique chez les génotypes ayant donné suffisamment de fruits pour permettre cette analyse, comme 'Levovil' et 'FPW07' où le rendement est presque réduit de moitié (figure 20). Cette même tendance est observée chez '1702/1', mais elle n'est pas significative. Le stress hydrique affecte le poids moyen frais d'un fruit chez la tomate avec 145g pour un fruit non stressé et 80g pour un fruit stressé (figure 21). Cet effet n'est pas observé chez *Lycium*.

Ainsi, chez *Lycium*, le déficit hydrique affecte le rendement en diminuant la floraison et non le poids moyen d'un fruit. Les analyses montrent que pour 'FPW07', avant la mise en place du stress, une plus grande proportion de plantes, qualifiées de « témoin » par la suite, avaient déjà des fleurs (figure 22). Cela peut expliquer pourquoi la différence entre les deux modalités est déjà si marquée juste après l'induction du déficit hydrique. La chute observée sur la courbe du 'FPW07' témoin s'explique par cette quantité de fleurs qui ont noué (ou sont tombées) étant plus importante que la quantité de fleurs produites. '1702/1' a un taux de floraison globalement très faible avant la date du stress hydrique. Une fois mis en place, bien que les témoins soient très hétérogènes, l'impact du déficit sur son nombre de fleurs est significatif à la date du 09 juillet (p-value < 0,05 d'après le test de Student). En revanche, au niveau de la floraison, '1702/1' tend à se comporter plutôt comme *L. barbarum* en faisant peu de fleurs début mai et augmenter ce nombre progressivement. Chez 'BLACK', la floraison a été très abondante en conditions bien irrigué comme en stress hydrique (figure 22), mais le sévère défaut de nouaison y compris en bien irrigué ne nous permet pas d'évaluer l'effet du déficit hydrique sur les composantes du rendement. 'BLACK' a très rapidement produit beaucoup de fleurs : entre 60 et 100 au 30 avril avec une moyenne d'une fleur par °C jour (donc avant la mise en place du déficit hydrique). A cette même date, aucun autre génotype n'avait commencé l'étape de floraison. La floraison du génotype 'BLACK' a été suivie une dernière fois le 03 mai (sauf date de récolte finale) car, dans les dates ultérieures, il avait déjà perdu une grosse quantité de fleurs tout en continuant d'en produire en continu. Pour une mesure précise, il aurait fallu à la fois compter le nombre de fleurs sur la plante mais également le nombre de fleurs perdues à chaque date. '1708/3' n'a pas produit suffisamment de fleurs pour évaluer si le stress a un effet sur les composantes du rendement. Concernant le taux de nouaison des génotypes, la figure 23 montre que 'FPW07' possède le taux le plus élevé avec 60% en témoin. S'en suit '1708/3' avec 20%, puis '1702/1' avec 12% et enfin 'BLACK' avec 0,07%. Les génotypes 'FPW07' et '1708/3' tendent à voir leur taux de nouaison diminuer après le stress hydrique : 42% et 5% respectivement. Alors que cela tend à



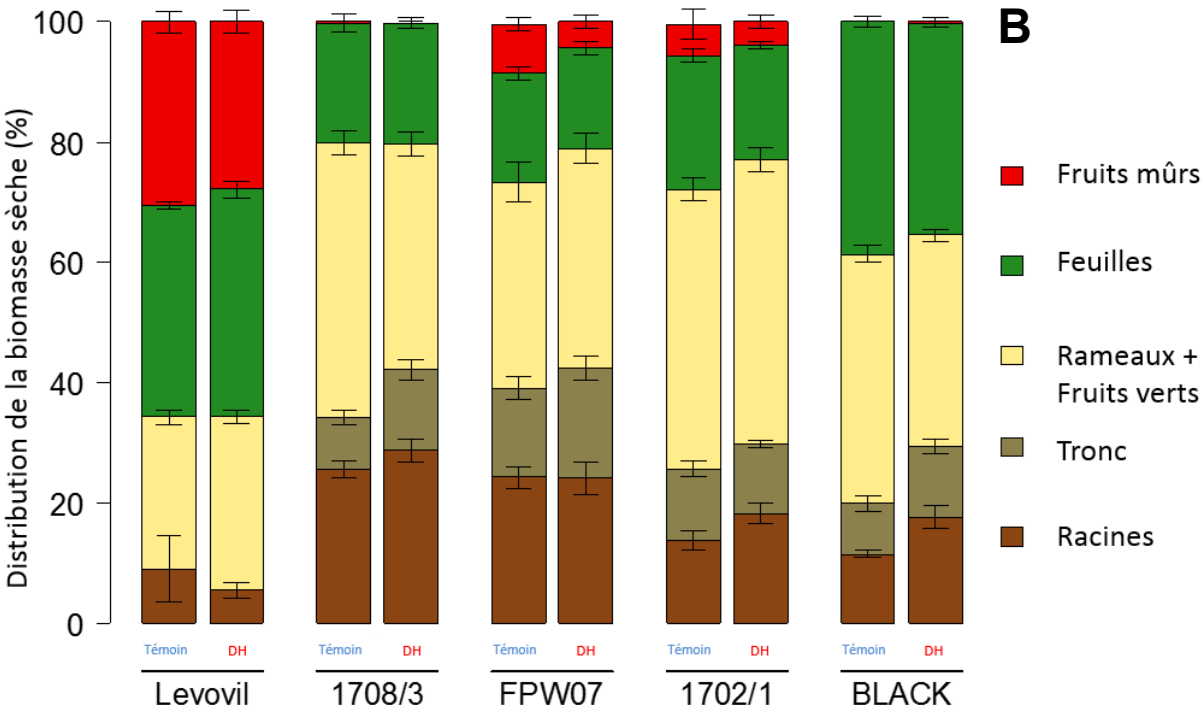


Figure 19 : Pourcentage de répartition des biomasses fraîche (en A) et sèche (en B) par plante pour les différents génotypes. *DH = déficit hydrique. Les valeurs correspondent à des moyennes de n ≥ 7 mesures (± erreur type).*

augmenter pour '1702/1' et 'BLACK' après le stress : 15% et 0,4% respectivement. Cependant, cet effet du déficit hydrique sur ce taux de nouaison n'est significatif pour aucun génotype. Avec un échantillonnage plus important, il aurait certainement pu être possible de conclure sur l'effet potentiel du stress hydrique sur le taux de nouaison mais, pour l'étude, cet effet n'affecte pas ce taux.

La teneur en matière sèche du fruit et le °Brix sont de bons indicateurs de qualité du fruit. Pour les quatre génotypes de gojis, cette teneur en matière sèche ne varie pas significativement entre une plante stressée et une non-stressée, mais elle varie pour la tomate qui passe de 5% en condition témoin à 7% en condition de stress (figure 24). Le fruit de *L. barbarum*, représenté ici par le génotype 'FPW07', apparait comme étant de meilleure qualité (sur la base de la teneur en matière sèche) que le fruit de *L. ruthenicum*, représenté par le génotype 'BLACK'. Concernant le °Brix, tous les génotypes dont les modalités peuvent être comparées indiquent que le déficit hydrique a tendance à augmenter ce °Brix ce qui signifie que les fruits sont plus concentrés en solides solubles (sucres solubles + acides organiques) que les fruits en condition témoin (figure 25). '1702/1', apparaît inférieur au parent 'FPW07', mais les données ne sont pas disponibles sur le second parent 'BLACK' faute de fruits.

b. Relations hydriques et échanges gazeux

i. Potentiel hydrique foliaire

Pour comprendre le mode de fonctionnement des différents génotypes face à la contrainte hydrique, les potentiels hydriques de base et au midi solaire ont été analysés (figure 26). 'Levovil' a des valeurs de potentiels hydriques de l'ordre de -0,5MPa, que ce soit en stress ou non, et ne varient pas en fonction de la période de la journée. Ce comportement est caractéristique des plantes isohydriques. Cependant, au vu des données de caractérisation du sol qui ont conduit à choisir ces teneurs en eau du sol (voir Matériel et Méthodes), un potentiel de base plus proche de -0.1 MPa était plutôt attendu en bien irrigué. Or, cette valeur de -0.1 MPa est bien celle qui a été observée au cours de notre expérimentation lorsqu'elle a été mesurée à la chambre à pression, une autre méthode de détermination de $Y_{feuille}$ (non montré). Des analyses réalisées sur vigne montrent le même type d'écart entre les deux méthodes, sans que l'affirmation puisse être faite concernant laquelle des deux méthodes procure la meilleure estimation du $Y_{feuille}$ (Florent Pantin, communication personnelle). La technique de la chambre à pression n'étant pas adaptée à *Lycium* à cause de l'absence de

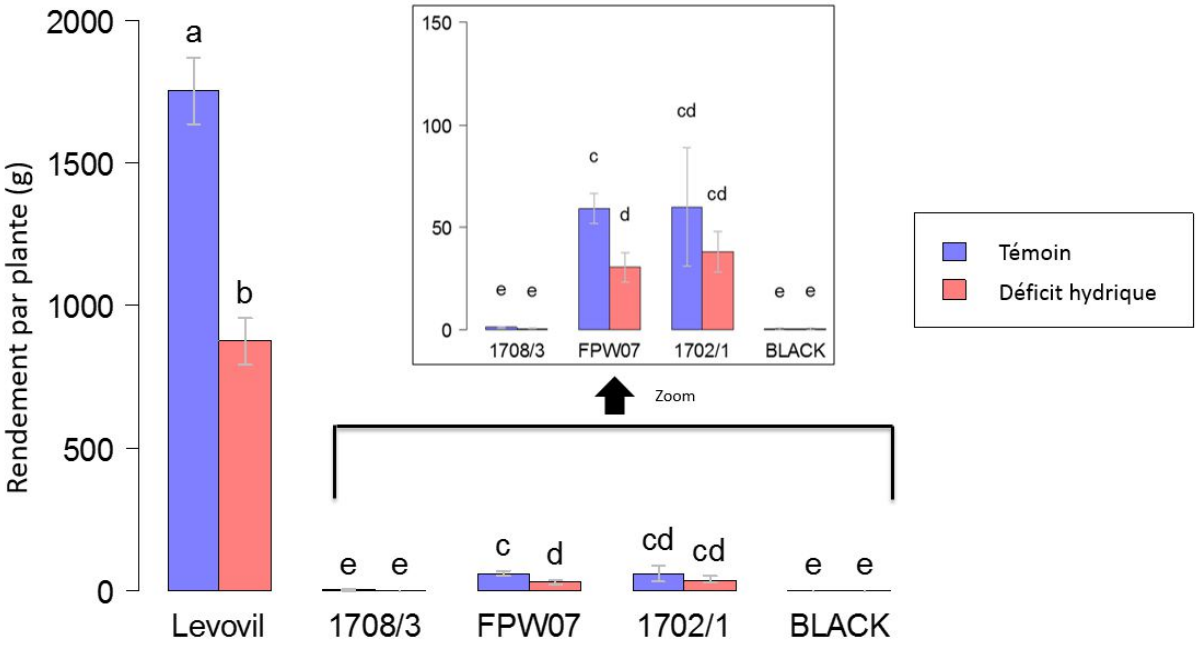


Figure 20 : Rendement moyen en fruits par plante et par condition. *Les valeurs correspondent à des moyennes de 6 ≤ n ≤ 10 mesures (± erreur type); deux lettres différentes pour un même génotype indiquent un écart significatif d'après le test Kruskal-Wallis suivi d'un test de comparaisons multiples dont la p-value est ajustée avec la méthode Benjamini-Hochberg. Le même test est appliqué pour tous les graphes suivants.*

