

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE DE MONTPELLIER

N° attribué par la bibliothèque

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

THESE

Présentée pour obtenir le grade de

**DOCTEUR DE L'ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE DE
MONTPELLIER**

Ecole Doctorale: Biologie des Systèmes Intégrés – Agronomie et Environnement

Formation Doctorale: Développement et Adaptation des Plantes

UMR : Laboratoire d'Ecophysiologie des Plantes sous Stress Environnementaux

Equipe : Modélisation et Analyse de l'interaction Génotype X Environnement

<p>ANALYSE DE LA CROISSANCE DES SOIES DE PLANTES DE MAÏS (<i>Zea Mays L.</i>) SOUMISES A DES DEFICITS HYDRIQUES EDAPHIQUES ET ATMOSPHERIQUES.</p>
--

Par

Avan FUAD HASSAN

Soutenue le 20 Décembre 2006 devant le Jury composé de:

M. LEDENT Jean-François	Professeur, Université catholique de Louvain	Rapporteur
M. PELLERIN Sylvain	Directeur de Recherche, INRA, Bordeaux	Rapporteur
M. FOURNIER Christian	Ingénieur de Recherche, INRA Grignon	Examineur
M. REGNARD Jean-Luc	Professeur, ENSAM, Montpellier	Examineur
M. TARDIEU François	Directeur de Recherche, INRA, Montpellier	Examineur (Directeur de thèse)
M. TURC Olivier	Chargé de Recherche, INRA, Montpellier	Examineur (Co-Directeur de thèse)

LISTE DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES

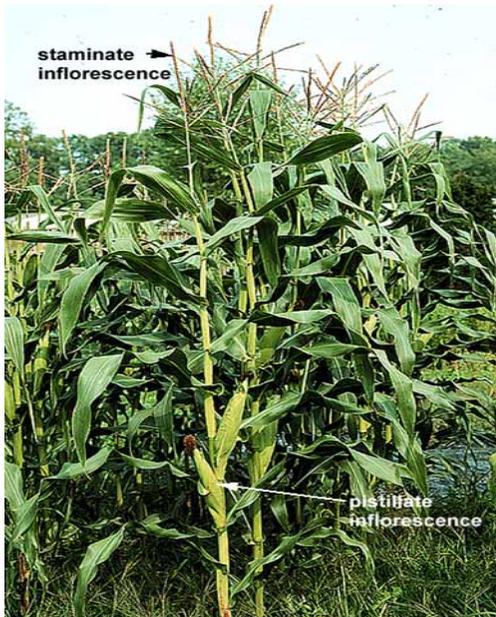
ASI	jour (ou °Cj)	intervalle floraison mâle – femelle (Anthesis-Silking Interval)
QTL		Quantitative Trait Locus
RER	mm mm ⁻¹ j ⁻¹ (ou mm mm ⁻¹ °Cj ⁻¹)	vitesse relative d'allongement (Relative Elongation Rate)
RDR	cellule cellule ⁻¹ j ⁻¹ (ou cellule cellule ⁻¹ j ⁻¹ °Cj ⁻¹)	vitesse de division cellulaire (Relative Division Rate)
RECR	µm µm ⁻¹ j ⁻¹ (ou µm µm ⁻¹ °Cj ⁻¹)	vitesse relative d'allongement des cellules
PAR	µmoles photons m ⁻² s ⁻¹	rayonnement photosynthétique actif (Photosynthetically Active Radiation)
CIMMYT		Centro Internacional de Mejoramiento de Maiz Y Trigo, Mexico
Ψ_{sol}	MPa	Potentiel hydrique du sol
VPD_{air}	kPa	Déficit de pression de vapeur d'eau dans l'air
$VPD_{épi-air}$	kPa	Déficit de pression de vapeur d'eau dans l'air à la température de l'épi
RDT		Capteur de déplacement rotatif (Rotational Displacement Transducer)
RIL		Lignées recombinantes (Recombinant Inbred Lines)
VAS	mm h ⁻¹ (ou mm °Cj ⁻¹)	Vitesse (absolue) d'allongement des soies

TABLE DES MATIERES

Chapitre 1 : Contexte et cadre d'analyse de la croissance des soies de maïs	3
. Contexte et démarche	3
. Cadre d'analyse de la croissance des soies et du synchronisme de floraison chez le maïs	5
<i>Chronologie du développement de l'épi et de la panicule</i>	5
<i>Sources possibles des variations du décalage des floraisons mâle et femelle avec le déficit hydrique</i>	5
Chapitre 2 : Analyse spatiale et temporelle de la croissance des soies de plantes soumises à différents régimes d'alimentation hydrique	7
. Introduction	7
. Matériel et méthodes	9
<i>Théorie : analyse des vitesses locales de division cellulaire et de croissance des tissus dans les soies .</i>	9
<i>Mesures des longueurs de soie, des longueurs de cellules et des nombres de cellules</i>	11
<i>Expérimentations</i>	11
. Résultats	14
<i>Cinétiques de la longueur et du nombre de cellules des soies</i>	14
<i>Analyse spatiale de l'allongement de la soie 5 chez les plantes bien irriguées</i>	15
<i>Analyse spatiale et temporelle de l'allongement chez les plantes en déficit hydrique</i>	16
. Discussion	18
<i>Une distribution originale des vitesses locales de croissance et de division cellulaire</i>	18
<i>Le décalage entre les floraisons mâle et femelle correspond à une phase particulière du développement des soies, et est probablement directement lié à la vitesse de croissance des soies.</i>	19
<i>Conséquences pratiques pour la suite de la thèse et du programme de l'équipe sur le développement reproducteur.</i>	20
Chapitre 3 : Quantification de la vitesse d'allongement des soies en réponse aux variations environnementales : quelles similitudes avec la réponse de la croissance des feuilles ?	22
. Introduction	22
. Matériels et méthodes:	24
<i>Conditions de culture</i>	24
<i>Mesure en continu de la vitesse d'allongement des soies</i>	24
<i>Teneur en eau des soies</i>	25
<i>Teneur en sucres solubles</i>	26
. Résultats	26
<i>Cinétiques de vitesse d'allongement des soies en absence de déficit hydrique :</i>	26
<i>Une réponse linéaire à la température de l'épi</i>	27
<i>Une vitesse d'allongement nocturne répétable entre expérience</i>	27
<i>Une réduction de la vitesse de croissance liée à la demande climatique</i>	28
<i>Une réduction des vitesses nocturnes et diurnes en cas de déficit hydrique du sol</i>	29
. Discussion - conclusion	31
<i>Mise au point d'une méthode de mesure in situ pour analyser la réponse de l'allongement des soies aux variations des conditions environnementales</i>	31
<i>Les réponses de la vitesse d'allongement des soies aux conditions environnementales présentent de fortes similitudes avec la réponse de la croissance foliaire :</i>	31
<i>Les résultats obtenus vont dans le sens d'un rôle majeur des processus hydrauliques dans le contrôle de l'allongement des soies sous déficit hydrique et semblent écarter l'implication de la disponibilité en assimilats carbonés :</i>	33

Chapitre 4 : Analyse de la croissance des soies et des feuilles chez des lignées de maïs (<i>Zea mays</i>) contrastées pour le maintien du développement reproducteur en situation de déficit hydrique.	35
. INTRODUCTION :	37
. MATERIEL ET METHODES :	39
<i>Matériel végétal :</i>	39
<i>Conditions expérimentales :</i>	39
<i>Mesures :</i>	41
. RESULTATS :	43
<i>Les expérimentations ont confirmé le comportement des lignées observé au champ sur le retard de la floraison femelle en situation de déficit hydrique :</i>	43
<i>Cinétiques de croissance des soies et des feuilles sans déficit hydrique : Analyse de la réponse à la température:</i>	44
<i>Caractérisation de la réponse de l'élongation des feuilles et des soies au déficit hydrique édaphique:</i>	47
. DISCUSSION :	50
<i>Le maintien de la croissance foliaire, de la croissance des soies, et de l'ASI en situation de déficit hydrique sont-ils liés ?</i>	50
<i>Quelles hypothèses peut-on émettre sur les processus et les mécanismes expliquant ou infirmant cette liaison ?</i>	51
CONCLUSIONS – PERSPECTIVES :	54
. Les acquis de la thèse :	54
. Perspectives :	55
<i>Modélisation de la croissance des soies</i>	55
<i>Modélisation de la date de sortie des soies</i>	55
<i>Intégration dans un modèle de simulation de culture</i>	56
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :	57

a



b

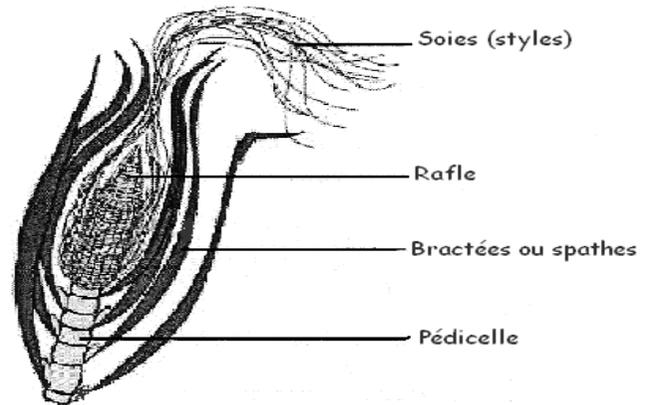


Figure 1.1:

a- Position des inflorescences mâles et femelles sur le plant de maïs.

b- Description d'un épi de maïs.

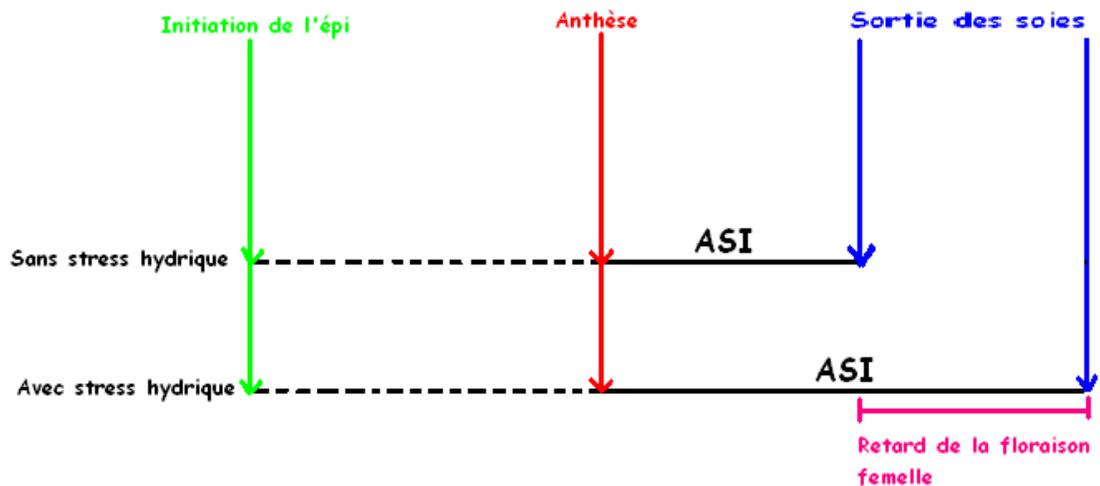


Figure 1.2: Allongement de l'intervalle anthèse – floraison femelle (Anthesis – Silking Interval, ASI) en situation de déficit hydrique. L'anthèse est peu modifiée par le déficit hydrique; l'allongement de l'ASI est donc lié à une sortie des soies hors de la gaine des spathes plus tardive.

Chapitre 1 : Contexte et cadre d'analyse de la croissance des soies de maïs

. CONTEXTE ET DEMARCHE

Dans un contexte global de diminution des ressources en eau disponibles, et face à l'augmentation constante de la population mondiale, la recherche de plantes qui ont un bon rendement en dépit de la sécheresse paraît primordiale. Dans les pays en voie de développement, les pertes de rendement liées à la sécheresse sont importantes (17% par an, Ribault *et al.*, 1996). Pour les petits producteurs de ces pays, ces pertes dépassent les enjeux économiques et peuvent menacer leur survie. Dans ce contexte, il apparaît nécessaire d'adapter les techniques culturales et de privilégier l'utilisation de variétés tolérantes. La compréhension des mécanismes impliqués dans la tolérance à la sécheresse est nécessaire pour guider la sélection de lignées adaptées.

Une hypothèse fondatrice de la thèse est que la réponse du développement reproducteur du maïs au déficit hydrique de l'air et du sol est fortement liée aux processus d'extension des tissus dans les soies. Cette hypothèse s'appuie notamment sur les travaux du CIMMYT qui ont montré, sur du matériel tropical, la liaison génétique entre le maintien du rendement en déficit hydrique et le maintien du synchronisme entre les floraisons mâle et femelle. En effet, les génotypes présentant les décalages entre les floraisons mâle et femelle (ASI, Anthesis – Silking Interval) les plus faibles en déficit hydrique sont ceux qui maintiennent le mieux le rendement (Bolaños et Edmeades 1996, Ribaut *et al.*, 2004). Ce comportement pourrait être associé à l'aptitude à maintenir la croissance des soies en situation de déficit hydrique. En effet, chez le maïs (Fig. 1.1), du fait de la séparation spatiale des inflorescences mâle (panicule) et femelle (épi), et de la présence de bractées (spathes) engainant l'épi, la rencontre de l'ovule et du pollen nécessite l'allongement considérable, supérieur à 10cm, des styles (soies). Quand la plante est soumise à un déficit hydrique au moment de la floraison, on observe un allongement de l'ASI (Fig. 1.2), lié à une sortie plus tardive des soies hors de la gaine des spathes, car la date d'anthèse varie peu (Dow *et al.*, 1984 ; Bolaños et Edmeades, 1993).

Par ailleurs, une étude récente menée au LEPSE (Welcker *et al.*, 2006) montre que les régions du génome (QTLs) qui contrôlent l'ASI sont en bonne partie communes avec celles qui contrôlent la croissance foliaire dans une population de plantes de maïs en ségrégation pour l'ASI. L'hypothèse a donc été proposée que l'ASI et la vitesse de croissance foliaire dépendraient tous deux de gènes contrôlant l'expansion des tissus des soies et des feuilles.

Date de semis	code	Traitement hydrique	Nb pots	T jour °C	T° nuit °C	VPD jour kPa	VPD nuit kPa
08/11/2002	1A1	- T	50	20 – 25*	17 – 19*	1.1 – 2.0	0.6 – 1.1*
22/09/2003	2A1	- T	20	22	22	0.8	0.8
13/10/2003	2A2	- T, S tardif	20	26	26	0.8	0.8
21/11/2003	2A3	- T, S1, S-T	22	22	14	0.5	0.5
				22	18	0.5	0.5
				22	22	0.5	0.5
				22	26	0.5	0.5
27/02/2004	2A4	- T, S1, S2	32	22	22	0.9	0.6
19/03/2004	2A5	- T, S1, S2	6	22	22	0.9	0.6
24/03/2004	2A6	- T, S1, S2	6	22	22	0.9	0.8
29/03/2004	2A7	- T, S1, S2	6	22	22	0.9	0.8
02/04/2004	2A8	- T, S1, S2	6	22	22	0.9	0.8
07/04/2004	2A9	- T, S1, S2	6	22	22	0.9	0.8
22/09/2004	3A1	- T, S1, S2	12	26	21	0.8	0.6
				26	21	1.5	0.6
				26	21	2.0	0.6
01/10/2004	3A2	- T, S1, S-T	12	26	21	0.8	0.6
				26	21	1.5	0.6
				26	21	2.0	0.6
29/11/2004	3A3	- T	8	22	22	0.6	0.6
				25	22	2.4	2.1
03/12/2004	3A4	- S1 – S2	8	22	22	0.6	0.6
				25	22	2.4	2.1
05/01/2005	3A5	- T, S1, S2	18	22	22	2.1	0.6
05/01/2006	4A1	- T, S1, S2	42	20 – 25*	13 – 20*	1.1 – 2.0*	0.4 – 1.0*

Tableau 1.1 : Expérimentations menées pendant la thèse. Date de semis, nombre de pots, traitements hydriques, conditions environnementales dans la chambre de culture (t° jour-nuit, VPDjour-nuit).

Traitement hydrique = T: plantes bien irriguées, **S1:** déficit hydrique modéré ($0.3 < \psi_{sol} < 0.5$) Mpa, **S2:** déficit hydrique sévère ($0.6 < \psi_{sol} < 0.8$) Mpa, **S-T:** déficit hydrique re-irriguées dès l'émergence des soies, **S tardif:** déficit hydrique à partir de l'émergence des soies.

* Expérimentations en serre sans transfert en chambre de culture.

L'objectif général de ce travail est de modéliser la croissance des soies de maïs en réponse aux variations environnementales, avec des bases de modélisation proches de celles développées au LEPSE dans le cas de la croissance des feuilles de maïs, et de comparer les modèles chez des géotypes contrastés en termes de réponse de la croissance foliaire au déficit hydrique

La présentation du mémoire de thèse est structurée autour des 4 points suivants :

- L'analyse de la vitesse de croissance des soies : *quelles sont les sources possibles des variations d'ASI en situation de déficit hydrique ?* (chapitre 1)
- L'analyse de la distribution spatiale et temporelle de la division cellulaire et de l'extension des tissus au cours du développement des soies de plantes de maïs soumises à différents régimes d'alimentation hydrique : *où et quand se produit la croissance ?* (chapitre 2)
- La quantification de la vitesse d'allongement des soies en réponse aux variations environnementales : *quelles similitudes avec la réponse de la croissance des feuilles ?* (chapitre 3)
- La caractérisation de la réponse de la croissance des soies et des feuilles chez des lignées contrastées pour le maintien du développement reproducteur en situation de déficit hydrique. *Existe-t-il un déterminisme commun pour le maintien de ces 3 processus face au déficit hydrique ?* (chapitre 4)

Pour répondre à ces questions, 16 expérimentations ont été conduites entre 2003 et 2006. Leurs caractéristiques sont synthétisées dans le tableau 1.1. Les plantes ont été cultivées en serre jusqu'à la sortie des soies. Des prélèvements de plantes et des dissections d'organes (Fig. 1.3) ont été réalisés pendant cette période afin de caractériser le développement précoce des apex reproducteurs et la croissance des soies avant leur apparition hors des spathes (chapitres 1 et 2). Les plantes ont été transférées en chambre de culture juste avant l'émergence des soies afin d'analyser en continu et *in planta* la croissance des soies dans des conditions environnementales contrôlées (chapitre 3). Les gammes de température et de déficit hydrique atmosphérique étudiées sont indiquées dans le tableau 1.1. Les plantes ont été soumises à différentes modalités de déficit hydrique qui sont détaillées dans les chapitres suivants. Toutes les expérimentations ont été réalisées avec la lignée d'origine tempérée, F252, sauf la dernière (4A1) qui a concerné 7 lignées tropicales présentant des comportements contrastés pour le maintien de l'ASI en déficit hydrique (chapitre 4).

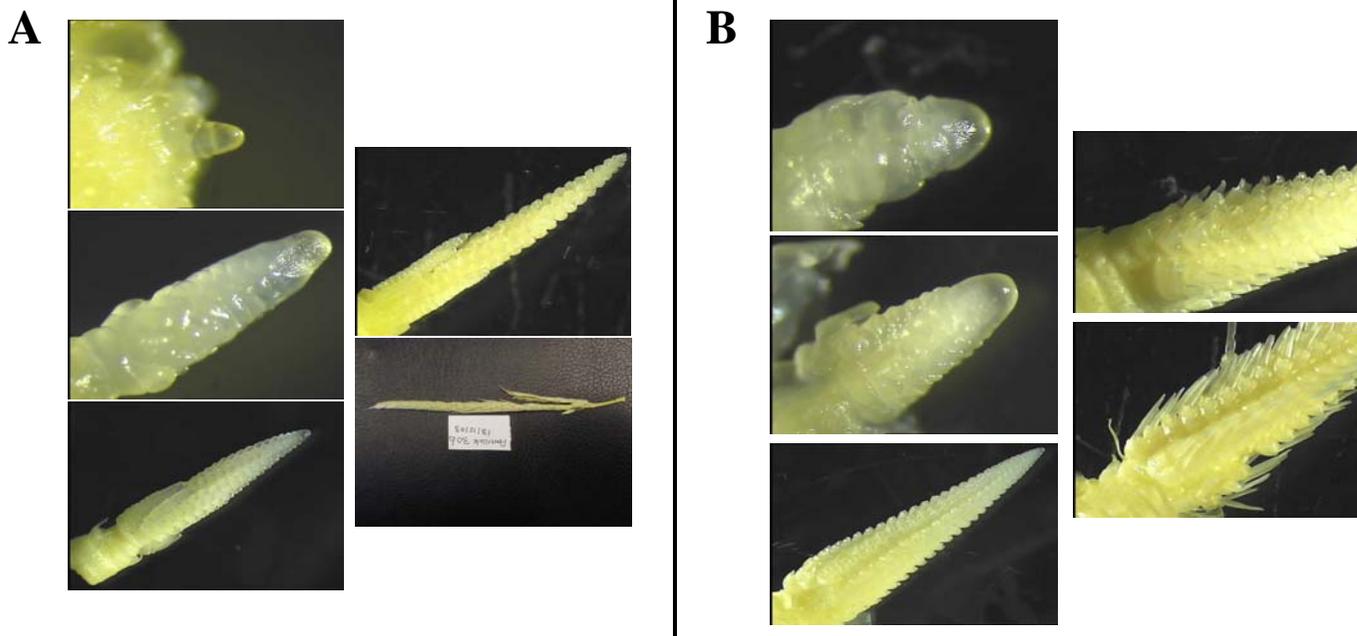


Figure 1.3: Suivi destructif de la morphogénèse (dissection de plantes) :

A- Initiation de l'apex (bourgeon apical) jusqu'à la pollinisation (floraison mâle).

B- Suivi de l'initiation de l'épi (bourgeon axillaire): Développement de l'épi et initiation des soies sur l'épi.

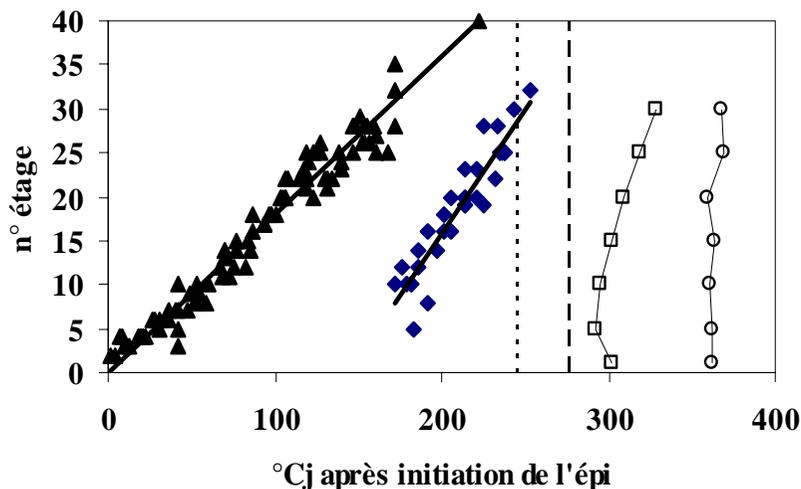


Figure 1.4 : Calendrier des stades de développement aux différents étages de l'épi pour des plantes de maïs bien irriguées. L'évolution du nombre d'étages portant des épillets initiés (▲) et des soies initiées (◆) est présentée en fonction du temps thermique depuis l'apparition des premiers épillets. Les dates d'émergence hors des spathes (□) et de fin de croissance (○) ont été établies pour les soies insérées sur les étages 1, 5, 10, 15, 20, 25 et 30. Les lignes verticales indiquent les stades de développement de la panicule : émergence (pointillés) et anthèse (tirets). La barre horizontale noire correspond à l'intervalle floraison mâle – floraison femelle (ASI), entre l'anthèse (tirets) et la date d'émergence des soies insérées sur l'étage 5, qui sont les premières à sortir des spathes.

. CADRE D'ANALYSE DE LA CROISSANCE DES SOIES ET DU SYNCHRONISME DE FLORAISON CHEZ LE MAÏS

Chronologie du développement de l'épi et de la panicule

L'émergence des soies hors des spathes est le résultat des processus d'initiation, de développement et de croissance des différents organes de l'épi. La figure 1.4 présente le calendrier des événements conduisant à l'ASI, à partir de données obtenues sur les plantes bien irriguées dans les expérimentations décrites dans le tableau 1.1. L'apparition des premiers épillets initiés, sous forme de primordia floraux sur le méristème axillaire, marque le début du développement de l'épi. Cette date constitue l'origine de l'axe des temps dans tout ce qui suit. L'initiation des épillets et celle des soies sur les étages successifs de l'épi ont été notées à partir de prélèvements échelonnés de plantes et de dissections d'épis sous microscope. A chaque date, le nombre d'étages portant des épillets initiés (primordia visibles) et celui portant des soies initiées (longueur > 0.1 mm) ont été comptabilisés. On a également repéré, à l'aide de marquages non-destructifs, la date de sortie des soies situées aux étages 1, 5, 10...30, ainsi que la fin de l'expansion des soies. La représentation adoptée sur la figure 1.4, avec une échelle de temps en abscisses et le numéro de l'étage en ordonnées, permet de placer dans le temps les phases de développement de l'ensemble des soies, en fonction de leur position sur l'épi. En accord avec la bibliographie, ce sont les soies des étages 5 à 15 qui émergent les premières. La date d'anthèse est indiquée pour visualiser l'ASI sur le schéma.

Sources possibles des variations du décalage des floraisons mâle et femelle avec le déficit hydrique

Le tableau 1.2 indique l'effet de 3 régimes d'alimentation hydrique, appliqués à partir de l'initiation des soies, sur les dates de floraison mâle et femelle, l'ASI et la longueur des différents organes concourant à l'émergence des soies. Les contraintes hydriques ont retardé la date d'émergence des soies, d'autant plus que leur intensité était plus forte (Tab. 1.2). Comme la date d'anthèse était stable entre traitements, c'est la date d'émergence des soies, qui a déterminé l'ASI.

La date d'émergence des soies résulte d'une course de vitesse entre le sommet de la soie et le sommet des spathes. La position relative du sommet de la soie par rapport au cornet des spathes, p , est donné par l'équation suivante (Fig. 1.5a):

$$p = (\text{longueur soie} + \text{longueur pédoncule} + \text{distance base épi-insertion soie}) / \text{longueur spathes}$$

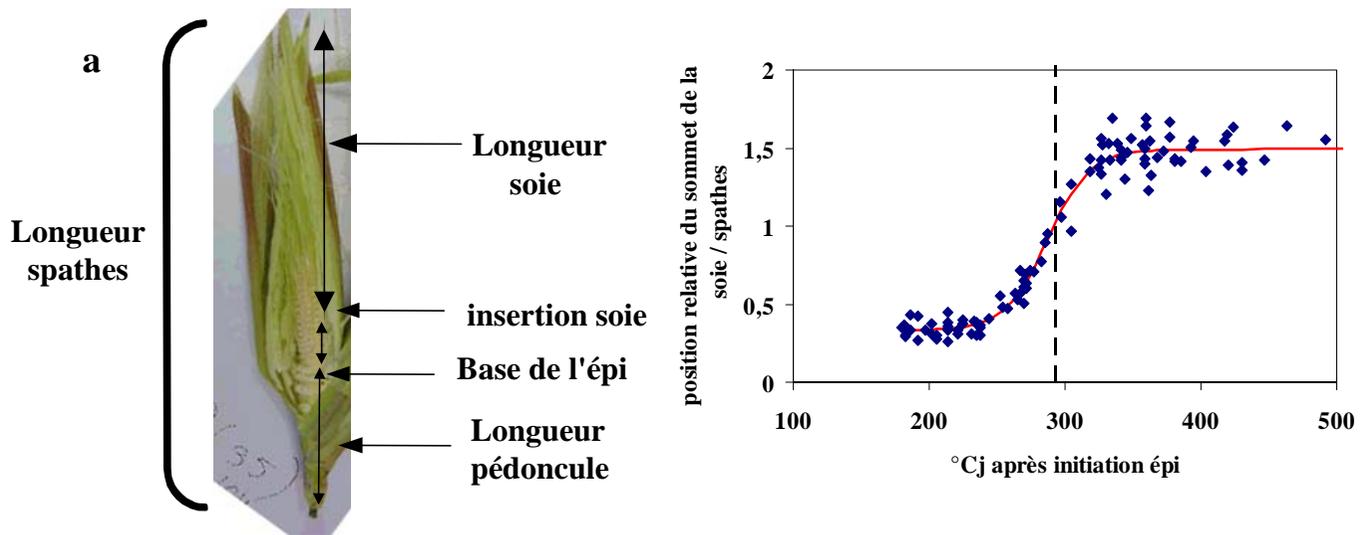


Fig. 1.5 : Position relative du sommet de la soie par rapport au cornet des spathes.

a. La position p est calculée à partir des mesures de longueur des différents éléments de l'épi :

$$p = (\text{longueur pédoncule} + \text{distance entre base de l'épi et insertion de la soie} + \text{longueur de la soie}) / \text{longueur des spathes}.$$

b. Evolution de p en fonction du temps thermique depuis l'initiation de l'épi pour les soies insérées sur l'étage 5 de l'épi de plantes de maïs bien irriguées. L'émergence hors des spathes se produit lorsque p dépasse 1 (tirets verticaux).

	Témoin	Déficit modéré	Déficit sévère
	moyenne	moyenne	moyenne
Date anthèse (°Cj)	275 (5)	273 (4)	280 (5)
Date émergence (°Cj)	292 (6)	333 (7)	383 (10)
ASI (°Cj)	17 (2)	60 (5)	102 (8)
Longueur pédoncule (mm)	20.8 (0.9)	20.6 (0.7)	20.8 (2.9)
Longueur épi (mm)	48.5 (1.5)	51.3 (1.2)	54.7 (3.7)
Longueur spathes (mm)	115.8 (3)	106.9 (2.2)	92.3 (5.0)
Longueur soie 5 (mm)	85.5 (5.8)	76.3 (4.5)	60.8 (3.3)
RER soie 5 (mm mm ⁻¹ °Cj ⁻¹)	0.051	0.038	0.029

Tableau 1.2 : Dates de floraison mâle et femelle en (°Cj) après l'initiation d'épi, ASI et longueur des différents organes concourant à l'émergence des soies, mesurées à la date de floraison femelle pour des plantes de maïs bien irriguées (Témoin), soumises à un déficit hydrique modéré ($0.3 < \psi_{sol} < 0.5$) Mpa ou sévère ($0.6 < \psi_{sol} < 0.8$) Mpa. La vitesse relative d'extension de la soie a été calculée en considérant une croissance exponentielle entre la date d'initiation et la date d'émergence (Fig. 1.1 et 1.3). Chaque valeur représente la moyenne sur l'ensemble plantes traitées avec leurs valeurs d'erreur en intervalle de confiance.

L'évolution au cours du temps de la position p de la soie insérée sur l'étage 5 de plantes bien irriguées (Fig. 1.5b) a été calculée à partir des mesures de longueur illustrées sur la Fig. 1.5a. L'émergence des soies se produit lorsque p dépasse 1.

La date d'émergence des soies hors des spathes dépend donc de la vitesse d'allongement des soies, mais aussi des vitesses d'allongement des spathes, de l'épi et du pédoncule (Fig. 1.5a). Le tableau 1.2 indique que les longueurs d'épi et longueurs de pédoncule au moment de l'émergence des soies n'ont pas été modifiées par les différents régimes hydriques. La longueur des spathes a été légèrement réduite, ce qui signifie que le déficit hydrique a diminué la distance à parcourir par la soie, entre son point d'insertion et le sommet des spathes. Le décalage induit par cette réduction, estimé à partir de la vitesse de croissance des soies indiquée dans le tableau 1.2, est de 3 °Cj pour les plantes en déficit modéré et de 12°Cj pour les plantes en déficit sévère : il ne compense que très partiellement le retard dû à la réduction de la vitesse de croissance des soies.

Cette analyse rapide suggère que les variations avec le déficit hydrique du décalage entre les floraisons mâle et femelles (ASI) n'est pas lié à des variations de floraison mâle, ni à des variations de vitesse de croissance de l'épi, des spathes et du pédoncule. C'est donc à la croissance des soies qu'a été consacrée le reste de la thèse.

Chapitre 2 : Analyse spatiale et temporelle de la croissance des soies de plantes soumises à différents régimes d'alimentation hydrique

Avan Fuad Hassan, François Tardieu et Olivier Turc

. INTRODUCTION

Les organes en croissance présentent le plus souvent de fortes variations spatiales et temporelles de vitesse de croissance et de division cellulaire au cours de leur développement. C'est le cas en particulier pour les feuilles (Schnyder et Nelson 1989, Ben Haj Salah et Tardieu 1995, Granier et Tardieu 1998) et les racines (Sacks et al. 1997, Muller et al. 1998). Dans tous ces cas, la croissance et la division cellulaire sont cantonnées dans des zones particulières de l'organe considéré, qui peuvent être de dimension soit stable avec le temps (racines, feuilles de monocotylédones), soit variables avec le temps (feuilles de dicotylédones). Il est donc nécessaire d'identifier où et quand se produit la croissance des différentes parties des organes pour interpréter les variations de croissance avec les conditions environnementales. Il s'agit en particulier de déterminer si une contrainte hydrique modifie les distributions spatiales et temporelles de la croissance et de la division cellulaire. L'analyse spatio - temporelle est aussi une condition nécessaire à un échantillonnage raisonné de tissus pour examiner les déterminismes de la croissance. La mesure de la turgescence des cellules (Bouchabke et al., 2006) ou les dosages de métabolites, de transcrits ou de protéines candidats (Granier et al. 2000, Muller et al. 2007) doivent *a priori* être effectués dans les zones en croissance ou en division cellulaire afin d'être pertinents par rapport à l'objectif d'analyse.

Nous avons donc cherché à déterminer quantitativement les distributions spatiales de la division cellulaire et de l'expansion des tissus des soies, en utilisant les méthodes d'analyse cinématique de la croissance utilisées par Silk (1992), Sacks et al. (1997) et Liang et al. (1997) pour les racines, et par Fiorani et al (2000), Ben Haj Salah et Tardieu (1995) et Muller et al (2001) pour les feuilles de monocotylédones. Cette méthode consiste à considérer que, dans un organe à croissance unidirectionnelle, les gradients spatiaux peuvent être interprétés comme des évolutions temporelles des cellules. Si la division cellulaire se produit dans une zone méristématique localisée (apex de la racine ou base de la feuille), les nouvelles cellules formées poussent les cellules plus âgées qui poursuivent leur expansion plus loin du méristème, et celles

ci poussent les cellules qui atteignent leur maturité dans une zone encore plus distale tout en cessant leur croissance. Un gradient de développement des cellules existe donc entre la zone méristématique et la zone mature de l'organe considéré. Si cet organe est marqué à intervalle régulier, l'évolution temporelle des positions respectives des marques, combinée à la mesure de la vitesse d'allongement, permet de calculer la distribution spatiale de la vitesse locale d'allongement (RER, pour Relative Elongation Rate). Si on mesure de plus le nombre de cellules dans chaque zone délimitée par des marques, on peut calculer la distribution spatiale de la vitesse de division cellulaire (Silk 1992, Tardieu et Granier 2000). La longueur d'une zone délimitée par deux marques (L) est le produit du nombre de cellules de cette zone (N) par la longueur moyenne des cellules (Lc).

$$L = N Lc \quad 2.1$$

la dérivée de cette longueur par rapport au temps est

$$dL / dt = Lc dN / dt + N dLc / dt \quad 2.2$$

donc, en divisant tous les termes par L

$$(dL / dt) / L = (Lc / L)(dN / dt) + (N / L)(dLc / dt) \quad 2.3$$

Il s'ensuit que

$$(dL / dt) / L = (dN / dt) / N + (dLc / dt) / Lc \quad 2.4$$

Le premier terme est la vitesse relative d'allongement locale (RER); le second est l'augmentation relative du nombre de cellule, soit la vitesse de division cellulaire (RDR), et le troisième est la vitesse relative d'allongement d'une cellule (RECR)

$$RER = RDR + RECR \quad 2.5$$

La vitesse de division cellulaire, RDR, peut donc être déduite de mesures directes de l'allongement de la zone considérée et de la longueur des cellules.