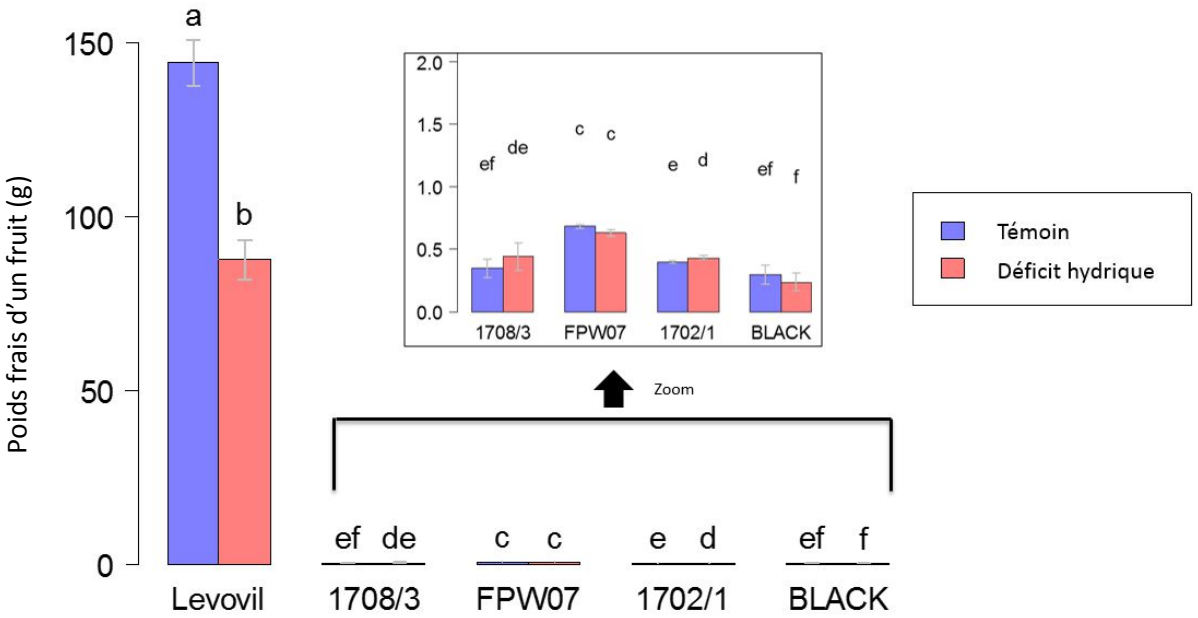


Figure 21 : Poids frais moyen d'un fruit par plante et par condition. *Les valeurs correspondent à des moyennes de 6 ≤ n ≤ 10 mesures (± erreur type).*

pétiole, cette question méthodologique ne sera plus évoquée et uniquement des données issues du psychromètre seront présentées.

Contrairement à la tomate, 'FPW07' et '1708/3' montrent un comportement de type anisohydrique, avec des potentiels de base globalement plus bas (-1 MPa) et une dépression de potentiel au midi solaire de l'ordre de 0,3 MPa en bien irrigué et qui double avec le déficit hydrique du sol. Le génotype 'BLACK' est quant à lui plus isohydrique (mais moins que la tomate), avec un potentiel de base de -0,7 MPa en bien irrigué et de -1 MPa en déficit hydrique, et une dépression de potentiel au midi solaire proche de -0,3 MPa quel que soit le régime hydrique. Enfin, '1702/1' montre des valeurs intermédiaires par rapport à ses deux parents.

Le potentiel osmotique foliaire reste peu variable pour un génotype donné (figure 27). Il est globalement plus élevé chez la tomate (-1MPa à -1,5MPa) que chez les variétés de goji qui présentent des valeurs extrêmement basses (-2MPa à -2,5MPa). La pression de turgescence, calculée comme la différence entre le potentiel hydrique total et le potentiel osmotique pour chaque échantillon, est globalement élevée, avec des valeurs fréquemment supérieures à 1 MPa (figure 28). Chez les gojis, cette pression tend à diminuer avec la contrainte hydrique et la demande évaporative, en cohérence avec leurs effets hydrauliques connus. Cependant, 'FPW07' et '1708/3' sont moins sensibles à cet effet, avec une turgescence qui diminue peu. A l'inverse, chez la tomate, la turgescence est globalement plus faible et tend à augmenter lorsque les conditions hydriques deviennent plus exigeantes.

ii. Photosynthèse et conductance stomatique

La photosynthèse nette mesurée à un PAR interne de 1500 µmol m^{-2} s^{-1} est globalement élevée chez tous les génotypes, avec des valeurs comprises entre 15 et 20 µmol m^{-2} s^{-1} (figure 29). 'BLACK' montre des valeurs deux à trois fois moins élevées, mais la petite taille de ses feuilles a fait qu'une chambre d'échanges gazeux sans lumière additionnelle a dû être utilisée spécialement pour ce génotype (voir Matériel et Méthodes). En conséquence, le PAR interne était deux à trois plus faible (Annexe 2 PAR_{in}), expliquant les différences observées. La photosynthèse nette est significativement affectée par le régime hydrique uniquement chez 'Levovil' et '1702/1' qui perdent 6 et 3 µmol m^{-2} s^{-1}, respectivement (figure 29). Chez les autres génotypes, la baisse observée en déficit hydrique n'est pas significative.

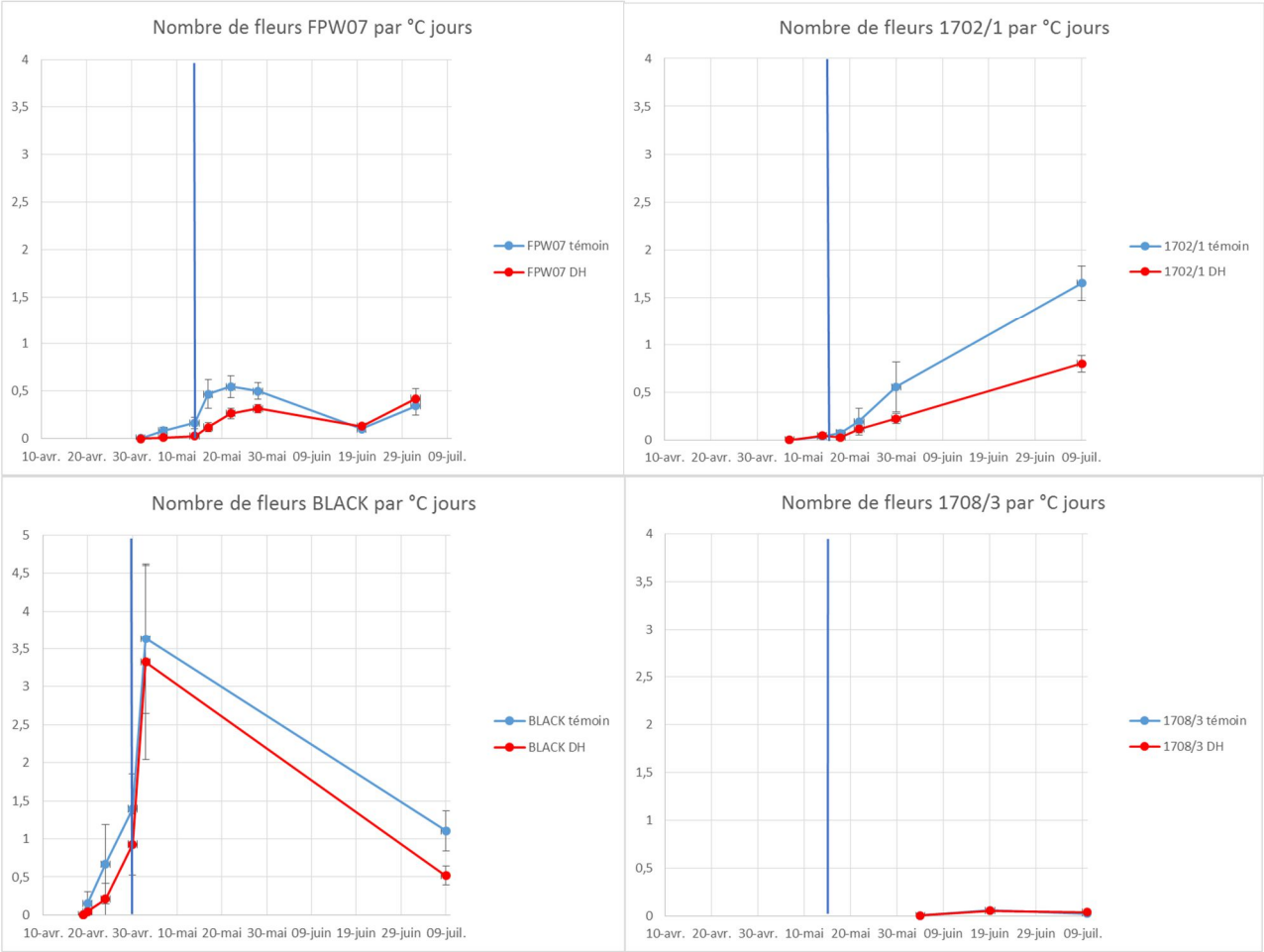


Figure 22 : Cumul du nombre de fleurs par degré jours par génotype et par condition. *La barre bleue verticale symbolise la mise en place du stress hydrique* ; *Les valeurs correspondent à des moyennes de 6 ≤ n ≤ 8 mesures (± erreur type).*