Dans cette analyse, on considère que le déterminisme de l'expansion des tissus est indépendant de celui de la division cellulaire. L'expansion est considérée comme une propriété des parois cellulaires, définie par unité de surface (du μm^2 au cm^2), et dépendant d'une série d'enzymes de relâchement des parois (Cosgrove 2005). La division cellulaire est considérée comme dépendant de l'activité d'une enzyme, elle-même dépendante de nombreux effecteurs (Mironov et al., 1999). La taille individuelle d'une cellule est donc considérée comme la résultante de deux processus plutôt que comme un processus indépendant (Silk 1992, Fleming 2005).

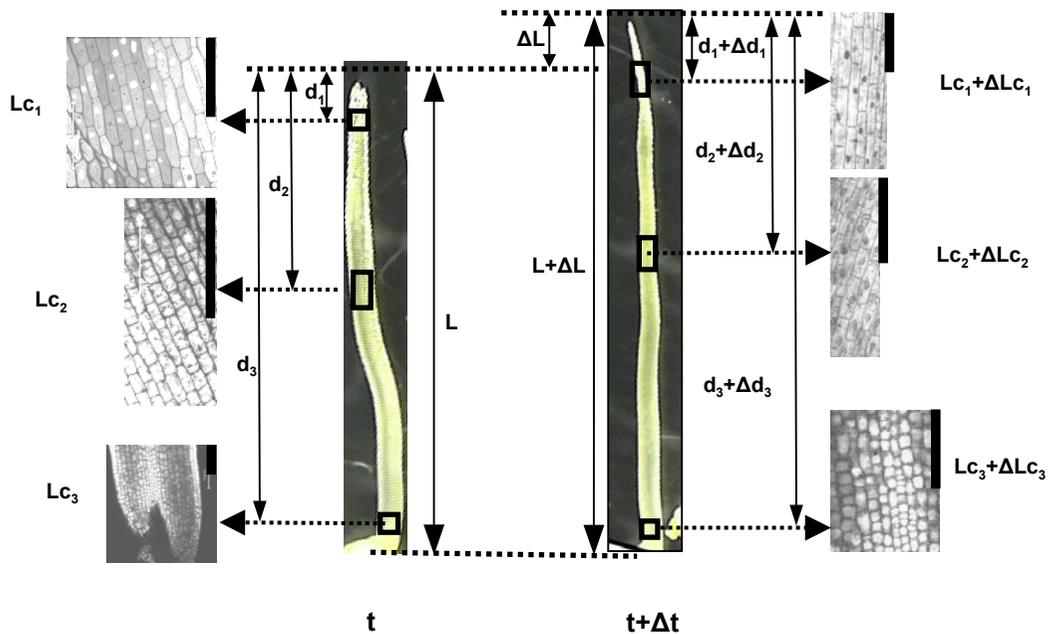


Fig. 2.1 : Mesure de longueur de cellules le long des soies et calcul des vitesses locales de division et d’allongement cellulaires.

Pour chaque soie prélevée, d’âge connu (t , exprimé en °Cj depuis l’initiation de la soie), une série de clichés régulièrement répartis entre le sommet et la base de la soie (5 à 25 clichés selon la longueur de la soie) a été réalisée sous microscope pour visualiser les files de cellules épidermiques. Pour la clarté de l’exemple, seuls 3 clichés sont présentés ici. Pour chaque cliché i , la longueur des cellules épidermiques (Lc_i) a été mesurée et la position spatiale (d_i , distance au sommet de la soie) enregistrée. Dans une portion de soie sans divisions cellulaires (entre le sommet de la soie et d_2 dans l’exemple présenté), le rang des cellules sur une file cellulaire, compté à partir du sommet de la soie, est un repère de position qui permet de s’adresser à un même élément de tissu aux dates t et $t+\Delta t$ et de calculer la vitesse locale d’allongement cellulaire. Pour l’élément de tissu situé à la distance d_1 du sommet à la date t , ce rang r_1 est calculé par le rapport d_1/Lc_1 . A la date $t+\Delta t$, cet élément de tissu est situé à la distance $d_1+\Delta d_1$ telle que $(d_1+\Delta d_1)/(Lc_1+\Delta Lc_1) = r_1$.

Dans les portions de soie avec des divisions cellulaires (entre d_2 et la base de la soie dans cet exemple), le repère de position utilisé est la distance relative au sommet $p_3 = d_3/L$, avec $(d_3+\Delta d_3)/(L+\Delta L) = p_3$ à la date $t+\Delta t$, en faisant l’hypothèse que la vitesse relative d’allongement des tissus est homogène le long de la soie. Le calcul de la vitesse locale d’allongement cellulaire permet d’accéder à la vitesse locale de division, par différence avec la vitesse relative d’allongement des tissus mesurée pour la soie entière. Les barres verticales à côté des photos correspondent à 0.1 mm. Les images ont été obtenues sur le plateau d’histologie et d’imagerie végétale de la plate-forme Montpellier RIO Imaging. Clichés : J Dourguia, A Fuad, G Rolland, O Turc.

L'analyse de la croissance des soies dans la littérature est peu fournie, essentiellement qualitative, et quelque peu contradictoire. Kiesselbach (1949) considère une « zone de croissance à la base de la soie où de nouvelles cellules se développent » : la zone méristématique serait donc située à la base de la soie, suivie spatialement par une zone d'allongement des cellules. Ce fonctionnement, proche de celui d'une feuille de monocotylédone, continuerait jusqu'à la fécondation de l'embryon qui provoquerait la sénescence de la soie. Westgate et Boyer (1985) ont montré, à l'aide de marques sur les soies, que l'allongement se produisait tout le long de la soie : contrairement aux feuilles de monocotylédones, la zone de croissance ne serait pas géographiquement limitée à la base de l'organe. Aucune analyse quantitative n'a été menée pour caractériser l'effet du déficit hydrique sur les vitesses de division et d'expansion dans la soie.

Ce chapitre a donc pour but de mener une analyse cinématique de la croissance des soies chez des plantes irriguées et en déficit hydrique, d'une part pour interpréter correctement les différences de vitesse de croissance de soies et de décalage entre les floraisons mâle et femelle (ASI), d'autre part pour guider l'échantillonnage de tissus (en particulier pour les mesures de teneurs en sucre), présentés dans la suite de la thèse. Nous avons réalisé cette analyse chez des soies situées à plusieurs localisations sur l'épi. Les résultats présentés ici se concentrent sur la soie située sur les 5^{ème} et 20^{ème} ovules depuis la base de l'épi. Les premières ont été initiées avant les secondes, mais leur apex ont un chemin plus long à parcourir entre le point d'insertion de la soie et l'extrémité des spathes (chapitre 1). La date de sortie de ces soies (qui détermine l'ASI), dépend donc à la fois de la distance à parcourir et des cumuls de vitesses locales d'expansion. Ce travail a été réalisé chez des plantes bien irriguées (potentiel de base supérieur à -0.2 MPa), subissant un déficit modéré (potentiel de base compris entre -0.5 et -0.3 MPa) ou plus marqué (potentiel de base compris entre -0.8 et -0.6 Mpa).

. MATERIEL ET METHODES

Théorie : analyse des vitesses locales de division cellulaire et de croissance des tissus dans les soies .

La figure 2.1 représente une soie en croissance entre les dates t et $t+\Delta t$, avec production de cellules à la base de la soie, conformément à l'analyse de Kiesselbach (1949) et présentant une croissance des tissus tout le long de la soie (Westgate et Boyer, 1985).

- Une première zone est située dans la portion apicale de la soie sans division cellulaire (entre le sommet de la soie et la distance d_2 sur la figure 2.1). Puisque le nombre de cellules est constant,

la vitesse relative d'allongement RER_i d'un élément de tissu, situé à la position i depuis l'apex, est égale à la vitesse relative locale d'allongement des cellules $RCER_i$. (Eq. 2.5). L'organisation des cellules épidermiques en files permet de caractériser leur position spatiale le long de la soie par leur rang r_i sur la file de cellules, compté depuis le sommet, et calculé à partir des longueurs de cellules Lc_i et des distances d_i . Ce repère de position est stable au cours du temps puisqu'il n'y a pas formation de nouvelles cellules dans cette portion de la soie : les limites de cellules peuvent donc être considérées de la même manière que les points sur des racines ou des trous sur les feuilles, utilisés dans d'autres études. La mesure de la longueur des cellules épidermiques Lc_i aux dates t et $t+\Delta t$, pour une position r_i donnée, permet ainsi d'accéder à la vitesse locale d'allongement du tissu RER_i .

$$RER_i = RCER_i = (\Delta Lc_i / \Delta t) / Lc_i \quad (2.6)$$

- Une seconde zone en position basale sur la soie est caractérisée par l'existence de la division cellulaire entre les temps t et $t+\Delta t$ (Fig. 2.1). La vitesse relative locale d'allongement des tissus est la somme de la vitesse relative d'allongement des cellules $RCER_i$ et de la vitesse relative de division cellulaire RDR_i .

$$RER_i = RCER_i + RDR_i \quad (2.7)$$

Dans ce cas, le rang r_i de la cellule n'est plus un marqueur de position stable entre t et $t+\Delta t$, et les mesures de longueur de cellules ne permettent pas d'accéder au calcul des vitesses locales.

Les calculs effectués à l'aide de l'équation (2.6) dans les zones de soies sans divisions cellulaires indiquent que les vitesses relatives locales d'allongement des tissus RER_i sont peu variables le long d'une même soie, et très proches de la vitesse relative d'allongement de la soie entière (cf résultats, Fig. 2.4f et 2.4i). Ceci nous a amené à formuler l'hypothèse que les vitesses relatives locales d'allongement des tissus sont également uniformes spatialement dans les portions de soies avec à la fois division et allongement des cellules, et peuvent donc être estimées par la vitesse relative d'expansion de la soie RER_s .

$$RER_i = RER_s = (\Delta L / \Delta t) / L \quad (2.8)$$

La vitesse relative locale de division cellulaire RDR_i est alors calculée à partir des équations (2.7) et (2.8), en suivant l'équation générale 2.5

$$RDR_i = RER_i - RCER_i = (\Delta L / \Delta t) / L - (\Delta Lc_i / \Delta t) / Lc_i \quad (2.9)$$

Mesures des longueurs de soie, des longueurs de cellules et des nombres de cellules

Afin d'utiliser les équations ci dessus pour une analyse cinématique, nous avons mesuré à plusieurs dates de prélèvement la longueur des soies et la longueur des cellules épidermiques à différentes positions le long des soies considérées.

Deux plantes par traitement ont été prélevées chaque jour entre l'initiation des soies et leur émergence, puis tous les 2 jours. L'épi a été disséqué et la longueur des soies insérées aux étages 5 et 20 a été mesurée à chaque date de prélèvement. Une soie a été prélevée aux étages 5 et 20 sur l'une des 2 plantes, transférée dans un liquide de fixation, puis observée au microscope pour mesurer la longueur des cellules épidermiques. Pour chaque soie prélevée, une série de clichés régulièrement répartis entre le sommet et la base de la soie (5 à 25 clichés par soie selon sa longueur) a été réalisée sous microscope pour visualiser les files de cellules épidermiques. Par souci de clarté, seuls 3 clichés sont présentés sur la Fig. 2.1. Pour chaque cliché, la longueur des cellules épidermiques (L_{c_i}) a été mesurée (moyenne de 20 à 50 cellules) et la position spatiale (d_i , distance au sommet de la soie) enregistrée. Entre deux points de mesure, le nombre de cellules sur une file cellulaire a été estimé par interpolation linéaire :

$$N_i = (d_{i-1} - d_i) / ((L_{c_{i-1}} - L_{c_i}) / 2) \quad (2.10)$$

Le nombre total de cellules par file sur la soie (N_s) a été obtenu en sommant l'ensemble des valeurs N_i depuis le sommet jusqu'à la base.

$$N_s = \sum N_i \quad (1 \leq i \leq n) \quad (2.11)$$

Le rang des cellules r_i le long de la file cellulaire, compté à partir du sommet de la soie, qui est le repère de position utilisé dans les zones sans division cellulaire, a été calculé par la somme des valeurs N_j entre le sommet de la soie et le point de mesure i .

$$r_i = \sum N_j \quad (1 \leq j \leq i) \quad (2.12)$$

Dans les zones avec divisions cellulaires, la position spatiale p_i d'un élément de tissu a été caractérisée par sa distance au sommet de la soie rapportée à la longueur totale de la soie:

$$p_i = d_i / L \quad (2.13)$$

Expérimentations

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est une lignée tempérée, F252 à épi corné à corné denté, obtenue par l'INRA à partir de ressources américaines et canadiennes (F186*Col125). C'est une lignée étudiée au LEPSE pour son comportement foliaire face au déficit hydrique et qui apparaît comme étant une lignée plutôt tolérante sur ce critère.

Dans le cadre de cette étude, trois expériences (2A1, 2A4 et 3A5, Tab. 1.2) ont été menées en serre et en chambre de culture. Les grains de maïs ont été semés en serre dans des colonnes en

PVC de 12 l, à raison de trois grains par pot. Toutes les colonnes ont été préparées de la même façon, avec un substrat composé d'un mélange de terre tamisée argilo-limoneuse (Mauguio, Hérault, France), et de terreau (40% et 60% respectivement) surmontant des billes d'argile d'un diamètre de l'ordre de 1 cm qui facilitent le drainage. Une couche de perlite a été ajoutée à la surface des colonnes dès l'apparition des premières feuilles, afin d'éviter le dessèchement du sol en surface en limitant l'évaporation. Les plantes ont été irriguées manuellement avec une solution nutritive de Hoagland (1/10) enrichie en oligo-éléments. La fréquence d'arrosage augmente avec le développement des plants de maïs durant leur phase de croissance foliaire, jusqu'à 2 arrosages quotidiens pendant la période de croissance des soies. Un éclairage d'appoint, constitué de lampes à sodium, a permis de maintenir la durée de la photopériode à 12 h par jour durant la période hivernale. La température a été maintenue autour de 20-25°C en journée et de 18°C la nuit grâce à différents systèmes de régulation : chauffage, ou ventilation et cooling quand la température s'élève. Juste avant l'émergence des soies hors du cornet des spathes, les plantes ont été transférées en chambre de culture, où des conditions environnementales stables ont été maintenues jusqu'à la fin de la croissance des soies : 12h de photopériode, VPD<1kPa, 22°C le jour et 20°C la nuit.

La température et l'humidité de l'air ont été mesurées par des capteurs (HMP35A Vaisala Oy, Helsinki, Finlande) placés sous abris ventilés. La température de l'épi a été mesurée à l'aide de thermocouples cuivre-constantan placés dans la gaine des spathes. Les thermocouples, 4 par traitement expérimental, étaient bien répartis dans le dispositif. Le rayonnement photosynthétique actif (PAR) a été mesuré à l'aide de capteurs de rayonnement (Licor, Lincoln, LB, USA) placés entre les colonnes à hauteur du couvert. Toutes les données de température, de PAR, d'humidité relative de l'air ont été mesurées toutes les 18 secondes et moyennées sur 15 minutes, puis enregistrées sur une centrale d'acquisition de données (Campbell Scientific, LTD CR10 Wiring Panel, Shepshed, Leicestershire, Angleterre).

La teneur en eau du sol a été contrôlée par pesée de chaque pot avant et après chaque irrigation. Le calcul de la teneur en eau du sol prend en compte la tare du pot (PVC+billes, ajustée à la même valeur pour tous les pots), le poids de terre sèche (calculé au semis à partir de l'humidité et du poids de substrat, mesurés dans chaque pot), et l'estimation de la matière fraîche des plantes.

Le potentiel hydrique du sol a été estimé à partir de mesures du potentiel hydrique foliaire mesuré en fin de nuit à plusieurs reprises sur l'ensemble des pots. La mesure a été effectuée à l'aide d'une chambre à pression (Soilmoisture Equipment Corp., Santa Barbara, CA, USA), en fin de nuit. A ce moment là, la plante est en équilibre avec le sol ; le potentiel hydrique foliaire

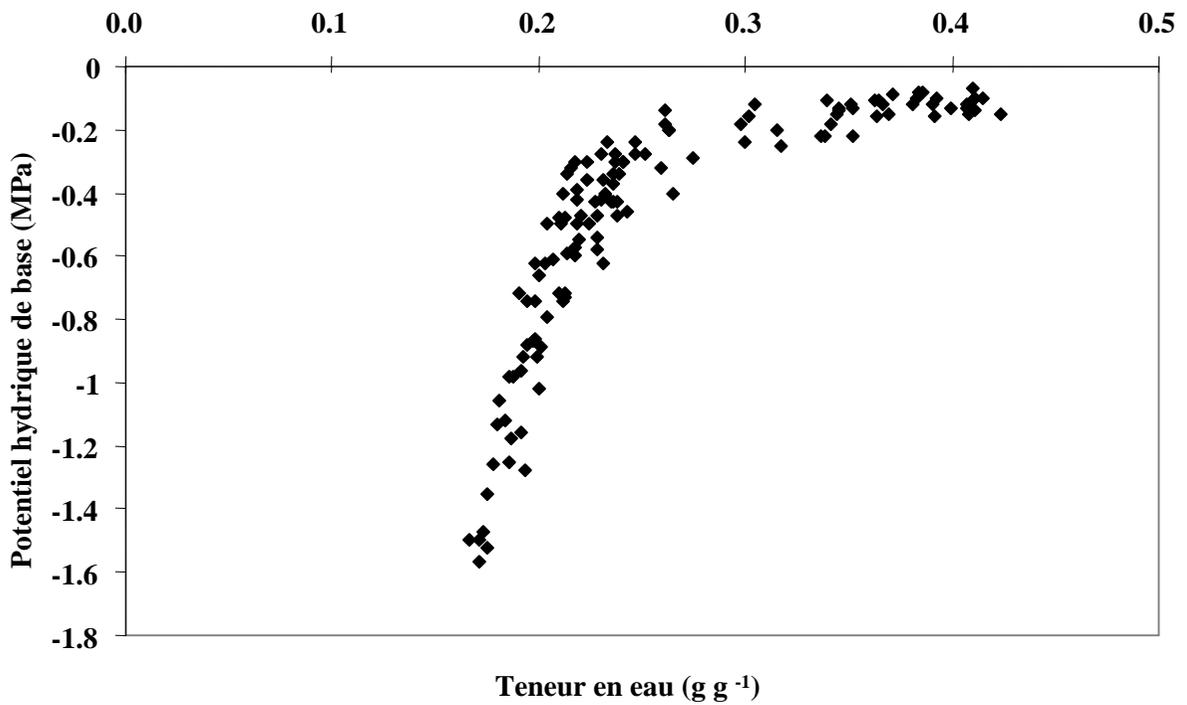


Fig. 2.2 : Relation entre le potentiel hydrique et la teneur en eau du sol. Chaque point représente le potentiel hydrique d'une plante mesuré en fin de période nocturne. La teneur en eau du sol est calculée à partir du poids du pot et tient compte du poids des plantes.

est alors un bon estimateur du potentiel hydrique du sol. Une relation entre le potentiel hydrique et la teneur en eau du sol, commune aux trois expérimentations a été établie (Figure 2.2).