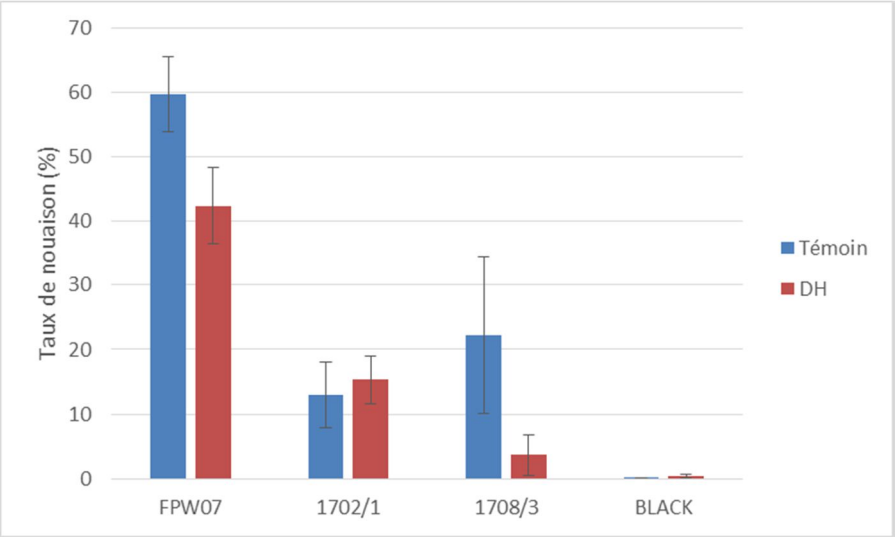


Figure 23 : Taux de nouaison des génotypes par condition. *Les valeurs correspondent à des moyennes de 6 ≤ n ≤ 8 mesures (± erreur type).*

En situation bien irrigué, la conductance stomatique (figure 30) est particulièrement élevée chez trois génotypes, avec 0,35 mol m^{-2} s^{-1} chez 'Levovil' et 0,25 mol m^{-2} s^{-1}chez 'FPW07' et '1708/3'. Elle est plus modeste chez '1702/1', avec 0,15 mol m^{-2} s^{-1}. Le déficit hydrique affecte fortement la conductance stomatique chez ces quatre génotypes, mais cette baisse n'est pas significative chez '1708/3' qui présente une forte variabilité en bien irrigué. Chez 'BLACK', la conductance stomatique est inférieure à 0,1 mol m^{-2} s^{-1}, en partie pour la même raison que précédemment (PAR interne plus faible), et n'est pas significativement affectée par le stress hydrique.

Il est à noter que le PAR externe était en moyenne plutôt autour de 1000 µmol m^{-2} s^{-1} (Annexe 3 PAR_{out}). Lors des mesures à 1500 µmol m^{-2} s^{-1}, une augmentation de PAR est introduite et la plante dispose seulement de quelques minutes (le temps de la mesure) pour s'y acclimater. Alors que la machinerie photosynthétique répond instantanément à cette variation de PAR, les stomates n'ont pas forcément le temps d'atteindre leur ouverture maximale en réponse à cette augmentation. Ainsi, il est plausible que nos mesures de conductance stomatique (et en cascade, de photosynthèse nette) soient légèrement sous-estimées à cause de cet effet. De plus, le hasard de l'échantillonnage ayant fait que le PAR externe est légèrement plus élevé en stress hydrique qu'en bien irrigué chez 'FPW07' et '1708/3', un échantillonnage mieux équilibré (et plus conséquent) aurait peut-être permis de rendre l'effet du déficit hydrique sur la photosynthèse et la conductance significatif chez ces deux génotypes. En revanche, le PAR externe est significativement plus élevé en bien irrigué qu'en déficit hydrique chez 'BLACK'. L'absence d'effet du déficit hydrique sur Pn et gs est donc d'autant plus remarquable – même si ces deux variables sont sujettes à une limitation par la lumière dans les conditions expérimentales de l'étude.

iii. Conductance hydraulique foliaire en réponse à l'ABA

Pour déterminer la conductance hydraulique foliaire, il faut mesurer la transpiration des feuilles et le potentiel hydrique foliaire de ces mêmes feuilles (voir Matériel et Méthodes). Concernant la transpiration sans ajout d'ABA, la tomate et '1708/3' ont des valeurs plus basses (entre 1 et 1,5 mmol m^{-2} s^{-1}) que 'FPW07', '1702/1' et 'BLACK' (entre 2 et 2,7 mmol m^{-2} s^{-1}) (figure 31). Dès lors qu'il y a un ajout d'ABA exogène, les valeurs de transpiration diminuent pour tous les génotypes. La baisse de la transpiration est d'un facteur 2 pour 'Levovil' et 'BLACK' et d'un facteur d'environ 4 pour les trois autres.

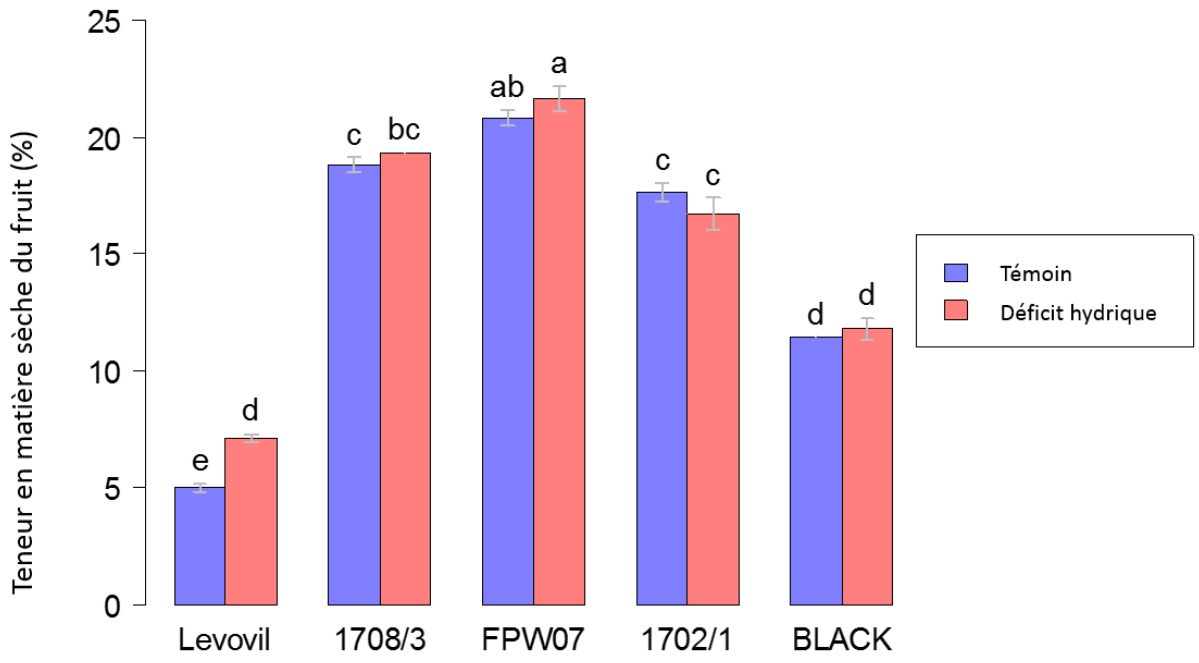


Figure 24 : Teneur en matière sèche moyenne d'un fruit par génotype et condition.

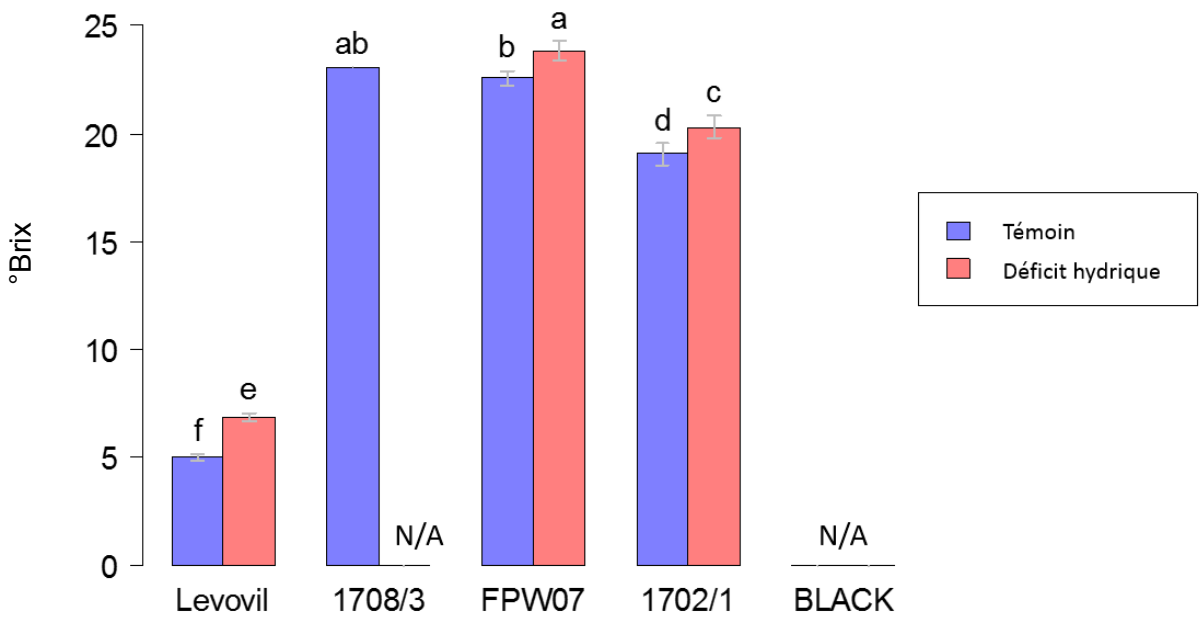


Figure 25 : Degré Brix moyen des fruits par génotype et condition. *N/A = Non Applicable.*

En s'intéressant maintenant au potentiel hydrique foliaire de ces mêmes échantillons (figure 32), ces mesures sur feuilles détachées et alimentées en eau sont tout à fait cohérentes avec celles obtenues *in planta* (figure 26, barres bleu clair). Tous les génotypes de goji ont des potentiels plus faibles (-1,5 à -2 MPa) que la tomate (-0,5 MPa). Bien que ce ne soit pas significatif, le potentiel hydrique tend à augmenter après l'ajout d'ABA pour toutes les variétés, en cohérence avec l'effet négatif de cette hormone sur la transpiration.