Des contraintes hydriques ont été appliquées à partir de l'initiation des soies. En dehors de ces périodes, les plantes ont été irriguées de façon à maintenir une humidité du sol autour de 0,42 g d'eau par g de sol sec (potentiel > 0,1 MPa). Les régimes d'alimentation hydrique ont été établis en modulant les doses d'arrosage. En une semaine environ, des potentiels hydriques de -0,8 à -0,6 MPa ont été obtenus pour les plantes soumises à un déficit hydrique sévère (Exp. 2A4 et 3A5), de -0,5 à -0,3 MPa pour les plantes subissant une contrainte modérée (Exp. 2A4 et 3A5), et de -0,2 à -0,1 MPa pour les plantes bien irriguées (Exp. 2A11 et 2A4). Les plantes ont ensuite été maintenues pendant toute la période de mesure de la croissance des soies à ces potentiels, par des irrigations quotidiennes ou bi-quotidiennes qui permettaient de ramener le sol à la teneur en eau voulue.

La phénologie des plantes (nombre de feuilles visibles) a été notée quotidiennement. Dès sa sortie, la panicule (inflorescence mâle) a été coupée, pour éviter la diffusion de pollen, qui, en fécondant les inflorescences femelles et l'ovule, bloque la croissance des soies (Kiesselbach, 1949). Le diamètre de la base des plantes, ainsi que la hauteur de la dernière ligule visible ont été mesurés régulièrement sur l'ensemble des plantes. Une relation commune à l'ensemble des expérimentations a été établie entre le produit diamètre x diamètre x hauteur et le poids de matière fraîche de plantes prélevées. Ceci a permis d'estimer le poids de matière fraîche des plantes dans chaque pot.

Tous les 3-4 jours entre la levée des plantes et l'initiation de soies, deux plantes ont été prélevées puis disséquées sous un stéréomicroscope afin d'observer et de dater l'initiation de la panicule, de l'épi, puis des épillets, et des soies. La date d'initiation des premiers épillets marque le début du développement de l'épi. Ce stade était atteint lorsque le nombre de feuilles visibles correspondait à 65 % du nombre final de feuilles. Ceci, couplé au suivi quotidien du stade foliaire sur toutes les plantes, a permis de calculer l'âge de chaque plante, exprimé en temps thermique depuis le début du développement de l'épi. La détermination de la date d'initiation des soies observée lors de la dissection a permis de caler la date d'application de la contrainte hydrique dans chaque expérimentation. Le temps thermique a été calculé à partir des mesures de température de l'épi, en faisant l'hypothèse que la température de base de 10 °C, établie pour la croissance foliaire du maïs (Ben Haj Salah et Tardieu, 1996), était également valide pour l'analyse de la croissance des soies (hypothèse confirmée au chapitre 3).

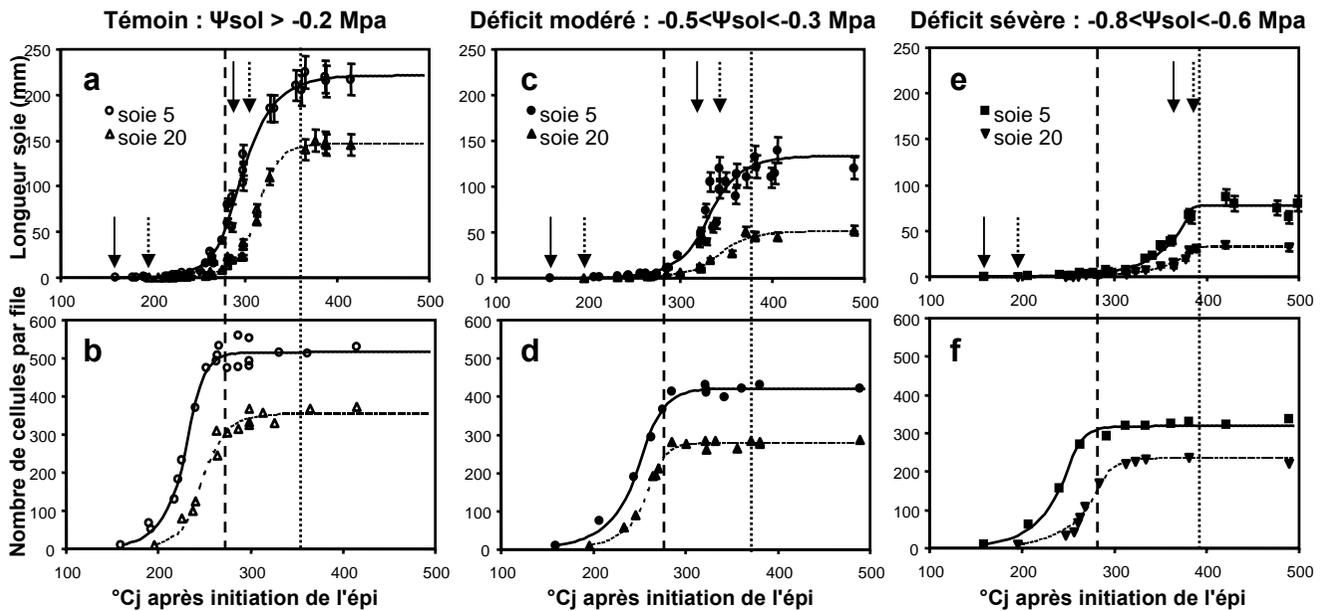


Fig. 2.3 : Longueur de la soie et nombre de cellules par file cellulaire en fonction du temps thermique depuis l'initiation de l'épi pour la soie 5 et la soie 20 de plantes de maïs soumises à 3 niveaux de disponibilité hydrique dans le sol. Pour la longueur des soies, chaque point est la moyenne de 4 à 6 mesures. Les traits verticaux indiquent l'intervalle de confiance à $p = 0.05$. Pour le nombre de cellules, chaque point est le résultat du calcul pour une soie. Les flèches indiquent les dates d'initiation et d'émergence hors des spathes de la soie 5 (trait plein) et de la soie 20 (pointillés). Les lignes verticales indiquent la date d'anthesis (tirets) et la fin de l'allongement des soies (pointillés). Ψ_s est le potentiel hydrique du sol.

. RESULTATS

Cinétiques de la longueur et du nombre de cellules des soies

Chez les plantes bien irriguées, les soies 5 et 20 ont atteint 220 et 130 mm, respectivement, à la fin de leurs croissances (Fig. 2.3a). Ces deux soies ont présenté des cinétiques similaires mais décalées dans le temps. Leur croissance était quasi exponentielle jusqu'à leur émergence hors des spathes (RER_s 0.053 et 0.056 °Cj⁻¹, respectivement pour les soies 5 et 20), puis la vitesse de croissance a diminué progressivement, après une phase pseudo linéaire. Les divisions cellulaires se sont produites pendant la phase précoce du développement de la soie (Fig. 2.3b), là aussi avec une période exponentielle au début du développement des soies (RDR environ 0.05 °Cj⁻¹ pour les soies 5 et 20). La période de divisions cellulaires correspond à environ la moitié de la période de croissance des soies chez les soies 5 et 20.

Les durées des différentes phases ont été plus courtes pour la soie 20 que pour la soie 5. La soie 20 a été initiée environ 40°Cj après la soie 5, mais les deux types de soies ont achevé leurs croissances quasi-simultanément. La durée des divisions cellulaires, ainsi que la durée de la phase exponentielle d'allongement (entre l'initiation et l'émergence de la soie) ont été plus courtes de 20°Cj environ pour la soie 20 par rapport à la soie 5. La diminution de ces durées explique la plus petite taille finale (130 vs 220 mm) et le nombre de cellules moins élevé (356 vs 516) chez la soie 20. Il est à noter que l'apex de cette soie a un trajet plus court à parcourir entre le point d'insertion de la soie et l'extrémité des spathes.

L'application de contraintes hydriques édaphiques à partir de l'initiation des soies a réduit la longueur des soies et retardé leur date d'émergence, d'autant plus que l'intensité du déficit était plus élevée. Au contraire, la date d'anthèse n'a pas été modifiée (Fig. 2.3c et 2.3e), ce qui a provoqué une augmentation du décalage de floraison mâle - femelle (ASI). Dans les expériences présentées ici, les augmentations d'ASI en réponse aux déficits hydriques peuvent donc être attribuées à une réduction de la vitesse de croissance des soies. La durée de division cellulaire a été peu affectée par les deux niveaux de déficit hydrique imposés aux plantes (Fig. 2.3d et 2.3f). La diminution du nombre de cellules peut donc être attribuée à une diminution de la vitesse de division cellulaire pendant la période exponentielle de croissance de la soie.

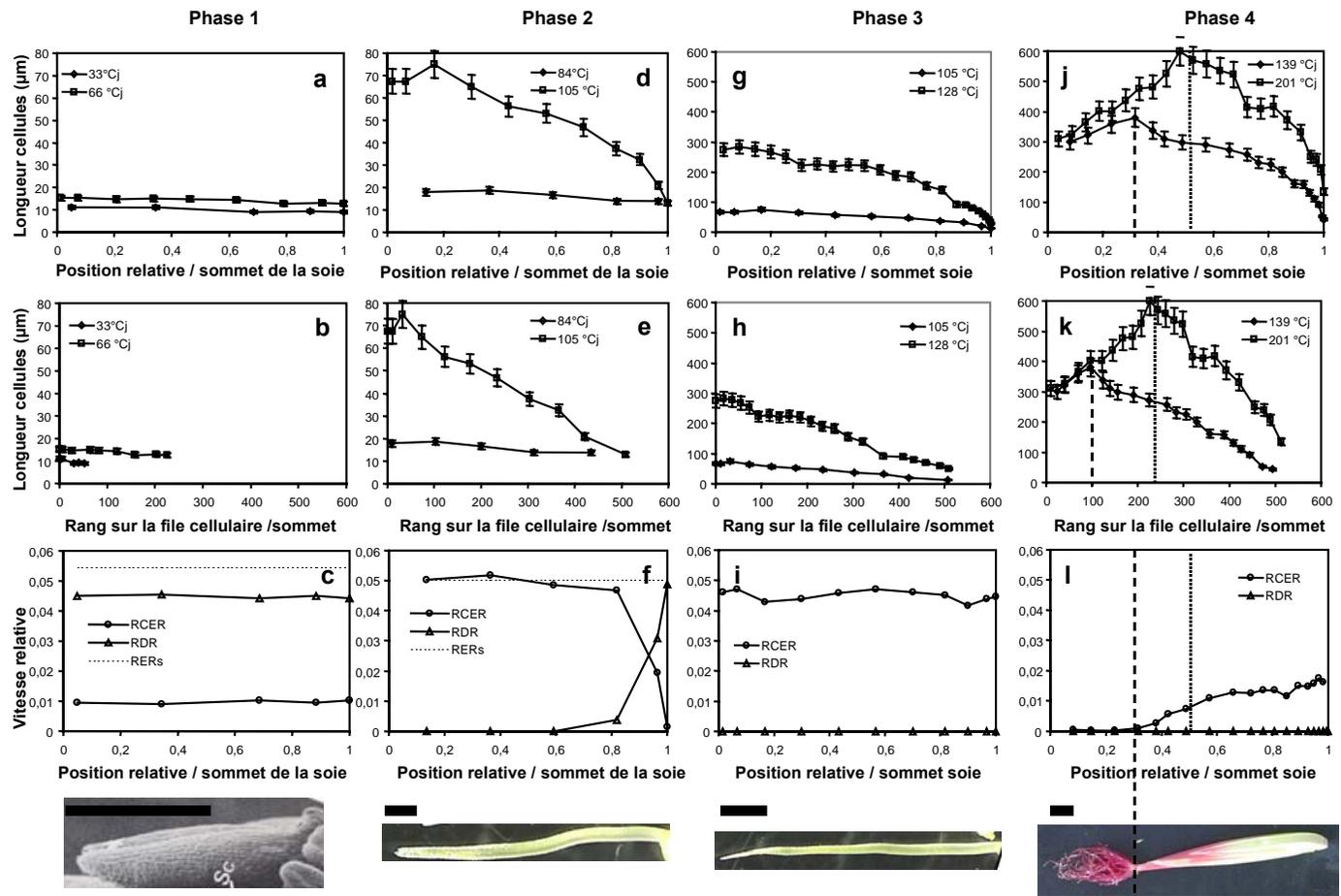


Fig 2.4 : Distribution spatiale de la longueur des cellules épidermiques et des vitesses relatives d'allongement et de division cellulaires le long des soies pendant 4 phases du développement de la soie 5 de plantes de maïs bien irriguées. Les graphes du haut et du milieu représentent les longueurs des cellules épidermiques selon leur position sur la soie exprimée comme le rapport entre la distance au sommet de la soie et la longueur de la soie (graphes du haut) ou comme le rang des cellules sur la file cellulaire, compté depuis le sommet de la soie (graphes du milieu). Pour chaque phase, les mesures correspondant à 2 dates de prélèvement, exprimées en temps thermique depuis l'initiation de la soie, sont présentées. Chaque point indique la moyenne et l'intervalle de confiance de 20 à 50 mesures de longueur de cellules. Les vitesses relatives d'allongement et de division cellulaires (graphes du bas) ont été calculées entre les 2 dates indiquées sur les graphes supérieurs. Les lignes horizontales en pointillés indiquent la vitesse relative d'allongement moyenne de la soie entière pendant les phases 1 et 2. Les lignes verticales sur les graphes de droite indiquent la position du sommet des spathes au début (tirets) et à la fin de la phase 4 (pointillés). Les barres horizontales au-dessus des photos correspondent à 1 mm pour les phases 1 et 2, et à 10 mm pour les phases 3 et 4. Clichés : A Fuad.

Analyse spatiale de l'allongement de la soie 5 chez les plantes bien irriguées

L'analyse des vitesses relatives locales d'allongement et de division fait apparaître 4 phases au cours du développement d'une soie.

- Pendant la première phase, d'environ 80°Cj à partir de l'initiation de la soie, la longueur des cellules était faible quelle que soit la position de la cellule le long de la soie (Fig. 2.4a). Le nombre de cellules a rapidement augmenté pendant cette phase (Fig. 2.3b), ce qui s'est traduit par une augmentation du rang des cellules basales par rapport au sommet de la soie (Fig. 2.4b). La vitesse relative d'allongement de la soie était de $0.055 \mu\text{m} \mu\text{m}^{-1} \text{ } ^\circ\text{Cj}^{-1}$. La vitesse relative d'allongement des cellules était d'environ $0.010 \mu\text{m} \mu\text{m}^{-1} \text{ } ^\circ\text{Cj}^{-1}$, uniforme sur l'ensemble de la soie (Fig. 2.4c). La vitesse locale de division cellulaire, calculée comme la différence entre la vitesse relative d'allongement de la soie et la vitesse locale d'allongement des cellules (Eq. 2.5), était donc d'environ $0.045 \text{ } ^\circ\text{Cj}^{-1}$ pour toutes les positions le long de la soie.

- Pendant la seconde phase, entre 80 et 110 °Cj après initiation de la soie, la longueur des cellules a fortement augmenté dans la partie apicale de la soie et très peu à la base (Fig. 2.4d). Ceci correspond à un gradient de vitesse de division cellulaire le long de la soie : seules les cellules situées près de la base de la soie continuaient à se diviser pendant cette phase (Fig. 2.4f). Ces cellules sont donc restées courtes, alors que celles de l'apex s'allongeaient (Eq. 2.5). Le nombre de cellules total de la soie était fixé à la fin de cette seconde phase (Fig. 2.3b et 2.4e).

- La troisième phase se situe entre la fin des divisions cellulaires et l'émergence de la soie, entre 110 et 130 °Cj après l'initiation de la soie (Fig. 2.3a, 2.3b et 2.4g). Le gradient de taille de cellules depuis le sommet vers la base de la soie, observé pendant la deuxième phase en raison de l'arrêt progressif des divisions cellulaires, s'est maintenu au cours de cette phase (Fig. 2.4g). Toutes les cellules s'allongeaient donc rapidement (Fig. 2.4h). Les vitesses locales d'allongement des tissus, identiques aux vitesses locales d'allongement des cellules (Eq. 2.6), Fig. 2.4i), étaient uniformes sur l'ensemble de la soie (entre 0.043 et $0.047 \text{ } ^\circ\text{Cj}^{-1}$).

- La quatrième phase, au delà de 130 °Cj après initiation de la soie, correspond à la phase de décroissance de la vitesse d'allongement des soies après leur émergence hors des spathes (Fig. 2.3a). On a alors observé une inversion du gradient des longueurs de cellules épidermiques dans la partie apicale de la soie (Fig. 2.4j) qui aboutit à une distribution en cloche de la taille des cellules le long de la soie à la fin de la période de croissance. La distribution spatiale des vitesses

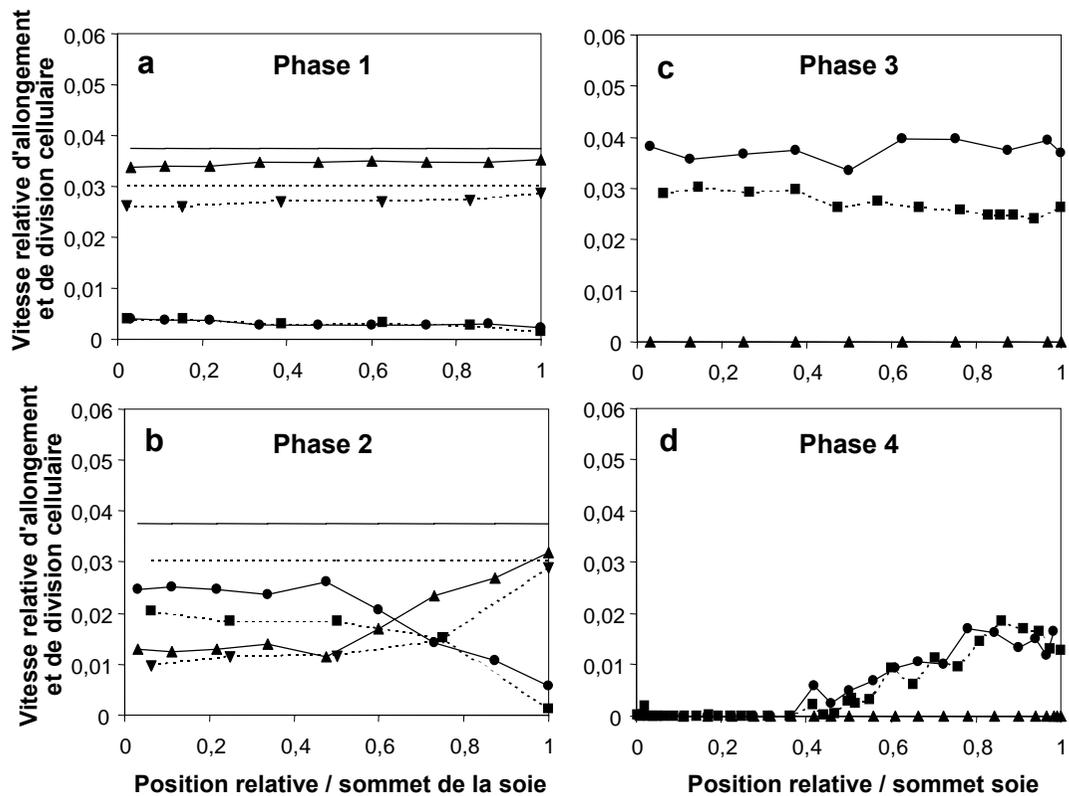


Fig. 2.5 : Distribution spatiale des vitesses relatives d'allongement (●,■) et de division cellulaires (▲,▼) le long des soies pendant 4 phases du développement de la soie 5 de plantes de maïs soumises à un déficit hydrique modéré (traits pleins) ou sévère (pointillés). Les lignes horizontales indiquent la vitesse relative d'allongement moyenne de la soie entière pendant les phase 1 et 2.

relatives locales d'allongement des tissus, calculée au milieu de la phase, présentait 3 zones le long de la soie (Fig. 2.4l) : la vitesse était nulle dans la zone apicale, elle augmentait avec la distance au sommet de la soie dans la zone médiane et était uniforme dans la zone basale autour d'une valeur nettement plus faible que lors des phases précédentes (0.013 à 0.018 °Cj⁻¹). Cette distribution s'explique par l'arrêt de la croissance dans la portion des soies qui émerge hors des spathes. La portion apicale de la soie (environ 100 cellules, Fig. 2.4k) correspondait au fragment de soie émergé à la date 139 °Cj : sa croissance a été nulle entre 139 et 201 °Cj (Fig. 2.4k et 2.4l). La portion médiane, entre les cellules de rangs 100 et 200 comptés depuis le sommet de la soie (Fig. 2.4k), a émergé hors des spathes entre 139 et 201 °Cj : dans cette portion, la vitesse de croissance des cellule augmentait avec leur rang. Ceci est cohérent avec l'émergence plus tardive, et donc une durée de croissance plus longue, pour les cellules plus éloignées du sommet. Enfin, la portion basale de la soie, avec une vitesse stabilisée, correspond au fragment de soie encore à l'intérieur des spathes à la fin de la croissance des soies. La position des cellules de longueur maximum correspond à la position du sommet des spathes aux 2 dates de mesure (139 et 201 °Cj).

Considérés dans leur ensemble, ces résultats suggèrent (i) que la division cellulaire, qui se produit sur l'ensemble de la soie au début du développement de celle ci, s'arrête progressivement au cours du temps, en commençant par les parties apicales (plus âgées). (ii) que la vitesse relative d'allongement, stable pendant la plus grande partie du développement de la soie, s'arrête également progressivement depuis l'apex vers la base de la soie. Cet arrêt d'allongement est synchrone avec la sortie de la soie. (iii) Pendant la période de croissance des soies hors des spathes, les zones émergées des soies ont cessé leur croissance. L'allongement est dû exclusivement aux parties des soies cachées par les spathes. (iv) Le cadre d'analyse considérant la longueur des cellules comme la résultante d'une "course" entre les vitesses d'expansion et de division cellulaire, permet l'interprétation des résultats. Ceux ci auraient au contraire été difficiles à interpréter si la division cellulaire et l'allongement des tissus étaient considérés comme indépendants.

Analyse spatiale et temporelle de l'allongement chez les plantes en déficit hydrique

La même succession de phases se retrouve chez les plantes qui ont subi une contrainte hydrique édaphique (Fig. 2.5). Les cinétiques de longueur de cellules (Fig. 2.6a, 2.6d et 2.6g), de vitesses relatives de division cellulaire (Fig. 2.6b, 2.6e et 2.6h) et de vitesse relative

Témoïn : $\Psi_{sol} > -0.2$ Mpa

Déficit modéré : $-0.5 < \Psi_{sol} < -0.3$ Mpa

Déficit sévère : $-0.8 < \Psi_{sol} < -0.6$ Mpa

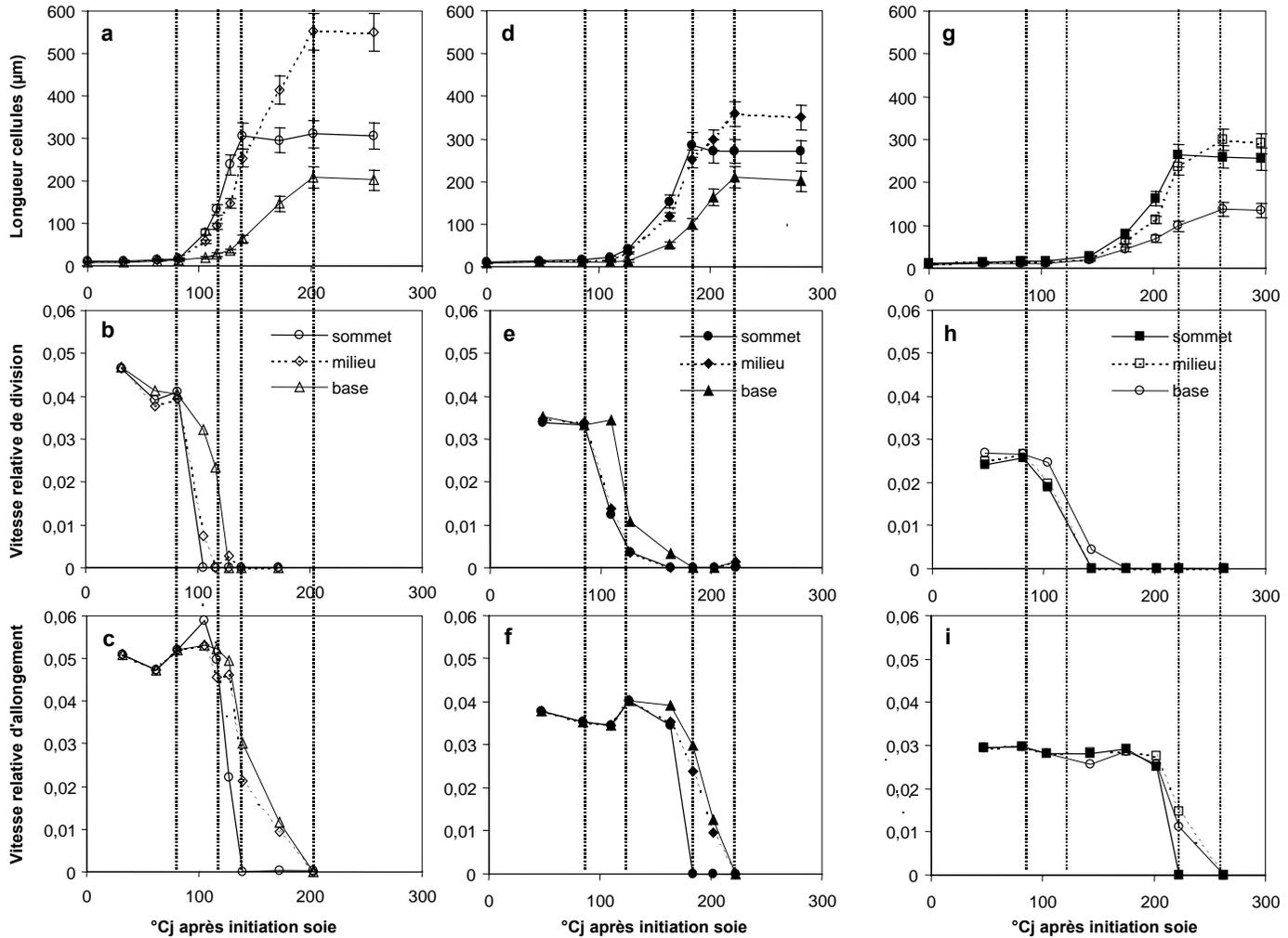


Fig. 2.6 : Longueur des cellules épidermiques (graphes du haut), vitesse relative de division cellulaire (graphes du milieu) et vitesse relative d'allongement des tissus (graphes du bas) en fonction du temps thermique depuis l'initiation de la soie pour 3 zones (sommet, milieu et base) de la soie 5 de plantes de maïs soumises à 3 niveaux de disponibilité hydrique dans le sol. Les lignes verticales délimitent les 4 phases de développement des soies. Ψ_{sol} est le potentiel hydrique du sol.

d'allongement des tissus (Fig. 2.6c, 2.6f et 2.6i) dans 3 zones (sommet, milieu et base) de soies 5 de plantes bien irriguées (Fig. 2.6a, 2.6b et 2.6c), soumises à un déficit hydrique du sol modéré (Fig. 2.6d, 2.6e et 2.6f) ou sévère (Fig. 2.6g, 2.6h et 2.6i) font apparaître les durées de chaque phase et les vitesses dans chaque situation.

- La première phase est définie comme précédemment (entre l'initiation des soies et l'arrêt de la division cellulaire dans la zone apicale). Dans les trois traitements hydriques, la vitesse de division cellulaire était uniforme le long de la soie, avec une faible longueur des cellules sans gradient marqué entre la base et l'apex de la soie. Les vitesses relatives de division cellulaire et d'allongement locale des tissus étaient stables temporellement pendant cette phase, sans variabilité spatiale importante le long de la soie quel que soit l'état hydrique de la plante. La vitesse d'allongement a été diminuée de 60 et 70%, respectivement, pour les déficits modérés et sévères, alors que la vitesse de division cellulaire a été moins affectée (réductions de 23 et 41%). Les effets contrastés sur la vitesse de division cellulaire et sur la vitesse d'allongement se sont traduits, à la fin de cette phase, par des cellules d'autant plus petites que le sol était plus sec. En revanche, la durée de cette phase a été peu affectée par le déficit hydrique (environ 80°Cj dans les 3 cas). Pour la soie 5 et pour les 3 traitements hydriques, la fin de cette phase a coïncidé avec l'émergence de la panicule hors du cornet de la dernière feuille.

La seconde phase (s'achevant à fin des divisions cellulaires dans l'ensemble de la soie) a duré environ 30°Cj dans les 3 régimes d'alimentation hydrique. On observe dans tous les cas un gradient de longueur de cellules de la base vers le sommet, associé au gradient de vitesse de division cellulaire. La fin des divisions cellulaires dans la soie 5 était synchrone avec la diffusion du pollen (anthèse) dans les 3 cas. La croissance exponentielle s'est poursuivie de façon homogène dans les 3 zones de la soie pendant cette phase.

La troisième phase (s'achevant à l'arrêt de l'allongement des cellules proches du sommet de la soie et leur émergence hors des spathes), a eu une durée très variable selon le régime d'alimentation hydrique. La vitesse d'allongement était uniforme le long de la soie dans tous les traitements, et d'autant plus faible que le sol était plus sec. Cette phase correspond approximativement à l'ASI (intervalle anthèse – émergence des soies) dans les trois traitements, puisque son début est synchrone avec l'émission du pollen et sa fin avec la sortie des soies. Elle a duré 10 °Cj seulement chez les plantes bien irriguées, 55 °Cj avec un déficit hydrique modéré et près de 100°Cj avec un déficit hydrique sévère. La croissance exponentielle des soies s'est

poursuivie pendant pratiquement toute cette phase : la vitesse relative d'allongement des tissus n'a décré que dans les 10-15 derniers °Cj de cette phase dans toutes les zones de la soie.

La phase 4, définie comme précédemment, a au contraire été similaire dans tous les traitements hydriques. La vitesse d'allongement des tissus a rapidement diminué dans toutes les zones de la soie, du sommet vers la base. L'arrêt de croissance des soies s'est produit 70 à 80 °Cj après l'émergence des premières soies chez les plantes bien irriguées, et seulement 50 °Cj chez les plantes en déficit hydrique.

Ces résultats montrent donc que le déficit hydrique n'a pas modifié la définition des quatre périodes du développement des soies définies précédemment. Seule la troisième phase (entre l'arrêt des divisions cellulaires et la fin de l'allongement de l'apex des soies), a vu sa durée modifiée par le déficit hydrique, alors que la durée des autres phases n'a pas été modifiée. L'effet du déficit hydrique a donc essentiellement porté sur les vitesses d'allongement des tissus et de division cellulaire, qui a entraîné les autres effets du déficit hydrique en particulier l'allongement du décalage de floraison mâle - femelle.

. DISCUSSION

Une distribution originale des vitesses locales de croissance et de division cellulaire

Ce travail constitue, à notre connaissance, la première analyse cinématique de l'allongement des soies, menée pendant toute la période de croissance et sur toute la longueur de la soie. Les soies représentent un nouveau cas dans les analyses spatiales existantes d'organes en croissance.

- Comme dans le cas des feuilles de monocotylédones et des racines, la croissance y est unidirectionnelle. Cependant, le schéma présenté en introduction pour ces organes, avec des zones spécifiques pour la division cellulaire et pour l'expansion des cellules, n'est pas valable pour les soies, contrairement à la description de Kiesselbach (1949). Les conditions pour utiliser les méthodes "Eulériennes" ne sont donc pas réunies pour l'analyse de la croissance et de la division cellulaire, avec les méthodes utilisées par exemple par Sacks et al.1997 ou Ben Haj Salah et Tardieu,1995). Pour une utilisation simple, cette méthode nécessite en effet que les distributions de croissance et de nombre de cellules soient stables au cours du temps, ce qui n'est pas le cas ici.

- Les distributions de la croissance et de la division cellulaire étaient plus proches de celles d'une feuille de dicotylédone (Maksymovych,1973a,b Granier et Tardieu,1998), où la division cellulaire et l'expansion des tissus se déroulent simultanément dans l'ensemble de l'organe en croissance, avec des distributions spatiales qui varient au cours du temps. Comme dans une feuille de tournesol, la division cellulaire a ralenti d'abord dans la partie apicale, puis progressivement vers la base de la soie, et la vitesse relative de croissance a eu la même cinétique mais décalée dans le temps. Nous ne validons donc pas ici le résultat de Westgate et Boyer (1985), qui ont considéré à partir d'une expérience unique que les vitesses locales de croissance sont uniformes spatialement. Comme dans le cas des feuilles de dicotylédones, c'est une approche "Lagrangienne", consistant à suivre les positions spatiales de points matériels, qui a été suivie.

- Deux caractéristiques ont considérablement simplifié l'analyse spatiale, en évitant le marquage physique des soies, ce qui aurait été particulièrement difficile dans un organe caché par les spathes. (i) Pendant les phases 3 et 4 du développement des soies, et pendant la phase 2 dans leur zone apicale, le nombre de cellules était fixé si bien que les limites des cellules nous ont servi de repère physique. Ceci a été possible à condition de repérer les zones de la soie à partir de l'apex où les divisions cessent en premier, et non à partir de la base. (ii) Pendant la phase 1 du développement des soies, les vitesses locales d'allongement étaient uniformes spatialement. Cette caractéristique a été étendue à la phase 2 pour les parties de la soie encore en division, en cohérence avec les résultats obtenus. Nous avons donc considéré que les différents points matériels s'éloignaient les uns les autres d'une manière uniforme, ce qui a permis les calculs de division cellulaire.

Le décalage entre les floraisons mâle et femelle correspond à une phase particulière du développement des soies, et est probablement directement lié à la vitesse de croissance des soies.

Les résultats présentés ici confortent une hypothèse qui était à l'origine de la thèse. Le décalage entre les floraisons mâle et femelle (ASI) a été interprété par Edmeades et al. (1993) comme un retard de la croissance des ovules et/ou des soies de plantes soumises à des stress, par exemple hydrique. Leur raisonnement était fondé sur le fait que la date de déhiscence des anthères (floraison mâle) est généralement peu ou pas affectée par le déficit hydrique, comme c'est le cas dans nos propres résultats. La progression des stades de développement de l'ensemble de la plante n'est donc pas affectée par le déficit hydrique. Le retard de sortie des soies pouvait alors être interprété comme une réduction de croissance ou de développement des organes femelles seulement.