Finalement, l'opposé du ratio entre la transpiration et le potentiel hydrique permet de déterminer la conductance hydraulique foliaire. En l'absence d'ABA, cette valeur de conductance est en moyenne plus faible chez les gojis que chez la tomate : entre 0,75 et 2,5 mmol m^{-2} s^{-1} MPa^{-1} pour les gojis et 3 mmol m^{-2} s^{-1} MPa^{-1} pour 'Levovil' (figure 33). Dès lors qu'il y a un ajout d'ABA exogène, les valeurs de conductance diminuent pour tous les génotypes de l'étude. Cependant, cette diminution est plus faible chez 'Levovil' et 'BLACK' (une différence de 0,5 mmol m^{-2} s^{-1} MPa^{-1} environ) que chez les autres génotypes de où cette différence peut varier d'un facteur 4 à 5. Ce résultat est en contradiction avec l'hypothèse que la conductance hydraulique foliaire des plantes anisohydriques est insensible à l'ABA.S

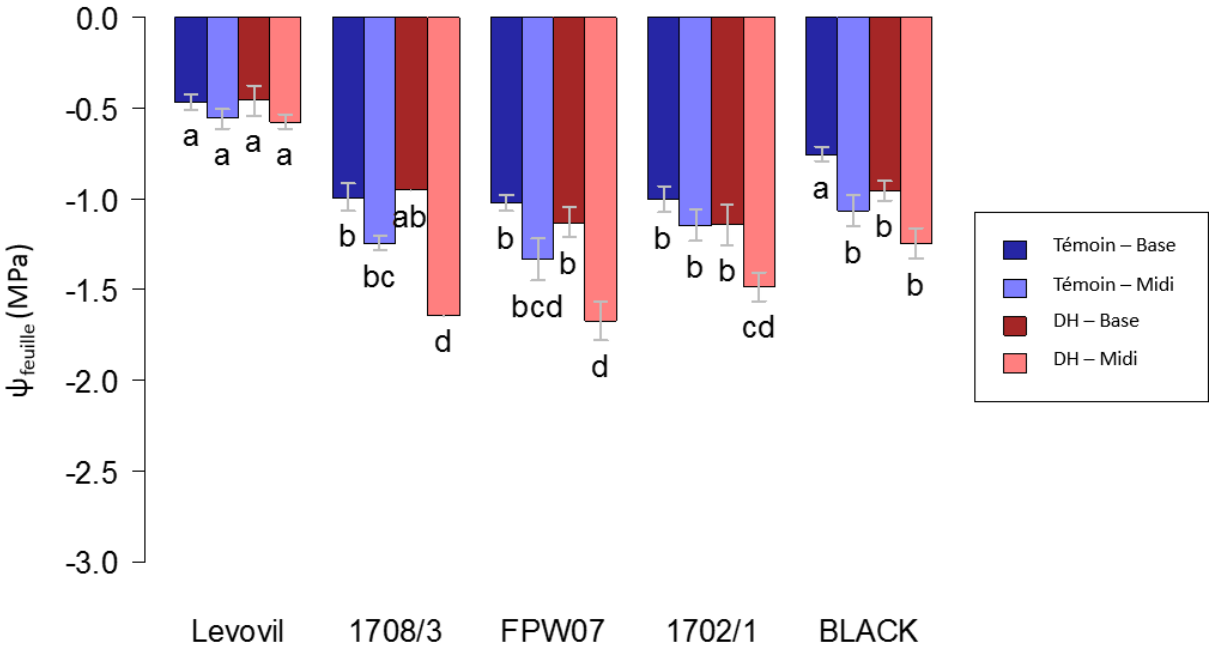


Figure 26 : Potentiel hydrique foliaire moyen par génotype et par condition. *DH = déficit hydrique ; Les valeurs correspondent à des moyennes de 1 ≤ n ≤ 11 mesures (± erreur type).*

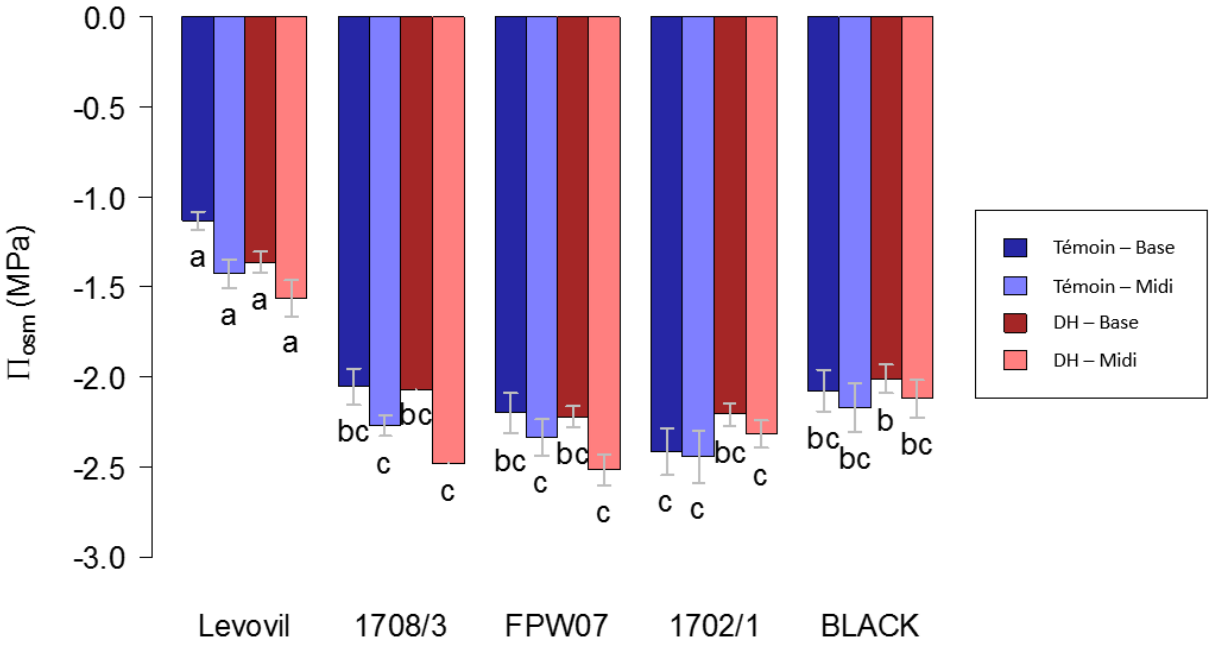


Figure 27 : Potentiel osmotique foliaire moyen par génotype et par condition. *DH = déficit hydrique ; Les valeurs correspondent à des moyennes de 1 ≤ n ≤ 11 mesures (± erreur type).*

5. Discussion

a. Effet du stress hydrique sur les différentes variables

Lorsque les plantes subissent un stress hydrique, la croissance est ralentie alors que la concentration en carbones, dans la plante, augmente ce qui peut être dû à un effet plus tardif et moins intense sur la photosynthèse et le métabolisme mais plus précoce sur l'expansion des organes (Muller *et al.*, 2011).

Dans cette étude, les paramètres qui sont affectés significativement par le déficit hydrique, chez les gojis, sont la biomasse fraîche, la floraison et la conductance stomatique. La croissance des rameaux tend à diminuer suite au stress hydrique mais n'ayant pas de résultats significatifs, cela ne confirme pas en l'état l'étude de Muller *et al.* (2011).

Les variables qui semblent avoir été les moins impactées par le stress hydrique sont l'apparition de nouvelles feuilles sur les rameaux primaires et la photosynthèse. A titre de comparaison, chez deux cultivars de vigne, Lebon *et al.* (2006) montrent que l'émergence de nouvelles feuilles sur les axes secondaires est une des variables les plus fortement atteintes lors d'un déficit hydrique modéré à sévère, mais que le taux d'apparition de feuilles sur l'axe principal et la photosynthèse ne variaient pas d'une modalité à l'autre. Ici, la photosynthèse du génotype de tomate 'Levovil' a varié significativement en condition de stress alors que les génotypes de *Lycium* ont été bien moins impactés. L'étude de Ripoll *et al.* (2016) sur le comportement de 'Levovil' face à un déficit hydrique confirme bien que la machinerie photosynthétique est un des paramètres principalement affecté.

Le poids frais d'un fruit 'FPW07' n'a pas été affecté par ce stress hydrique et est de l'ordre de 0,6g. Ce poids moyen d'un fruit de *L. barbarum* est cohérent avec l'étude de Zhao *et al.* (2015) sur les cultivars 'Damaye', 'Baihua' et 'Ningqi No.1' 34 jours après floraison. Le poids frais d'un fruit de '1702/1' est significativement plus faible que chez 'FPW07', et est augmenté par le déficit hydrique. A contrario, la tomate stressée perd beaucoup sur le poids d'un fruit

Dans l'ensemble, bien que la tomate et le goji fassent partie de la famille des Solanacées, 'Levovil' a eu des réponses beaucoup plus fortes après un déficit hydrique et notamment au niveau des échanges gazeux mais aussi au niveau du rendement et de la qualité

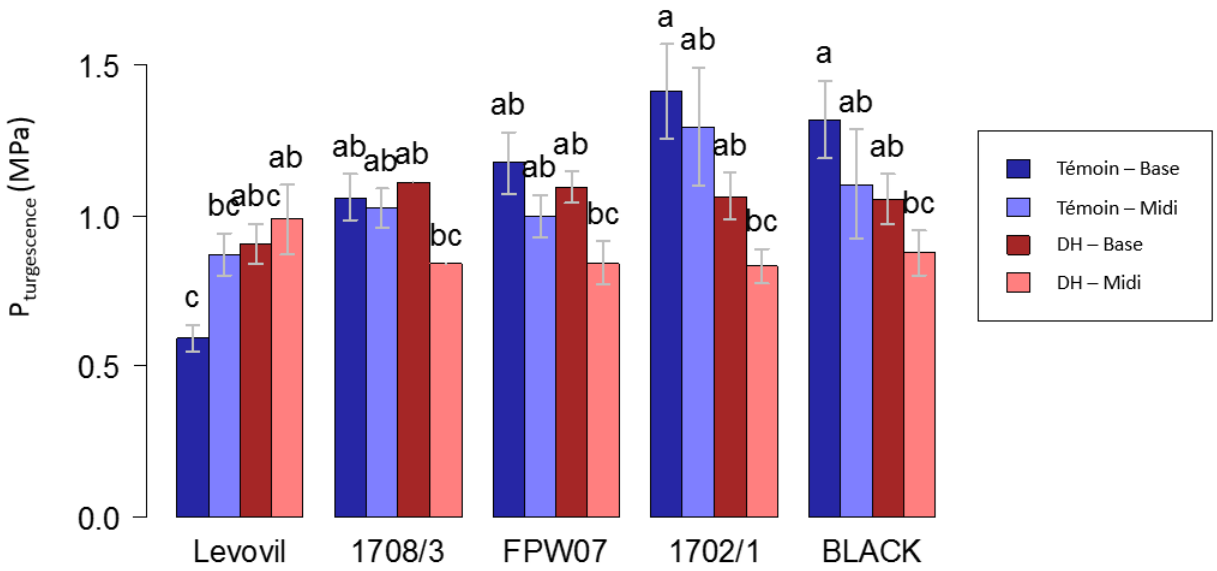


Figure 28 : Pression de turgescence moyenne par génotype et par condition. *DH = déficit hydrique ; Les valeurs correspondent à des moyennes de 1 ≤ n ≤ 11 mesures (± erreur type).*