Les résultats présentés ici confirment cette vision, et donnent une base biologique à l'ASI. Celle-ci correspond à la phase 3 identifiée dans cette étude, c'est à dire la durée entre la fin des divisions cellulaires des soies (synchrones avec la déhiscence des anthères) et le début de l'arrêt de la croissance dans la partie apicale des soies (synchrone avec la sortie des soies). Ces synchronismes ont été observés dans 3 expériences et quel que soit l'état hydrique des plantes. Il est à noter que cette phase est la seule dont la durée a été affectée par le déficit hydrique, puisque les phases 1, 2 et 4 ont eu une durée peu ou pas affectée par le déficit.

On peut émettre l'hypothèse que l'arrêt de la croissance locale d'allongement dans la partie apicale de la soie est directement liée à la sortie de celle-ci hors des spathes. Nous n'avons en effet jamais observé de croissance dans la partie émergée de la soie, quels que soient l'expérience et l'état hydrique des plantes. Il est vraisemblable qu'il s'agit d'un effet direct de l'exposition des soies à la demande évaporative. L'épiderme des soies ne comporte en effet ni d'épaississement cuticulaire, ni de stomates. La turgescence des soies, dont la capacité à l'ajustement osmotique est déjà faible dans les parties protégées par les spathes (Westgate et Boyer 1985), devient alors probablement inférieure à la turgescence seuil nécessaire à sa croissance (Lockhart 1965) en dehors des spathes.

Si le synchronisme entre l'ASI et la phase 3 identifiée dans cette étude est confirmé par des études ultérieures sur d'autres génotypes, et si l'arrêt de la croissance locale dans les parties apicales de la soie est effectivement lié à la sortie des soies, c'est à dire à une position dans l'espace qui dépend de la vitesse de croissance des soies, on pourra alors valider l'hypothèse selon laquelle l'ASI, critère de sélection largement utilisé par les améliorateurs du maïs, est directement lié à la vitesse de croissance des soies. Ceci serait cohérent avec une étude récente de Welcker et al. (2006) qui ont trouvé des déterminismes génétiques communs entre la vitesse de croissance foliaire et l'ASI (6 QTLs en commun) dans une population de lignées recombinantes de maïs tropicaux connue pour ségréger pour l'ASI.

Conséquences pratiques pour la suite de la thèse et du programme de l'équipe sur le développement reproducteur.

Les résultats présentés ici ont eu plusieurs conséquences pratiques pour la suite de la thèse.

- Une seconde hypothèse de la thèse, présentée au chapitre suivant, est que la réduction de vitesse de croissance des soies est largement liée à des processus hydrauliques. Une technique directe pour valider cette hypothèse aurait été de mesurer la turgescence des cellules en croissance, et les variations de cette turgescence avec le déficit hydrique et la demande climatique. Ce test était prévu dans la thèse, avec l'hypothèse de travail que les mesures de turgescence pourraient être effectuées dans la partie émergée des soies. Ceci n'aurait finalement pas eu de sens, puisqu'on aurait alors mesuré la turgescence d'un organe qui n'est plus en croissance. Des tests ont été opérés pour évaluer la faisabilité de la mesure de la turgescence des parties cachées des soies, comme cela a été fait pour les parties cachées des feuilles (Bouchabke et al. 2006). Ils ont été rapidement abandonnés, cette technique se révélant impraticable en raison de la fragilité des tissus de la soie.

- Les mesures de teneur en sucres réalisées au chapitre suivant ont été réalisées dans la partie cachée des soies à la fin de la phase 3 de leur développement (le jour de la sortie des premières soies). De même, les prélèvements de soies pour réaliser des analyses de transcrits (programme ANR - Génoplante Waterless) ont été réalisées dans la même zone et au même stade.

Chapitre 3 : Quantification de la vitesse d'allongement des soies en réponse aux variations environnementales : quelles similitudes avec la réponse de la croissance des feuilles ?

Avan Fuad Hassan, François Tardieu et Olivier Turc

. INTRODUCTION

Le décalage entre les floraisons male et femelle (ASI) est le symptôme le plus visible du déficit hydrique à la floraison du maïs. Il est lié génétiquement à la perte de rendement en déficit hydrique, puisque les géotypes présentant les ASI les plus élevés en déficit hydrique sont ceux qui maintiennent le moins bien le rendement (Bolaños et Edmeades 1996, Ribaut et al., 2004). L'ASI contribue donc à la sensibilité du maïs au déficit hydrique pendant la floraison (Claassen et Shaw, 1970; Zinselmeier et al., 1999). Des programmes de sélection ont été menés par plusieurs équipes pour réduire la sensibilité de l'ASI au déficit hydrique. Cette stratégie a été efficace dans un programme du CIMMYT où le rendement en déficit hydrique a augmenté de 3% par cycle, sur huit cycles de sélection (Bolaños et Edmeades, 1993).

L'allongement de l'ASI cause l'avortement des ovules (Herrero et Johnson 1981), sans que cela puisse être attribué directement à un défaut de fécondation des ovules, car l'addition manuelle de pollen frais sur les soies des plantes stressées à différents stades de la floraison ne rétablit pas la fécondation (Westgate et Boyer 1986a; Bassetti et Westgate 1993a ; Otegui *et al.*, 1995). Le manque de fécondation, liaison causale la plus intuitive entre sortie des soies et avortement, n'est donc pas la plus probable, même si des défauts de fécondation sont quand même vraisemblables dans le cas d'ASI particulièrement longs (jusqu'à une ou deux semaines).

- Une explication possible de l'avortement des ovules pourrait être que la vitesse de progression du tube pollinique à l'intérieur de la soie dépend de l'état hydrique de celle-ci. En effet, le nombre de tubes polliniques atteignant les ovules dépend de cette vitesse, puisque la durée pendant laquelle les soies sont réceptives au pollen est limitée à quelques jours, avant leur sénescence (Bassetti et Westgate 1993b,c). La liaison entre ASI et avortement ne serait alors pas causale : le déficit hydrique causerait à la fois une réduction de vitesse de croissance des soies et un avortement lié à la progression des tubes polliniques.

- Une autre explication fait intervenir le développement des ovules en déficit hydrique, qui détermine la fécondation. La croissance des soies serait d'autant plus rapide que l'ovule se développerait mieux. Elle serait alors un indicateur de la croissance des tissus de l'ensemble de l'ovule en déficit hydrique. L'évitement de l'avortement d'ovule serait alors directement lié à la croissance de ces tissus. Cette seconde explication est appuyée par les études citées plus haut, puisque des corrélations génétiques entre ASI et rendement ont été observées, ce qui serait difficilement explicable si la relation n'était pas causale. De plus, une étude récente (Welcker et al. 2006) montre que les régions du génome (QTLs) qui contrôlent l'ASI sont en bonne partie communes avec celles qui contrôlent la croissance foliaire dans une population de plantes de maïs en ségrégation pour l'ASI. Dans cette étude, les QTLs d'ASI en conditions irriguées co-localisaient en partie avec ceux de la vitesse maximale de croissance foliaire, ceux d'ASI en conditions sèches co-localisaient en partie avec les QTLs de maintien de la croissance foliaire en déficit hydrique. L'hypothèse a donc été proposée que l'ASI et la vitesse de croissance foliaire dépendraient tous deux de gènes contrôlant l'expansion des tissus des soies et des feuilles. Cependant, dans cette étude l'ASI était mesurée au champ sans caractérisation précise de la croissance des soies.

Le chapitre précédent appuie cette seconde hypothèse, qui met directement en relation la vitesse de croissance des soies et l'ASI. L'objectif de ce chapitre est donc d'évaluer précisément les effets des conditions environnementales (température, demande climatique et déficit hydrique du sol) sur la croissance des soies afin de poser les bases d'un modèle de croissance des soies. Cette étude a été réalisée par un suivi de l'allongement des soies pendant la courte période où celles-ci sont apparentes, afin de pouvoir réaliser des suivis continus de croissance en conditions environnementales variables. Une méthode spécifique de mesure *in situ* a été mise au point. Cette méthode est en effet plus performante et plus sûre qu'une série de suivis destructifs pour établir des courbes de réponses, car la résolution temporelle des mesures de croissance, quelques minutes, permet de relier ces mesures aux fluctuations des conditions environnementales intervenant au même pas de temps. Ceci suppose de vérifier que les réponses à l'environnement mesurées après l'émergence des soies sont également valables pour la phase précoce (avant l'émergence) durant laquelle se détermine l'ASI.

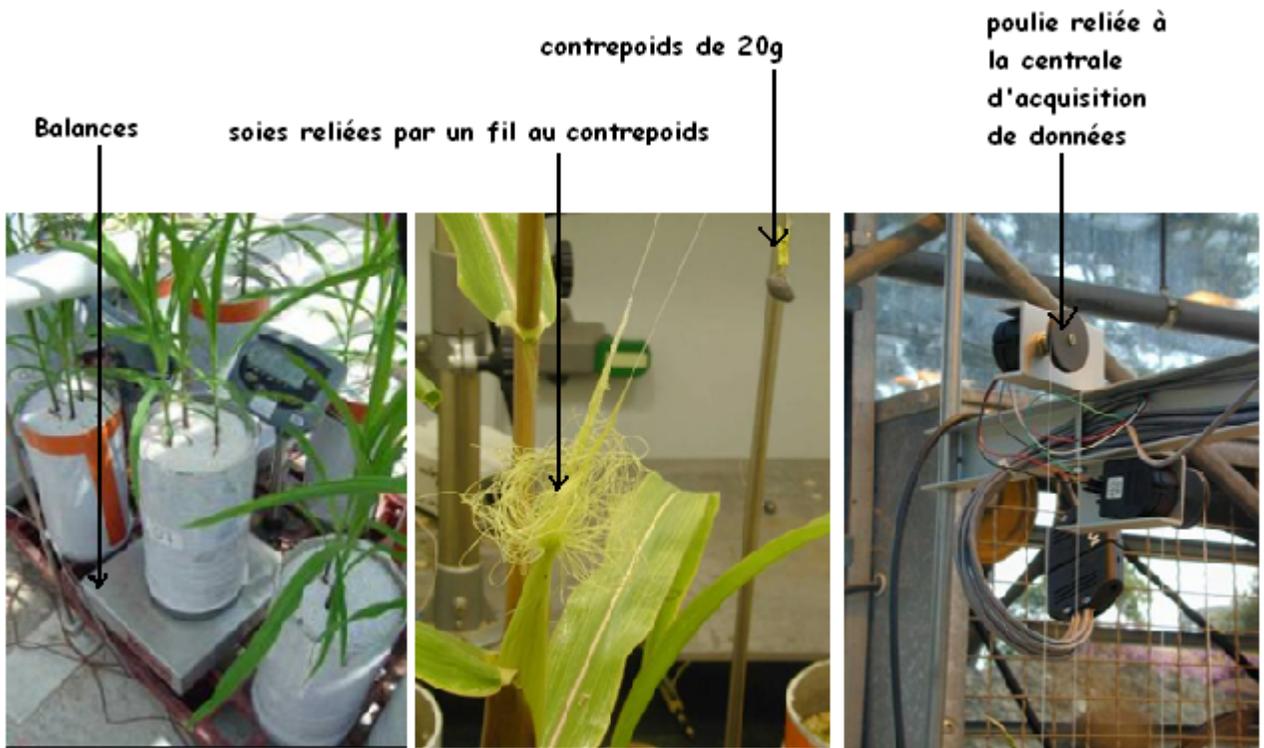


Figure 3.1: Dispositif d'enregistrement en continu de la croissance des organes:

Les organes sont attachés à un fil qui les relie à un contrepoids de 20g. Le fil passe dans une poulie, dont la rotation, enregistrée par un capteur de déplacement, va traduire l'élongation de l'organe mesuré. Une centrale d'acquisition de données enregistre la vitesse d'élongation des organes tous les quarts d'heures simultanément sur plus de 400 capteurs.

. MATERIELS ET METHODES:

Conditions de culture

Les plantes ont été transférées en chambre de culture juste avant l'apparition des premières soies hors des spathes. La régulation en température était asservie aux thermocouples placés à l'intérieur de l'épi. Sauf indication contraire dans le tableau 1.2, la température de l'épi a été maintenue à 22°C en phase diurne et à 20°C en phase nocturne pendant toute la durée des expérimentations. Dans l'expérimentation 2A3, la température nocturne a été stabilisée à 3 niveaux différents au cours d'une même nuit, par paliers de 4 h chacun. Chaque nuit, la température de l'épi a été ajustée à 18°C pendant 4 h, puis à une température d'étude (14, 22 ou 26°C) pendant 4 heures, et de nouveau à 18°C pendant 4 h.

L'humidité de l'air a été régulé de façon à maintenir un VPD épi-air inférieur à 0.8 MPa dans les expérimentations 2A1 à 2A9. Au cours des expérimentations 3A1 à 3A5, le VPD a été ajusté à des valeurs variant de 0.8 à 2.4 kPa, par paliers de 2 ou 3 jours avec un VPD stabilisé.

Cinq régimes d'alimentation hydriques ont été étudiés. Trois d'entre eux (plantes bien irriguées (T), plantes soumises à un déficit hydrique modéré (S1) ou sévère (S2) entre l'initiation et la fin de croissance des soies) ont déjà été décrits dans le chapitre 2. Le quatrième a consisté à arrêter l'irrigation juste avant la sortie des soies pour des plantes bien irriguées jusqu'à cette date (S_{tardif}). La forte transpiration des plantes à ce stade a permis d'atteindre en 2-3 jours des potentiels hydriques de -0.3 à -0.6 MPa, et de les maintenir pendant la période d'allongement des soies hors des spathes.

Le cinquième traitement (S-T) a consisté à ré-irriguer, juste avant l'émergence des soies, des plantes soumises à un déficit hydrique du sol depuis l'initiation des soies.

Mesure en continu de la vitesse d'allongement des soies

La vitesse de croissance des soies a été enregistrée automatiquement à l'aide de capteurs de déplacement identiques à ceux qui ont été utilisés pour le suivi de la croissance des feuilles du maïs au LEPSE (Fig 3.1). Ces capteurs sont munis d'une poulie dont la rotation induit un signal électrique proportionnel à l'angle de rotation. Un fil reliant l'extrémité d'un organe à un contrepoids passe sur la poulie. Sous l'effet de la croissance des tissus sous-jacents, l'extrémité de l'organe se déplace en faisant tourner la poulie, ce qui est transmis en signal électrique. Ce signal est enregistré toutes les 15 minutes par la centrale d'acquisition de données. Grâce à un

étalonnage préalable, le signal électrique, enregistré en mV, est converti en une vitesse de déplacement en mm par unité de temps.

Dès leur sortie du cornet des spathes, les soies ont été fixées à l'aide d'une colle physiologique (Telesis 5 Silicone Adhesive, Premiere Products Inc., Pacoima, CA, USA) sur un fil relié à un capteur rotatif de déplacement. La colle utilisée est usuellement destinée à un usage médical ou cosmétique en raison de son innocuité pour les cellules de l'épiderme. L'absence d'effet significatif de la colle et de la tension due au contrepois sur la vitesse d'allongement des soies a été vérifiée. Des soies d'un même épi, ayant émergé le même jour hors des spathes, ont été réparties en 3 lots : l'un a été fixé à un capteur de déplacement, l'autre a été seulement enduit de colle et le troisième a été laissé intact. L'allongement des soies n'a pas significativement varié entre les trois lots de soies. Par ailleurs, les vitesses d'extension mesurées par les capteurs de déplacement dans les 24 h suivant la sortie des soies étaient similaires, pour les 3 régimes d'alimentation hydrique, aux vitesses estimées à partir des prélèvements échelonnés de plantes (chapitre 2).

Le déplacement vertical de l'apex de la soie, enregistré par le capteur de déplacement, inclut, en plus de la croissance de la soie, l'allongement de tous les organes sous-jacents : les entre-nœuds situés sous la feuille de l'épi, l'axe de l'épi, où sont insérées les spathes, et la portion d'épi située sous le point d'insertion de la soie. Des capteurs de déplacement reliés à la gaine de la feuille de l'épi ont montré que la portion sous-jacente de la tige a achevé sa croissance avant l'émergence des soies. D'autre part, la croissance de l'axe de l'épi, estimée à partir des prélèvements de plantes, est comprise entre 0.1 et 0.2 mm h⁻¹, contribuant pour moins de 10 % au déplacement enregistré par le capteur dans les 2-3 jours suivant l'émergence de la soie (données non montrées). Cette contribution augmente ensuite nettement en raison de la diminution de la vitesse de croissance des soies (chapitre 2). Dans ce qui suit, la vitesse de déplacement enregistrée par les capteurs est désignée, par simplification, comme vitesse d'allongement des soies. Seules les données enregistrées dans les 72h suivant l'émergence des soies ont été prises en compte dans les courbes de réponse de la croissance des soies aux conditions environnementales.

Teneur en eau des soies

La teneur en eau des soies a été mesurée au cours de l'expérimentation 3A3 et 3A4. Les prélèvements et dissections d'épi ont été effectués à l'intérieur de la chambre de culture, en 1 à 2 mn, en séparant la portion émergée des soies, prélevée avant de disséquer l'épi, de la portion

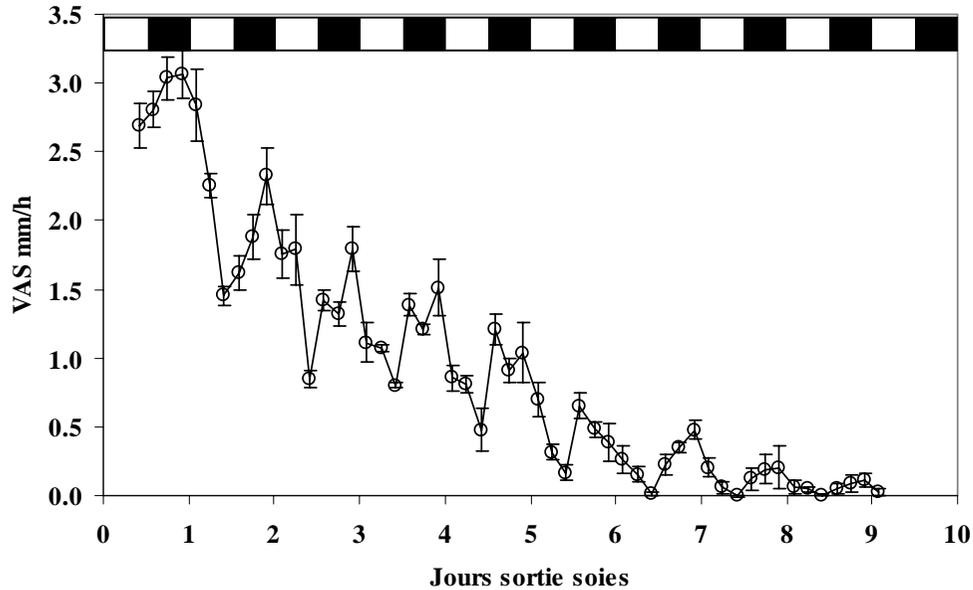


Figure 3.2: Cinétique de la vitesse d’allongement des soies, exprimée en mm h^{-1} , en l’absence de déficit hydrique édaphique, à une température de 26°C . Chaque valeur représente la vitesse moyenne sur une période de 4 heures pour 6 plantes. Les traits verticaux correspondent aux intervalles de confiance à 0.05. Les barres horizontales au dessus du graphes indiquent les périodes d’éclairage (en blanc) et d’obscurité (en noir) dans la chambre de culture. Le temps est exprimé en jours à partir de l’émergence des premières soies.

enclose dans les spathes. Les échantillons ont été immédiatement enfermés dans des tubes Eppendorf préalablement tarés. Après pesée, le tube a été ouvert et mis à l'étuve à 60°C pendant 72 h, puis pesé à nouveau. La teneur en eau a été rapportée au poids de matière fraîche.

Teneur en sucres solubles

Dans la série d'expériences 3A4 à 3A9, des échantillons ont été prélevés dans les 3 traitements expérimentaux au cours de la période de croissance rapide des soies afin de doser la teneur en sucres solubles dans les différents organes portés par l'axe de l'épi (spathes, rachis, pédoncule et soies) et dans la feuille engainant l'épi. Après dissection rapide de l'épi (moins de 2 mn), les échantillons ont été congelés puis stockés à -20°C. Ils ont ensuite été lyophilisés puis broyés. L'extraction des sucres solubles a été réalisée en 3 étapes : deux extractions consécutives dans l'éthanol 80%, suivie d'une dans l'eau distillée, pendant 15 minutes et à 95°C dans chaque cas. Les trois extraits obtenus ont été cumulés et le dosage des sucres solubles a été réalisé selon la méthode colorimétrique de Dubois et al. (1956), à l'aide d'un colorimètre (Colorimeter 257, CIBA Corning Diagnostics, Halstead Essex, England). La densité optique a été lue après avoir coloré l'extrait final par un mélange phénol/acide sulfurique.

La teneur en sucres solubles a été déduite à partir d'une gamme étalon de glucose (0 à 15 µg/µl). Elle a été rapportée à la biomasse de chaque organe par pesée après passage à l'étuve (70 °C pendant 3 jours).

. RESULTATS

Cinétiques de vitesse d'allongement des soies en absence de déficit hydrique :

La cinétique de vitesse d'allongement des soies a présenté dans tous les cas une tendance générale à la décroissance pendant 7 jours après l'apparition des premières soies hors des spathes (Fig. 3.2) . Au-delà de 8 jours, on n'a plus détecté de croissance des soies ; la croissance résiduelle ($< 0.2 \text{ mm h}^{-1}$) enregistrée par les capteurs de déplacement correspond à l'allongement de l'épi et de son axe. Ce ralentissement au cours du temps est cohérent avec les cinétiques de croissance individuelle des soies présentées au chapitre 2, qui indiquent que l'émergence de la soie hors des spathes coïncide avec le point d'inflexion des courbes de croissance.

Une alternance jour – nuit a été observée dans toutes les cinétiques étudiées. Dans l'exemple présenté à la Fig. 3.2, la vitesse nocturne était toujours supérieure à la vitesse diurne. La différence, de l'ordre de 1.5 mm h^{-1} chaque jour durant les 4 premiers jours, a été observée même lorsque la croissance était devenue faible, en fin de période de croissance.

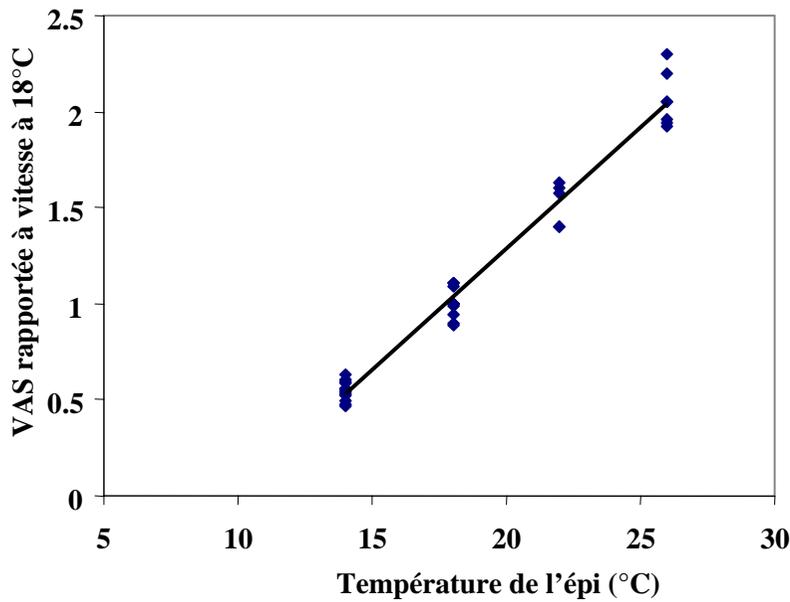


Figure 3.3a: Vitesse d'allongement des soies en fonction de la température de l'épi. Chaque nuit, les plantes ont été soumises à 3 paliers de température de 4 heures : 18 °C, puis l'une des températures d'étude (14, 18, 22 ou 26°C), puis à nouveau 18°C. Chaque point correspond au rapport entre la vitesse moyenne pour une plante pendant 4 heures en milieu de phase obscure et la vitesse moyenne mesurée la même nuit sur la même plante pendant les périodes à 18 °C. Seules les mesures effectuées entre 0 et 72h après l'émergence des premières soies ont été prises en compte.

$$\text{VAS} = 0.126 T_{\text{épi}} - 1.23 ; r^2 = 0.976$$

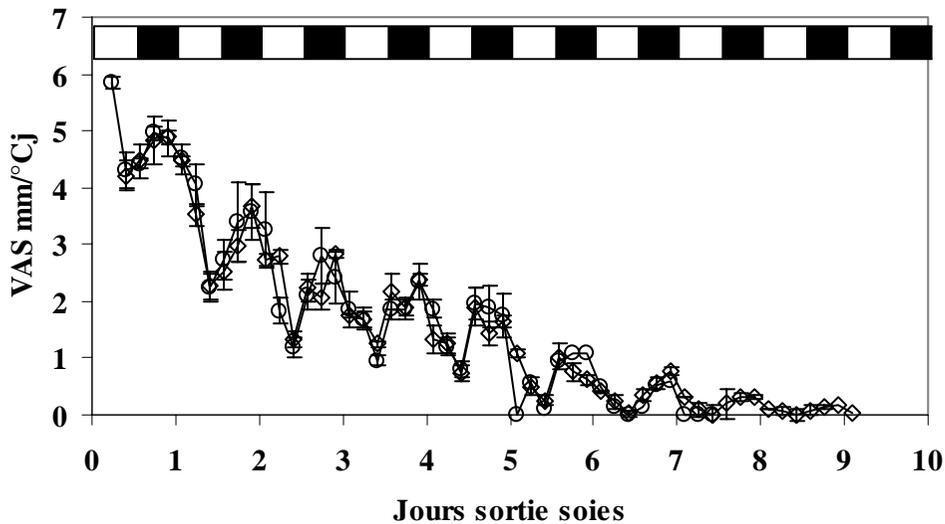


Figure 3.3b : Cinétiques de la vitesse d'allongement des soies, exprimée par unité de temps thermique ($\text{mm} \cdot \text{°C}^{-1} \cdot \text{j}$), en l'absence de déficit hydrique édaphique, dans 2 expérimentations avec des températures d'épi de 22°C (Δ) ou 26°C (o). Chaque valeur représente la vitesse moyenne sur une période de 4 heures pour 6 plantes. Les traits verticaux correspondent aux intervalles de confiance à 0.05. Les barres horizontales au dessus du graphes indiquent les périodes d'éclaircissement (en blanc) et d'obscurité (en noir) dans la chambre de culture. Le temps est exprimé en jours à partir de l'émergence des premières soies.

Une réponse linéaire à la température de l'épi

Nous avons dû mettre au point un protocole particulier pour évaluer l'effet de la température de l'épi sur la croissance des soies, en raison de l'alternance jour - nuit et de la décroissance de la vitesse nocturne au cours du temps. Les plantes ont été soumises à des alternances de température d'épi au cours d'une même nuit, au cours des 2 nuits suivant l'émergence des soies de chaque plante analysée. Chaque nuit, la température de l'épi a été ajustée à 18°C pendant 4 h, puis à une température d'étude (14, 22 ou 26°C) pendant 4 heures, et de nouveau à 18°C pendant 4 h. La température de l'épi, mesurée par des thermocouples, contrôlait directement la chambre de culture et a donc pu être stabilisée au cours de chaque période. Toutes les vitesses ont été normalisées par la vitesse moyenne à 18°C mesurée pendant la même nuit, et exprimées en proportion de cette vitesse standard. La vitesse ainsi normalisée a augmenté de façon linéaire avec la température (Fig. 3.3a). La température de base correspondant à l'ajustement linéaire obtenu avec nos données est égale à 9,8°C. Cette valeur est proche de la température de base observée pour la croissance foliaire du même génotype, qui a été estimée à 10°C par Sadok (2005). Ce résultat n'était pas attendu, puisque les processus gouvernant la croissance des soies peuvent différer notablement de ceux gouvernant la croissance des feuilles (Wesgate et Boyer 1985). Il renforce l'hypothèse proposée par Welcker et al. (2006), d'une communauté de mécanismes entre les vitesses de croissance des deux organes. Puisque la température de base est commune aux soies et aux feuilles, le calcul de temps thermique peut être commun pour ces deux organes. En particulier, le temps thermique utilisé au chapitre 2 avait 10°C pour température de base, conformément à la pratique courante pour le maïs (Keating et al. 2003 ; Lizaso et al. 2003). Il est intéressant de noter que cette température de base correspond donc aussi à celle de la croissance des soies.

Une vitesse d'allongement nocturne répétable entre expérience

Dans ce qui suit, toutes les vitesses d'allongement des soies sont exprimées par unité de temps thermique ($\text{mm } ^\circ\text{Cj}^{-1}$) avec une température de base de 10°C. Exprimées ainsi, les cinétiques d'allongement des soies, hors contrainte hydrique du sol et avec une faible demande climatique, ont été répétables entre expériences, indépendamment de la température (Fig. 3.3b). Bien que les températures aient été différentes entre les deux expériences (22 et 26°C), les vitesses exprimées par unité de temps thermique étaient très proches, alors que les vitesses par

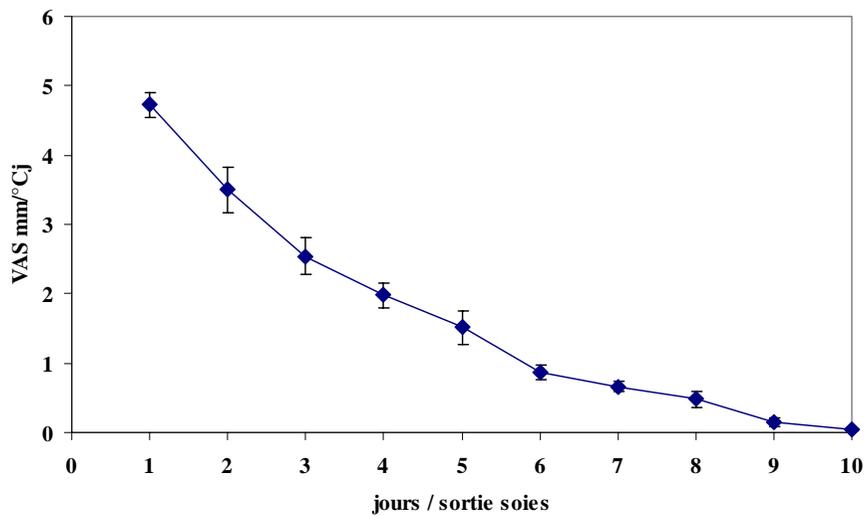


Figure 3.4 : Vitesse d’allongement des soies en absence de demande climatique (mesures nocturnes) en fonction du temps écoulé depuis la sortie des premières soies. L’ensemble des données obtenues pour les plantes bien irriguées dans les expérimentations avec une demande climatique faible (VPD diurne $< 0,6 \text{ kPa}$) a été utilisé dans ce calcul (20 plantes environ). Chaque point représente la vitesse moyenne sur l’ensemble de la période nocturne (12h). La valeur moyenne ainsi obtenue correspond à la vitesse de référence, pour la période de 24 h considérée, pour des plantes bien irriguées, en absence de demande climatique.

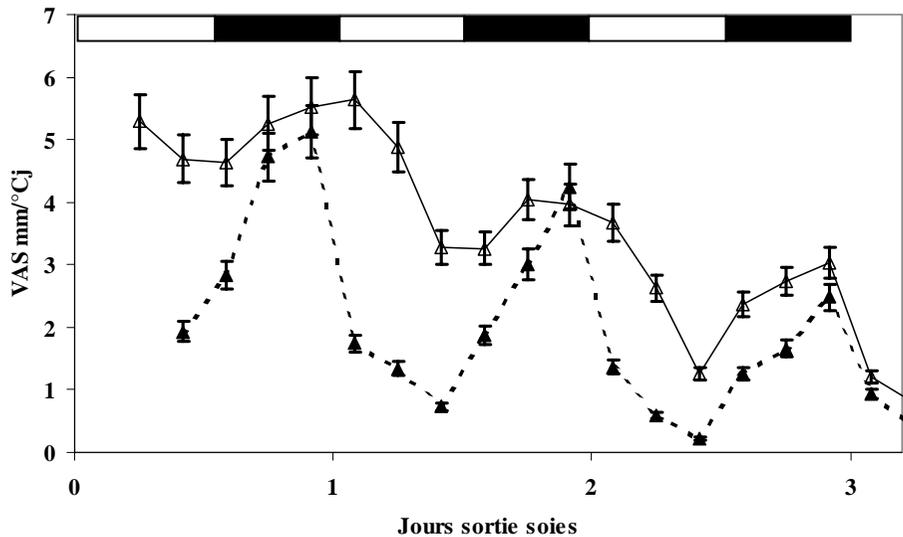


Figure 3.5 : Cinétique de la vitesse d’allongement des soies pour des plantes soumises à un VPD épi-air de 0.6 kPa (Δ) ou de 2.4 kPa (\blacklozenge). Chaque point représente la vitesse moyenne sur une période de 4 heures pour 4 à 6 plantes. Les traits verticaux correspondent aux intervalles de confiance à 0.05. Les barres horizontales au dessus du graphes indiquent les périodes d’éclairage (en blanc) et d’obscurité (en noir) dans la chambre de culture. Le temps est exprimé en jours à partir de l’émergence des premières soies.

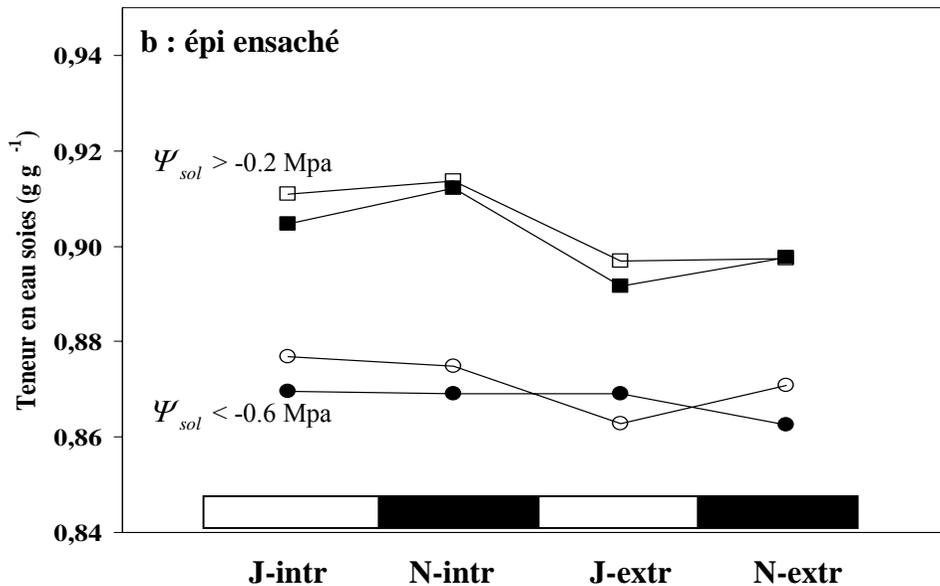
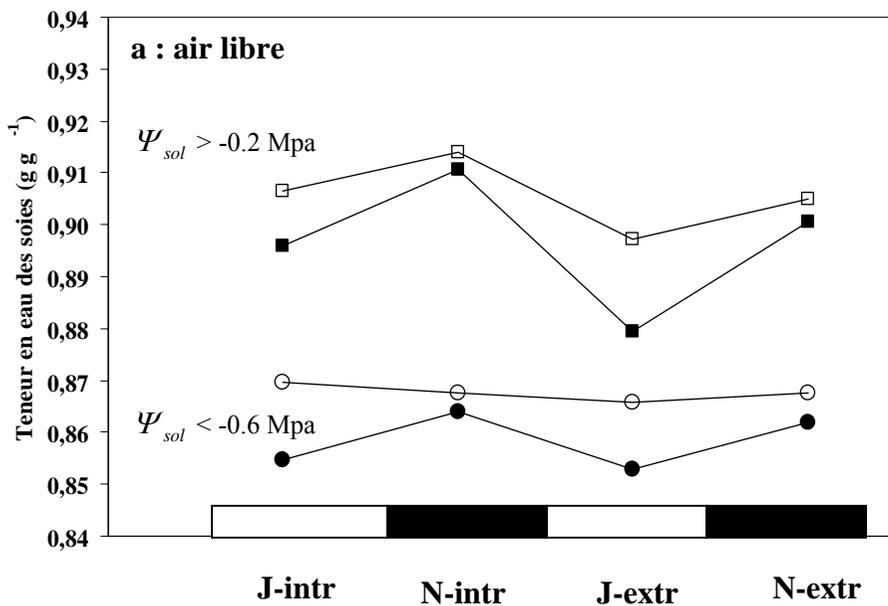


Figure 3.6 : Teneur en eau des soies dans différentes conditions de demande évaporative et de potentiel hydrique du sol. La teneur en eau a été mesurée en période diurne (J) et nocturne (N) sur la portion des soies contenue dans les spathes (intr) et sur la portion émergée (extr). Les épis ont été laissés à l'air libre (a) ou ensachés dans un film plastique pour soustraire les soies à l'effet direct de la demande évaporative (b). Les mesures ont concerné des plantes bien irriguées avec un $VPD_{\text{épi-air}}$ de 0.5 kPa (\square) ou de 2.4 kPa (\blacksquare) et des plantes soumises à un déficit hydrique édaphique sévère ($-0.8 < \Psi_{sol} < -0.6$ Mpa) et à $VPD_{\text{épi-air}}$ de 0.5 kPa (\circ) ou de 2.4 kPa (\bullet). Chaque point représente la moyenne de 2-3 plantes.