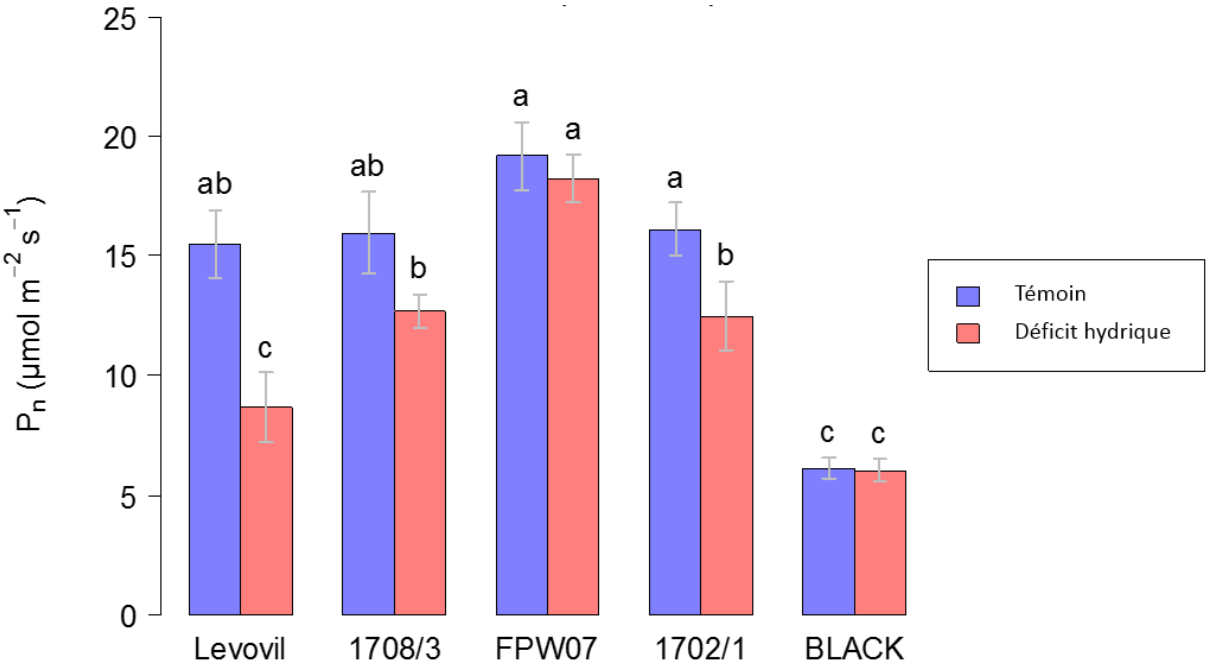


Figure 29 : Photosynthèse moyenne par génotype et par condition. *Valeurs dont le PAR_{out} ≥ 600 µmol m^{-2} s^{-1} ; Les valeurs correspondent à des moyennes de 3 ≤ n ≤ 14 mesures (± erreur type).*

des fruits que les différents génotypes de goji. Il est important de préciser que *Lycium ruthenicum* (‘BLACK’) a très peu répondu au stress hydrique appliqué ici.

b. Aspects génotypique et phénotypique des hybrides

Le génotype ‘1702/1’ est supposé être un hybride entre ‘FPW07’ (*L. barbarum*) et ‘BLACK’ (*L. ruthenicum*), et ‘1708/3’ un hybride entre ‘FPW07’ et *S. lycopersicum*. Concernant ‘1702/1’, certains de ses caractères sont plus proche d’un parent que de l’autre comme par exemple la longueur moyenne des rameaux et la teneur en matière sèche des feuilles qui s’approchent plus du caractère du *L. barbarum* alors que l’apparition de nouvelles feuilles et la forme des fruits sont plutôt des caractères empruntés à *L. ruthenicum.* D’autant plus que ces deux parents sont connus pour avoir des fruits très différents au niveau de la forme et de la couleur mais également pour la teneur en eau et le poids moyen d’un fruit. Ici, un fruit ‘FPW07’ a une masse fraîche moyenne significativement plus haute qu’un fruit ‘BLACK’ et ces résultats sont conformes à ce qui est décrit dans l’étude de Wang *et al.* (2018) pour les différences phénotypiques des fruits entre les deux parents. Des caractères tels que le poids frais moyen d’un fruit, la teneur en matière sèche du fruit, le °Brix, le degré d’anisohydrie, la conductance stomatique, la transpiration, la photosynthèse, la conductance hydraulique foliaire en réponse à l’ABA et aussi la couleur des fruits constituent des caractères intermédiaires entre les deux parents. Enfin, certains de ses caractères transgressent les valeurs parentales, comme la ramification secondaire ou le poids d’un rameau primaire. Tout cela confirme la nature hybride de ce génotype issu d’un croisement interspécifique.

Pour ‘1708/3’ en revanche, les analyses phénotypiques mettent en doute la nature hybride de ce génotype, quand bien même les premières données de génotypage suggéraient que l’hybridation intergénérique était effective. Les seules variables pour lesquelles ‘1708/3’ possède des valeurs moyennes intermédiaires entre *L. barbarum* et la tomate sont la photosynthèse (variable très influencée par l’environnement) et la teneur en matière sèche d’un fruit (variable faiblement représentative car peu de fructification sur ‘1708/3’). Selon les données de croissance obtenues, le ‘1708/3’ se rapproche du ‘FPW07’ et, également, la forme et la couleur des fruits sont identiques à l’œil nu. Dans l’ensemble, le génotype ‘1708/3’ ne se comporte pas comme un hybride, mais comme un mutant de ‘FPW07’ présentant une sensibilité sur la fructification dans nos conditions de serre. Il est possible d’émettre l’hypothèse que le nombre de marqueurs microsatellites utilisés pour ce premier génotypage

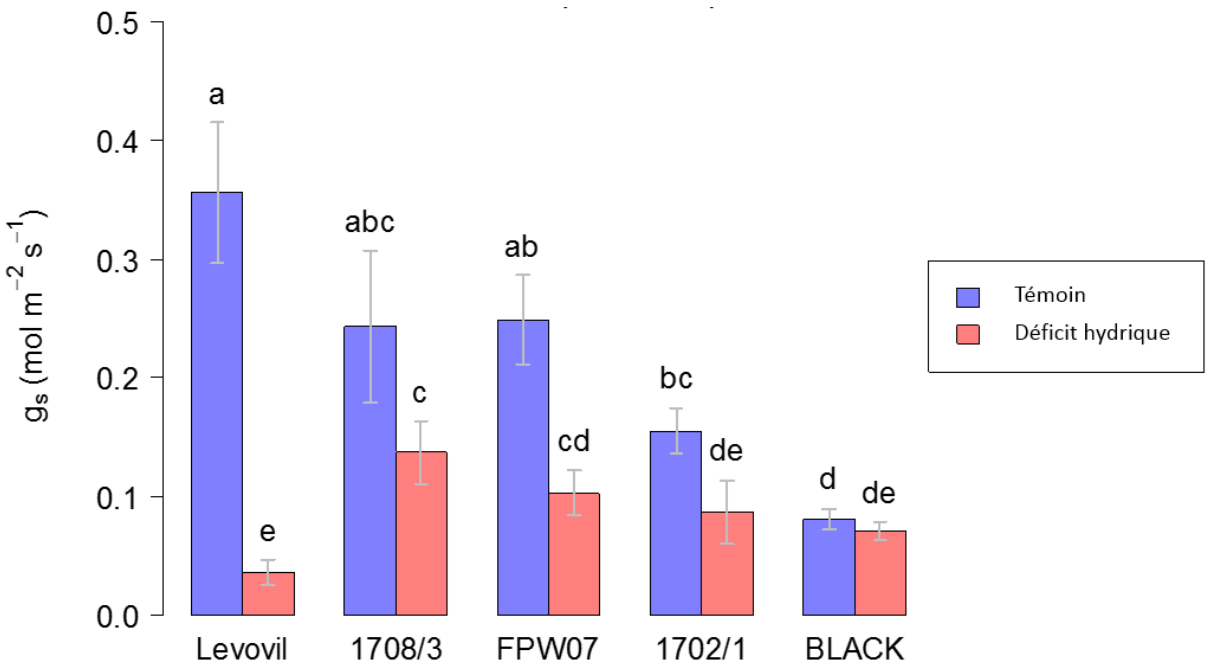


Figure 30 : Conductance stomatique moyenne par génotype et par condition. *Valeurs dont le PAR_{out} ≥ 600 µmol m^{-2} s^{-1} ; Les valeurs correspondent à des moyennes de 3 ≤ n ≤ 14 mesures (± erreur type).*

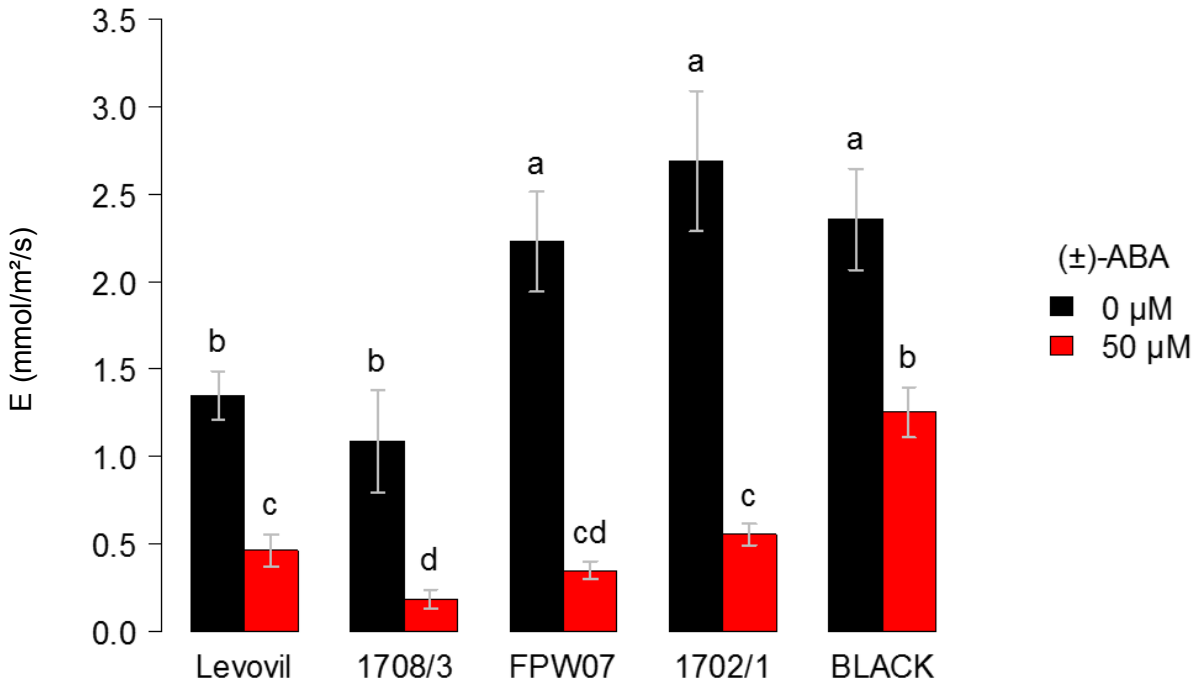


Figure 31 : Transpiration moyenne en réponse à l'ABA. *ABA = acide abscissique ; Les valeurs correspondent à des moyennes de n = 3 mesures (± erreur type).*

sont insuffisants pour prouver que '1708/3' est bel et bien un hybride. Des analyses complémentaires seront effectuées à l'INRA d'Angers pour vérifier ce résultat.

c. Différences de comportement iso- et anisohydrique

L'ABA ralentit l'approvisionnement en eau au niveau du mésophylle (diminution de la conductance hydraulique foliaire en phase liquide), ce qui induirait une chute du potentiel hydrique jusqu'aux cellules de garde, dont la perte de turgescence conduirait à la fermeture stomatique (Pantin *et al.*, 2013). Dans la plante qui accumule de l'ABA en conditions de déficit hydrique, ce mécanisme apparaît donc comme un outil pour coordonner l'offre et la demande en eau, en permettant à la feuille de mobiliser des effets biochimiques et hydrauliques à l'aide d'une seule hormone.

Réalisés sur la plante modèle *Arabidopsis*, les travaux de Pantin *et al.* (2013) ont amené à penser que ce nouveau mécanisme d'action de l'ABA pouvait sous-tendre les différences entre les comportements iso- et aniso-hydriques chez d'autres espèces. Ainsi, ils ont formulé l'hypothèse que les plantes isohydriques soumises à un stress hydrique seraient très sensibles à cet effet négatif de l'ABA sur l'approvisionnement en eau jusqu'aux stomates, qui répondraient par une fermeture rapide ; *a contrario*, les plantes anisohydriques seraient insensibles à l'ABA et maintiendraient un approvisionnement en eau dans le limbe jusqu'aux stomates qui ne seraient donc soumis qu'à la seule action locale de l'ABA sur les cellules de garde. Cette prédiction a été testée sur la vigne et, en cohérence avec l'hypothèse de départ, les cépages isohydriques se sont montrés affectés par l'ABA au niveau de la conductance hydraulique foliaire, alors que les cépages anisohydriques se sont révélés insensibles (Coupel-Ledru *et al.*, 2017).

Si notre étude confirme que $K_{feuille}$ est sensible à l'ABA chez les génotypes *Lycium* (dont les plus anisohydriques), ce n'est pas le cas chez la tomate (isohydrique). Nos résultats sont donc en contradiction avec l'hypothèse que le mécanisme physiologique responsable du caractère isohydrique chez les plantes est la réponse de $K_{feuille}$ à l'ABA. Un modèle de l'hydraulique foliaire reste à bâtir pour une compréhension mécanistique de ce caractère.

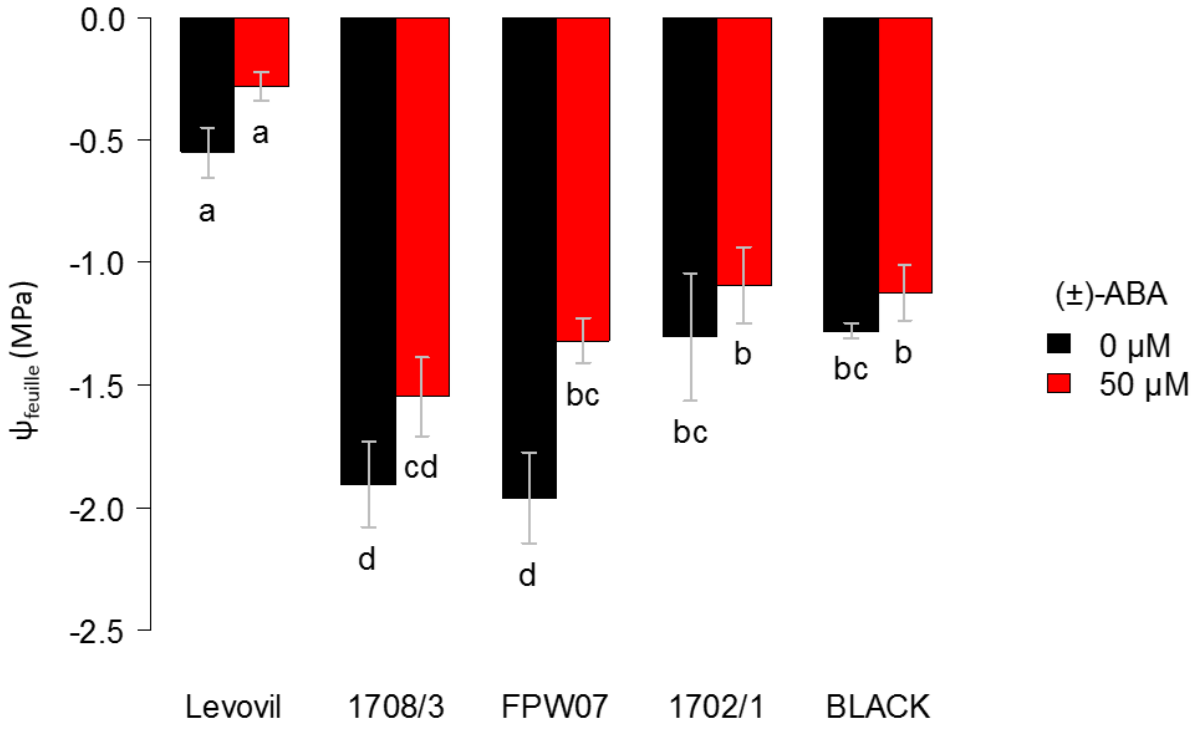


Figure 32 : Potentiel hydrique foliaire moyen en réponse à l'ABA. *ABA = acide abscissique ; Les valeurs correspondent à des moyennes de n = 3 mesures (± erreur type).*

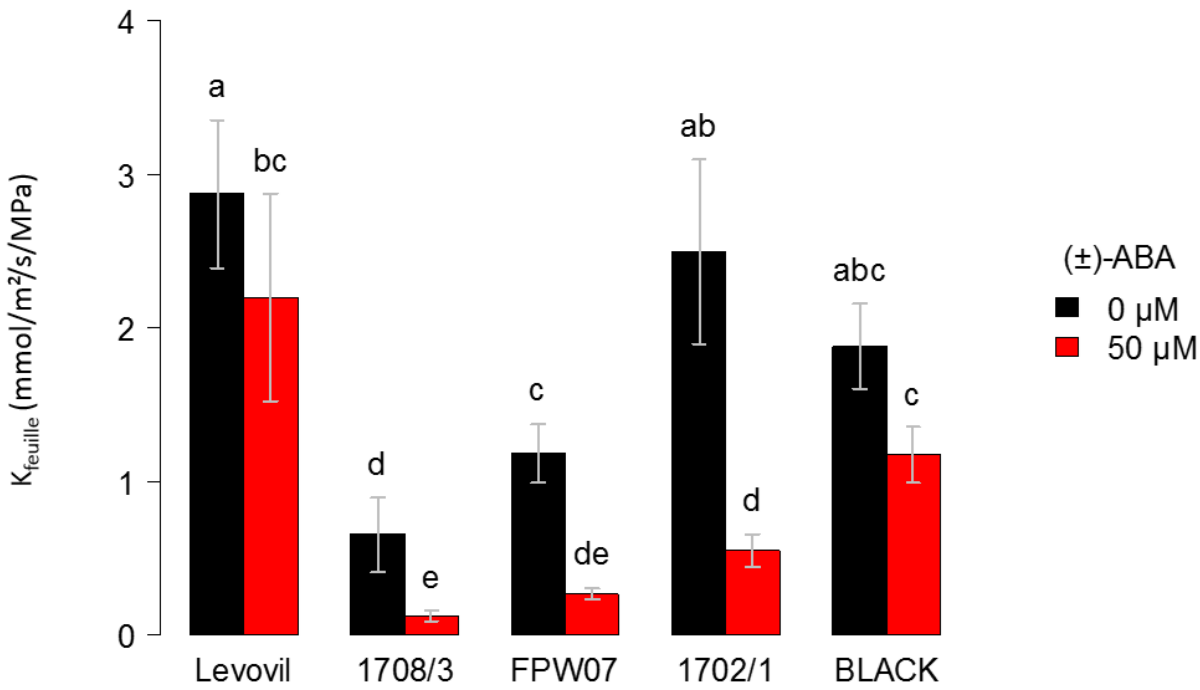


Figure 33 : Conductance hydraulique foliaire moyenne en réponse à l'ABA. *ABA = acide abscissique ; Les valeurs correspondent à des moyennes de n = 3 mesures (± erreur type).*

6. Conclusion et perspectives

Cette étude a permis de mettre en avant les différents comportements des variétés suite à un déficit hydrique : 'Levovil' et 'BLACK' sont plutôt isohydriques et 'FPW07', '1702/1' et '1708/3' sont plus anisohydriques. Le stress hydrique, appliqué pendant la phase reproductive, a eu un effet négatif sur le rendement en affectant principalement la floraison des génotypes 'FPW07' et '1702/1'. Pour ces deux génotypes, il serait intéressant de renouveler les expérimentations de déficit hydrique du sol en modulant le moment d'application et l'intensité du traitement afin de déterminer le meilleur compromis entre limitation des apports en eau et perte de rendement. La qualité des fruits a été modifiée par le traitement hydrique puisque les fruits étaient plus concentrés en solides solubles après le stress bien que leur teneur en matière sèche n'a pas varié de manière significative. De plus, *L. barbarum* possède des fruits de meilleure qualité, sur la base de cette teneur en matière sèche et du °Brix, que *L. ruthenicum*. Concernant les deux hybrides, '1702/1' adopte un comportement intermédiaire à ses deux parents sur la majorité des paramètres étudiés alors que pour '1708/3' un doute persiste quant à savoir s'il s'agit réellement d'un hybride. Il serait intéressant d'explorer, plus en détails, les différents paramètres qui caractérisent le degré d'iso- ou anisohydrie des variétés.

Liste des figures

Figure 1 : Fleurs du goji.

Figure 2 : Fruits du cultivar 'Phoenix Tears'.

Figure 3 : Fruits de la variété 'FPW_Black' de *Lycium ruthenicum*.

Figure 4 : Longueur (cm) du fruit en fonction des génotypes.

Figure 5 : Diamètre (cm) du fruit en fonction des génotypes.

Figure 6 : Poids frais (g) du fruit pour deux génotypes.

Figure 7 : Pourcentage de matière sèche du fruit entier ou de la chair pour deux génotypes.

Figure 8 : Données météorologiques dans la serre S2 d'avril à juillet 2018.

Figure 9 : Suivi des teneurs en eau du sol par plante et condition.

Figure 10 : Schéma simplifié du suivi de la cinétique de croissance d'un rameau.

Figure 11 : Schéma simplifié de la chambre cylindrique sur un rameau du 'BLACK'.

Figure 12 : Comportements isohydrique et anisohydrique théoriques.

Figure 13 : Schéma de coupe du fruit.

Figure 14 : Schéma de la mesure du °Brix.

Figure 15 : Cinétique de croissance moyenne et taux d'accroissement par degré jour des rameaux par génotype et par condition.

Figure 16 : Cinétique du nombre de feuilles moyen et nombre de feuilles par degré jour des rameaux par génotype et par condition.

Figure 17 : Croissance et développement du génotype 'Levovil' par condition.

Figure 18 : Répartition des biomasses fraîche et sèche pour les différents génotypes.

Figure 19 : Pourcentage de répartition des biomasses fraîche et sèche chez les différents génotypes.

Figure 20 : Rendement moyen en fruits par plante et par condition.

Figure 21 : Poids frais moyen d'un fruit par plante et par condition.

Figure 22 : Cinétique de floraison moyenne et nombre de fleurs par degré jours par génotype et par condition.

Figure 23 : Taux de nouaison des génotypes par condition.

Figure 24 : Teneur en matière sèche moyenne d'un fruit par plante et condition.

Figure 25 : Pourcentage de degré Brix moyen des fruits par plante et condition.

Figure 26 : Potentiel hydrique foliaire moyen par génotype et par condition.

Figure 27 : Potentiel osmotique foliaire moyen par génotype et par condition.

Figure 28 : Pression de turgescence moyenne par génotype et par condition.

Figure 29 : Photosynthèse moyenne par génotype et par condition.
Figure 30 : Conductance stomatique moyenne par génotype et par condition.
Figure 31 : Transpiration moyenne en réponse à l'ABA.
Figure 32 : Potentiel hydrique foliaire moyen en réponse à l'ABA.
Figure 33 : Conductance hydraulique foliaire moyenne en réponse à l'ABA.

Bibliographie

Amagase H. and Farnsworth N. R. (2011). A review of botanical characteristics, phytochemistry, clinical relevance in efficacy and safety of *Lycium barbarum* fruit (Goji). *Food Research International*. **44** : 1702-1717.

Bertin N., Gautier H., Roche C. (2001). Number of cells in tomato fruit depending on fruit position and source-sink balance during plant development. *Plant Growth Regulation*. **36**(2) : 105-112.

Charrier G., Delzon S., Domec J.-C., Zhang L., Delmas C. E. L., Merlin I., Corso D., King A., Ojeda H., Ollat N., Prieto J. A., Scholach T., Skinner P., van Leeuwen C., Gambetta G. A. (2018). Drought will not leave your glass empty: low risk of hydraulic failure revealed by long-term drought observations in world's top wine regions. *Science Advances*. **4**(1).

Chaves M. M., Zarrouck O., Francisco R., Costa J. M., Santos T., Regalado A. P., Rodrigues M. L., Lopes C. M. (2010). Grapevine under deficit irrigation: hints from physiological and molecular data. *Annals of Botany*. **105**(5) : 661-676.

Coupel-Ledru A., Tyerman S., Masclef D., Lebon E., Christophe A., Edwards E. J., Simonneau T. (2017). Abscisic acid down-regulates hydraulic conductance of grapevine leaves in isohydric genotypes only. *Plant Physiology*. **175**(3) : 1121-1134.

Delauney A.J. and **Verma D.P.S.** (1993). Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *Plant Journal*. **4**(2) : 215-223.

Demchak K. and **Heindenreich C.** (2014). Goji berry culture. *Penn State Extension.*

Fukuda T., Yokoyama J., Ohashi H. (2001). Phylogeny and biogeography of the genus Lycium (Solanaceae): Inferences from chloroplast DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. **19**(2) : 246−258.

Gao Z., Ali Z., Khan I. A. (2008). Glycerogalactolipids from the fruit of *Lycium barbarum*. *Phytochemistry.* **69**(16) : 2856−2861.

Giovannoni J. J. (2007). Fruit ripening mutants yield insights into ripening control. *Plant Biology*. **10** : 283-289.

Guan C., Ji J., Guan W., Feng Y., Li X., Jin C., Li J., Wang Y., Wang G. (2014). A *Lycium chinense*-derived *P5CS*-lik gene is regulated by water deficit-induced endogenous abscisic acid and overexpression of this gene enhances tolerance to water deficit stress in *Arabidopsis*. *Molecular Breeding*. **34** : 1109-1124.

Hochberg U., Rockwell F. E., Holbrook M. N., Cochard H. (2017). Iso/Anisohydry: a plant–environment interaction rather than a simple hydraulic trait. *Trends in Plant Science*. **23**(2) : 112-120.

Hu W., Zhang H., Chen H., Tang M. (2017). Arbuscular mycorrhizas influence *Lycium barbarum* tolerance of water stress in a hot environment. *Mycorrhiza*. **27** : 451-463.

Lebon E., Pellegrino A., Louarn G., Lecoeur J. (2006). Branch development controls leaf area dynamics in grapevine (*Vitis vinifera*) growing in drying soil. *Annals of Botany*. **98** : 175-185.

Lu J., Li H., Quan J., An W., Zhao J., Xi W. (2017). Identification of characteristic aroma volatile of Ningxia goji berries (*Lycium barbarum* L.) and their developmental changes. *International Journal of Food Properties*. **20** : 214-217.

Maughan T. and **Black B.** (2015). Goji in the garden. *Utah State University Extension*.

McDowell N., Pockman W. T., Allen C. D., Breshears D. D., Cobb N., Kolb T., Plaut J., Sperry J., West A., Williams D. G., Yepez E. A. (2008). Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while others succumb to drought? *New Phytologist*. **178**(4) : 719-739.

Muller B., Pantin F., Génard M., Turc O., Freixes S., Piques M., Gibon Y. (2011). Water deficits uncouple growth from photosynthesis, increase C content, and modify the relationships between C and growth in sink organs. *Journal of Experimental Botany.* **62**(6) : 1715-1729.

Pantin F., Monnet F., Jannaud D., Costa J. M., Renaud J., Muller B., Simonneau T., Genty B. (2013). The dual effect of abscisic acid on stomata. *New Phytologist*. **197** : 65-72.

Peng Y., Ma C., Li Y., Leung K. S., Jiang Z. H., Zhao Z. (2006). Quantification of zeaxanthin dipalmitate and total carotenoids in *Lycium* fruits. *Plant Foods for Human Nutrition*. **60**(4) : 161−164.

Poiroux-Gonord F., Bidel L. P. R., Fanciullino A.-L., Gautier H., Lauri-Lopez F., Urban L. (2010). Health benefits of vitamins and secondary metabolites of fruits and vegetables and prospects to increase their concentrations by agronomic approaches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **58** : 12065-12082.

Ripoll J., Urban L., Brunel B., Bertin N. (2016). Water deficit effects on tomato quality depend on fruit developmental stage and genotype. *Journal of Plant Physiology*. **190** : 26-35.

Sack L., Melcher P. J., Zwieniecki M. A., Holbrook N. M. (2002). The hydraulic conductance of the angiosperm leaf lamina: a comparaison of the three measurement methods. *Journal of Experimental Botany*. **53** : 2177-2184.

Székely G., Abrahám E., Cséplo A., Rigó G., Zsigmond L., Csiszár J., Ayaydin F., Strizhov N., Jásik J., Schmelzer E., Koncz C., Szabados L. (2008). Duplicated *P5CS* genes of *Arabidopsis* play distinct roles in stress regulation and developmental control of proline biosynthesis. *Plant Journal*. **53**(1) : 11-28.

Tardieu F. and **Simonneau T.** (1998). Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand: modelling isohydric and anisohydric behaviours. *Journal of Experimental Botany*. **49** : 419-432.

Tardieu F., Simonneau T., Muller B. (2018). The physiological basis of drought tolerance in crop plants: a scenario-dependent probabilistic approach. *Annual Review of Plant Biology*. **69** : 733-759.

Wang Q., Chen S., Zhang Z. (1991). Determination of polysaccharide contents in *Fructus Lycii. Chinese Traditional and Herbal Drugs*. **22**(2) : 67−68.

Wang Q., Zeng S., Wu X., Lei H., Wang Y., Tang H. (2018). Inter-species developmental differences in metabonomic phenotypes of *Lycium ruthenicum* and *L. barbarum* fruits. *Journal of Proteome Research*. **17**(9) : 3223-3236.

Yao R., Heinrich M., Zou Y., Reich E., Zhang X., Chen Y., Weckerle C. S. (2018). Quality variation of goji (fruits of *Lycium spp.*) in China: A comparative morphological and metabolomic analysis. *Frontiers in Pharmacology*. **9** : 151.

Zhao J-H., Li H-X., Xi W., An W., Niu L., Cao Y., Wang H., Wang Y., Yin Y. (2015). Changes in sugars and organic acids in Wolfberry (*Lycium barbarum L.*) fruit during development and maturation. *Food Chemistry*. **173** : 718-724.

Zhao J-H., Li H-X., Zhang C-Z., An W., Yin Y., Wang Y-J., Cao Y-L. (2017). Physiological response of four wolfberry (*Lycium* Linn.) species under drought stress. *Journal of Integrative Agriculture*. **17** : 603-612.

Webographie

Asklepios-seeds. *Lycium ruthenicum* murr seeds, Black Goji, russian Boxthorn. http://www.asklepios-seeds.de/gb/lycium-ruthenicum-seeds.html (consulté le 04/09/2018).

Food and Agriculture Oganization of the United Nations. http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC (consulté le 04/09/2018).

Futura Planète. Plant de tomate : structure et vie. https://www.futura-sciences.com/planete/dossiers/botanique-tomate-reine-legumes-fruits-1675/page/3/ (consulté le 04/09/2018).

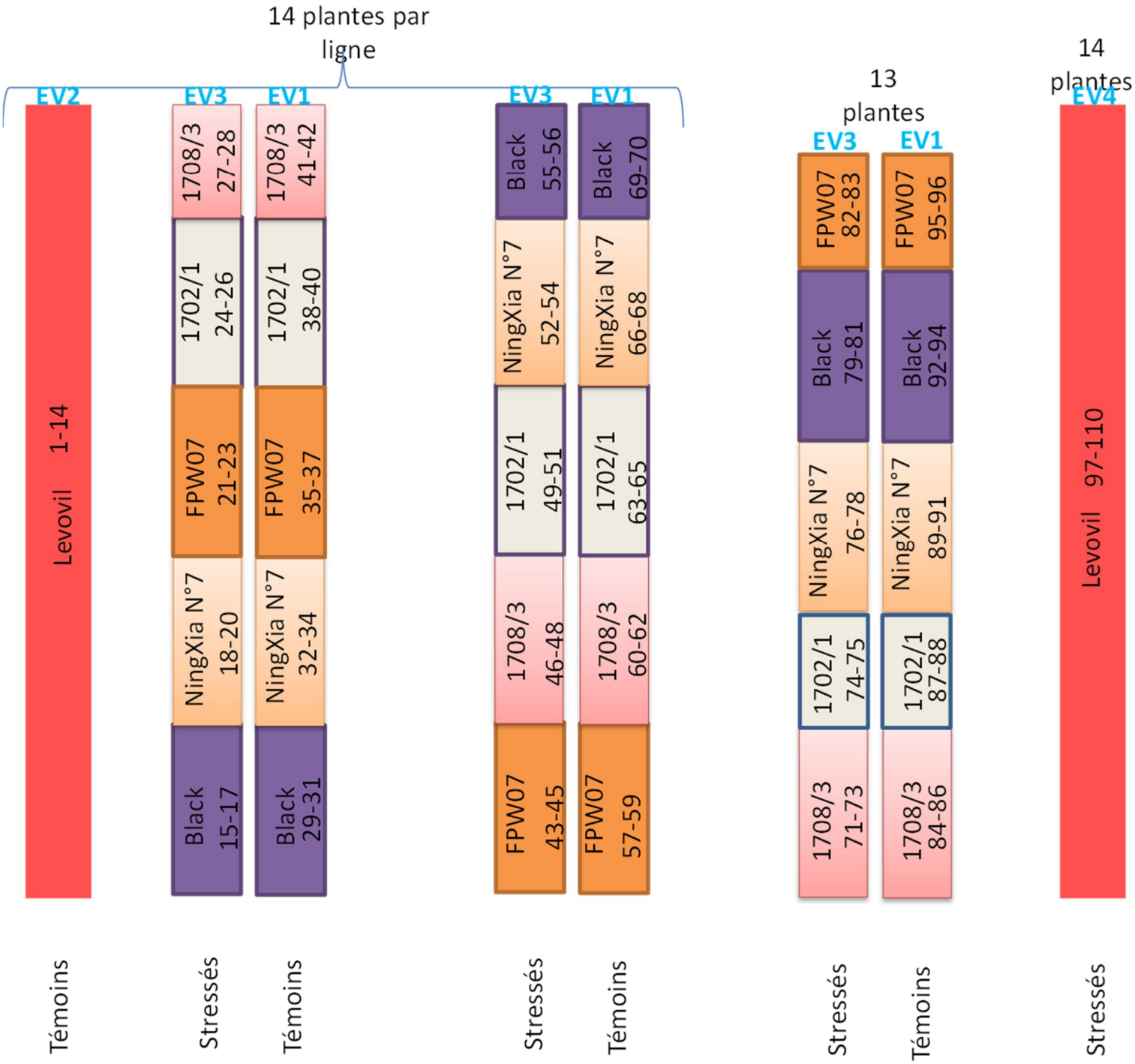
Planetefleurs. *Lycium ruthenicum* Murray. http://www.planetefleurs.fr/Systematique/Solanaceae/Lycium_ruthenicum.html (consulté le 04/09/2018).

United States Department of Agriculture. Basic report: 11955, Tomatoes, sun-dried. https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/302453 (consulté le 04/09/2018).

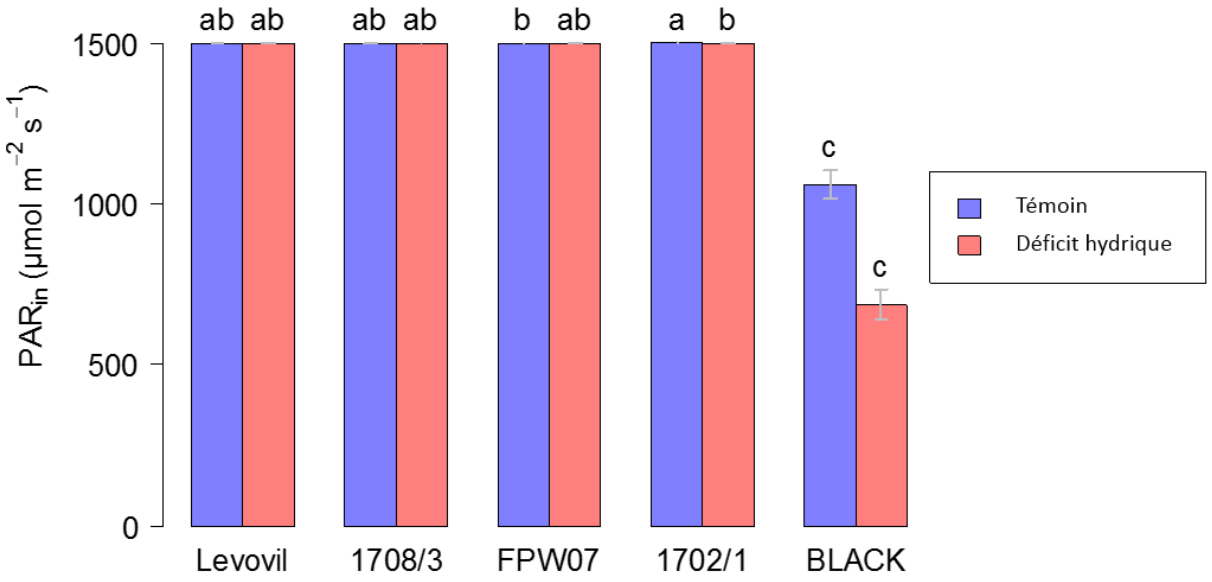
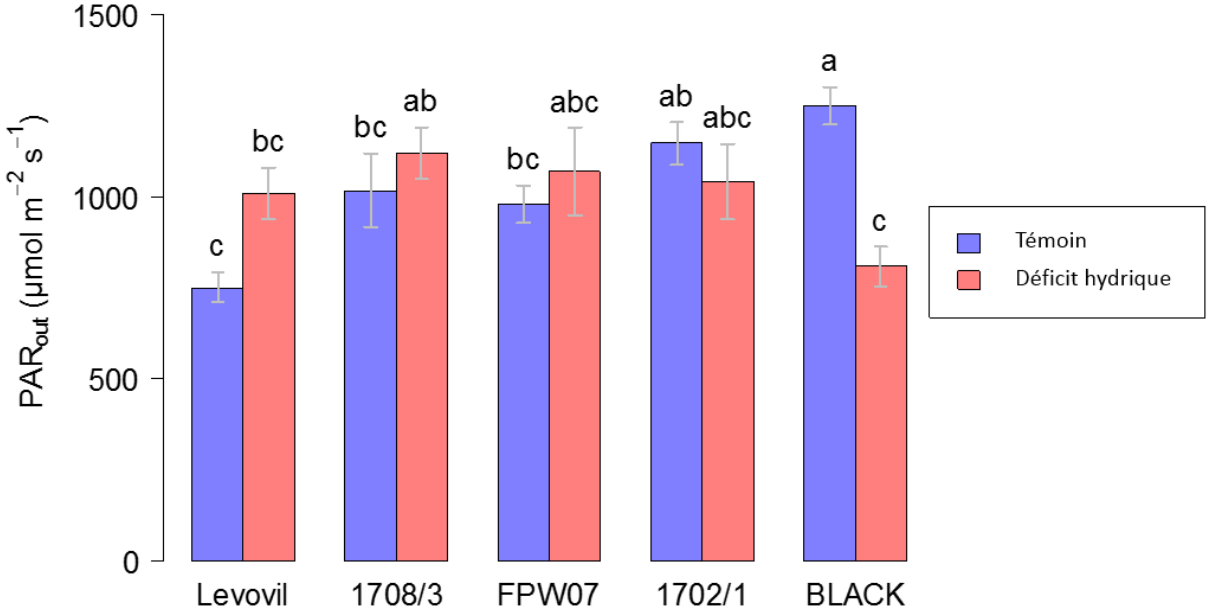
United States Department of Agriculture. Basic report: 09110, Goji berries, dried. https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/301121 (consulté le 04/09/2018).

ANNEXES

Annexe 1 : Plan de la serre



Annexe 2 : Valeurs moyennes de PAR_{in}



Annexe 3 : Valeurs moyennes de PAR_{out}