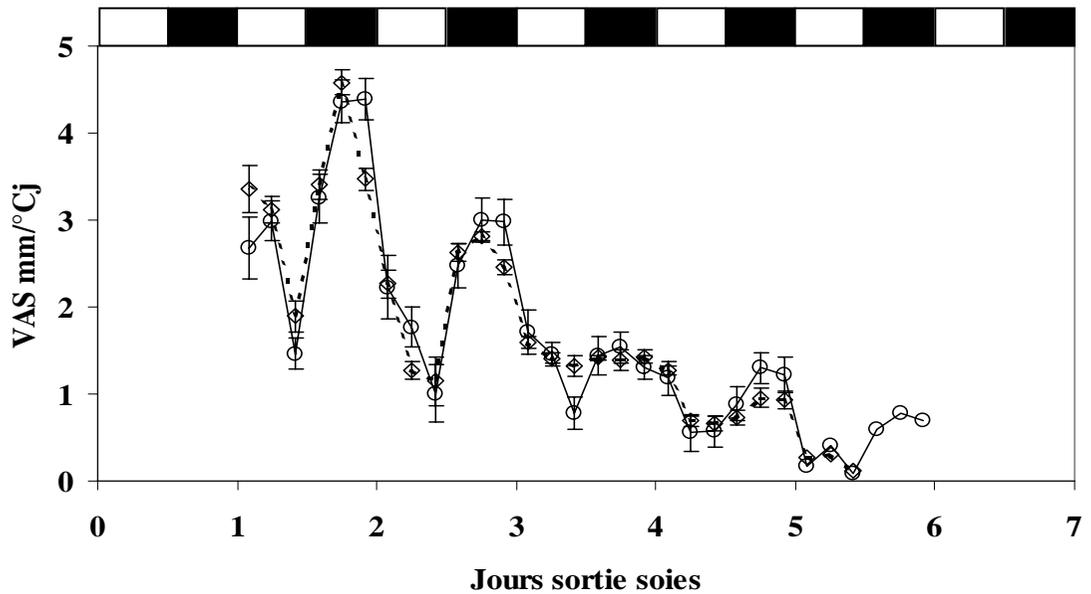


Figure 3.7 : Cinétique de la vitesse d'allongement des soies pour des plantes soumises à un $VPD_{\text{épi-air}}$ de 1.2 kPa, en l'absence de contrainte édaphique, lorsque les épis sont directement soumis à la demande évaporative (○, épis à l'air libre) ou non (◇, épis emballés dans un sac plastique). Chaque point représente la vitesse moyenne sur une période de 4 heures pour 4 à 6 plantes. Les traits verticaux correspondent aux intervalles de confiance à 0.05. Les barres horizontales au dessus du graphes indiquent les périodes d'éclairage (en blanc) et d'obscurité (en noir) dans la chambre de culture. Le temps est exprimé en jours à partir de l'émergence des premières soies.

unité de temps calendaires étaient plus élevées à 26 qu'à 22°C. Ce résultat est semblable à celui de Sadok et al. (2006) sur feuilles de maïs.

La nuit, en l'absence de demande climatique, les vitesses d'allongement des soies observées pour des plantes bien irriguées étaient assez stables entre expérimentations, et ne dépendent que du numéro de la nuit compté depuis l'émergence des soies hors des spathes (Fig. 3.4). Pour chaque numéro de nuit, la moyenne des vitesses nocturnes d'allongement des soies mesurées chez les plantes bien irriguées a constitué, dans la suite du travail, la vitesse de référence hors contrainte à laquelle ont été comparées les vitesses en présence de demande climatique, ou les vitesses en déficit hydrique.

Une réduction de la vitesse de croissance liée à la demande climatique

La diminution de la vitesse de croissance des soies observée pendant la phase diurne a varié avec la demande climatique. L'augmentation de la demande évaporative ($VPD_{\text{épi-air}}$ 2,4 kPa vs 0,6 kPa) a en effet fortement réduit la vitesse d'allongement des soies pendant la phase diurne (Fig. 3.5). La réduction de la vitesse d'allongement des soies s'est poursuivie au début de la nuit, et ce n'est qu'en fin de nuit que la croissance des soies des plantes soumises à une forte demande climatique a été totalement restaurée par rapport à des plantes croissant en demande climatique faible.

L'état hydrique des soies a été caractérisé par leur teneur en eau. Celle-ci a été mesurée le jour et la nuit, en demande climatique forte ou faible ($VPD_{\text{épi-air}}$ 2,4 kPa vs 0,6 kPa), sur la portion émergée des soies ou à l'intérieur des spathes, sur des épis à l'air libre ou ensachés dans un film plastique blanc (Fig. 3.6). Dans toutes les situations observées, la teneur en eau des soies était légèrement plus élevée à l'intérieur des spathes que dans la portion émergée en contact direct avec l'air ambiant. La teneur en eau des soies n'a été significativement affectée par la demande climatique que dans le cas d'une forte demande évaporative pendant la journée (2,4 kPa). L'ensachage de l'épi, qui a supprimé l'effet direct de la demande climatique sur les soies, a permis de rétablir partiellement la teneur en eau des soies des plantes soumises à un $VPD_{\text{épi-air}}$ de 2,4 kPa. Cependant, la croissance des soies a été affectée par la demande climatique même lorsque ces soies étaient ensachées (Fig. 3.7). L'effet dépressif d'une forte demande climatique persiste et n'était donc probablement pas lié à l'évaporation directe de la soie, mais à l'état hydrique de la plante via les connexions xylémiennes de la soie.

Afin d'établir une relation quantitative entre la vitesse d'allongement des soies et la demande climatique, nous avons dû prendre en compte la baisse tendancielle de la vitesse

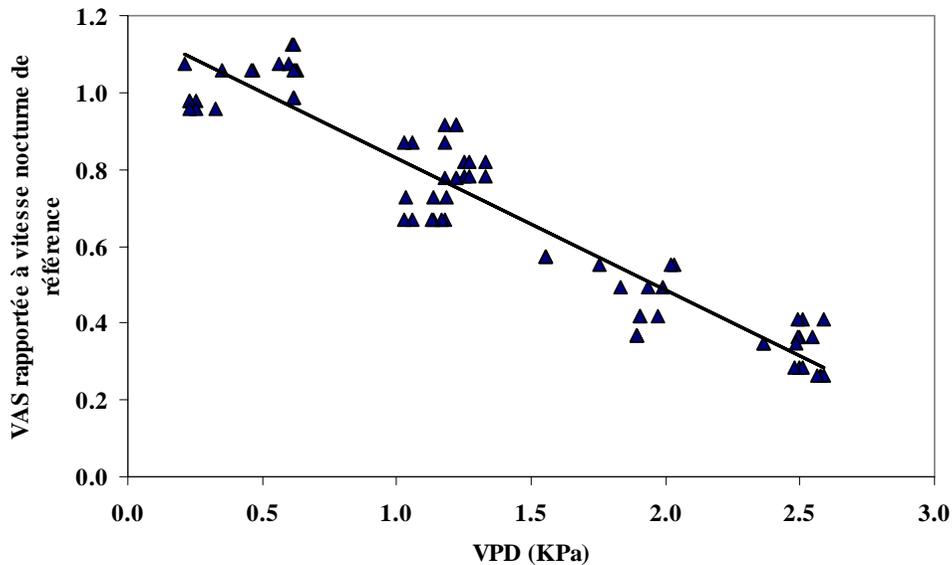


Figure 3.8 : Vitesse d’allongement des soies en fonction du $VPD_{\text{épi-air}}$. Chaque point représente le rapport entre la vitesse d’allongement des soies mesurée sur une plante en phase diurne (moyenne sur 12h) et la vitesse de référence pour le numéro de nuit correspondant (vitesse moyenne nocturne en absence de demande évaporative, calculée sur l’ensemble des expérimentations, cf Fig. 3). Ce rapport est mis en relation avec le $VPD_{\text{épi-air}}$ moyen pendant la période de 12h considérée. Seules les mesures effectuées entre 0 et 72h après l’émergence des premières soies ont été prises en compte.

$$VAS = 0.344 VPD_{\text{épi-air}} - 1.17 ; r^2 = 0.889$$

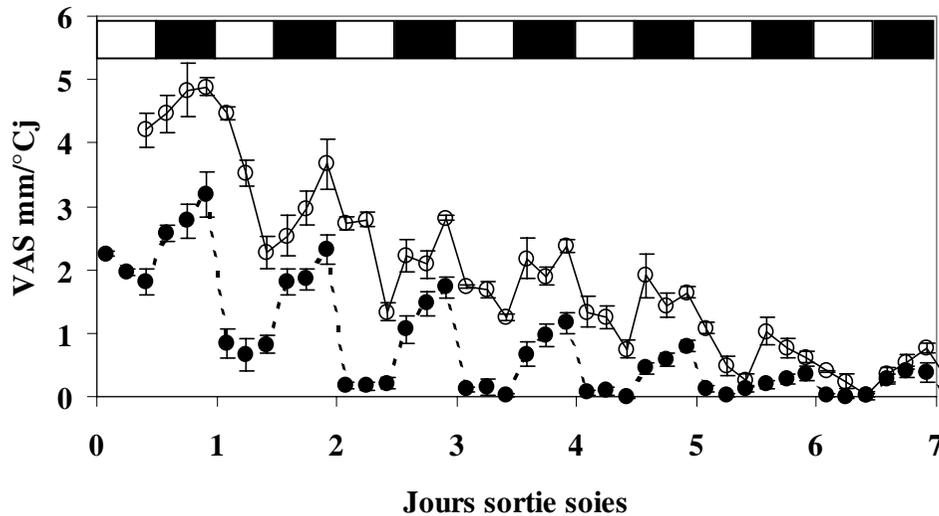


Figure 3.9 : Effet d'une contrainte hydrique édaphique sur la cinétique de vitesse d'allongement des soies. Pour les plantes bien irriguées (○), la teneur en eau du sol a été maintenue supérieure à 0.38 g g^{-1} par arrosage quotidien. Pour les plantes subissant une contrainte hydrique édaphique (●), l'irrigation a été stoppée environ 3 jours avant la sortie des soies. Elle a ensuite été maintenue entre 0.20 et 0.25 g g^{-1} . Chaque point représente la vitesse moyenne sur une période de 4 heures pour 4 à 6 plantes. Les traits verticaux correspondent aux intervalles de confiance à 0.05. Les barres horizontales au dessus du graphes indiquent les périodes d'éclairciment (en blanc) et d'obscurité (en noir) dans la chambre de culture. Le temps est exprimé en jours à partir de l'émergence des premières soies.

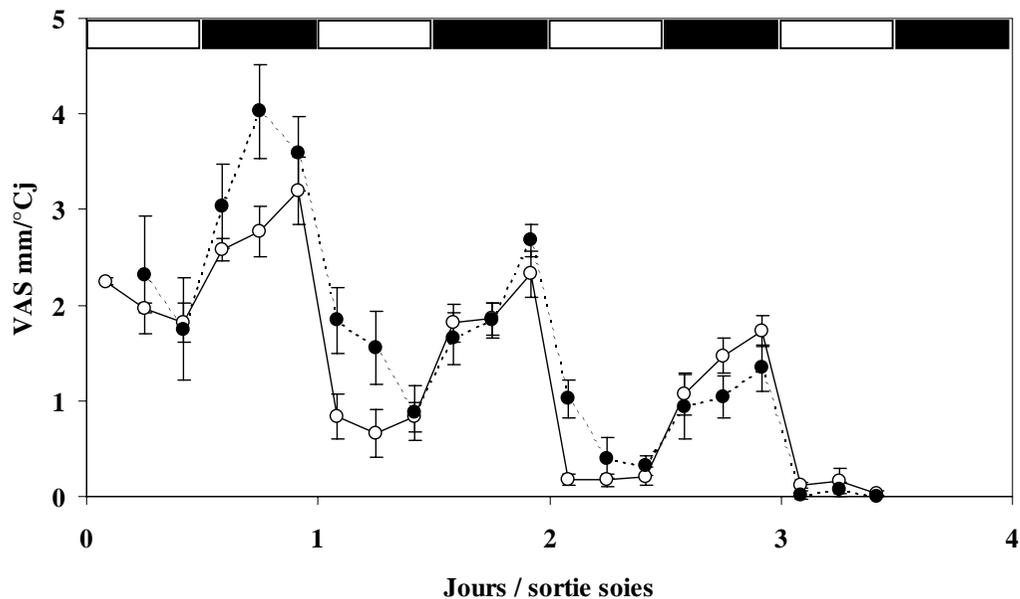


Figure 3.10 : Cinétique de la vitesse d'allongement des soies pour deux modalités de contrainte édaphique. Le déficit hydrique a été appliqué soit à l'initiation des soies (●), soit à l'apparition des premières soies hors des spathes(○). Dans les deux cas, la teneur en eau du sol a été maintenue entre 0.20 et 0.25 g g⁻¹ jusqu'à la fin de l'expérimentation. Chaque point représente la vitesse moyenne sur une période de 4 heures pour 4 à 6 plantes. Les traits verticaux correspondent aux intervalles de confiance à 0.05. Les barres horizontales au dessus du graphes indiquent les périodes d'éclaircissement (en blanc) et d'obscurité (en noir) dans la chambre de culture. Le temps est exprimé en jours à partir de l'émergence des premières soies.

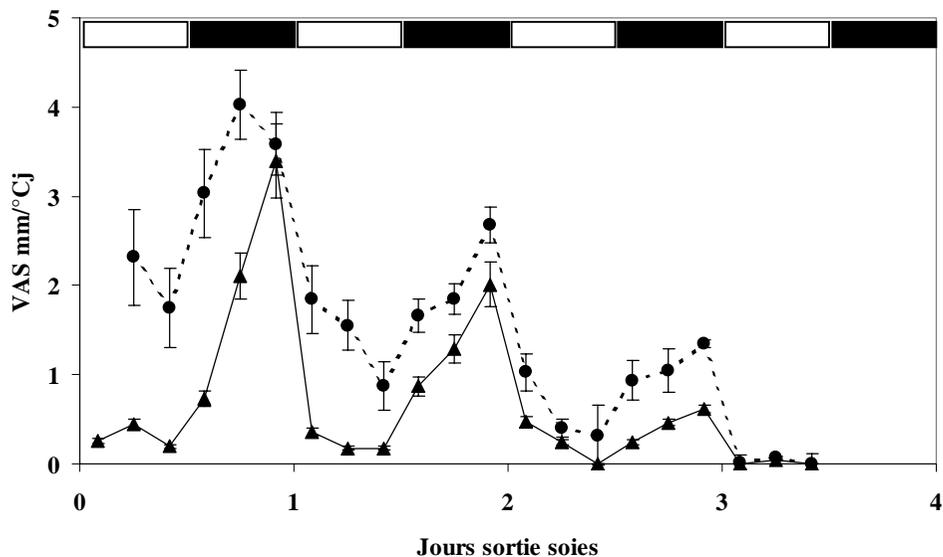


Figure 3.11 : Cinétique de la vitesse d'allongement des soies pour des plantes soumises à un même déficit hydrique édaphique et à un $VPD_{\text{épi-air}}$ de 0.6 (●) ou 2.4 kPa (♦). Chaque point représente la vitesse moyenne sur une période de 4 heures pour 4 à 6 plantes. Les traits verticaux correspondent aux intervalles de confiance à 0.05. Les barres horizontales au dessus du graphes indiquent les périodes d'éclaircissement (en blanc) et d'obscurité (en noir) dans la chambre de culture. Le temps est exprimé en jours à partir de l'émergence des premières soies.

d'élongation présentée à la Fig. 3.2. Pour chaque plante étudiée, on a considéré le rapport entre la vitesse diurne d'allongement des soies mesurée un jour donné et la vitesse nocturne moyenne correspondante, déterminée comme à la Fig. 3.4. Ce rapport a été mis en relation avec le $VPD_{\text{épi-air}}$ mesuré simultanément à l'élongation des soies (Fig. 3.8). On observe alors une relation linéaire entre cette vitesse normalisée et le $VPD_{\text{épi-air}}$. L'élongation s'est annulée pour une valeur de $VPD_{\text{épi-air}}$ de 3,4 kPa. Cette valeur est nettement plus faible que le $VPD_{\text{feuille-air}}$ causant l'arrêt de la croissance des feuilles chez le même génotype, estimé à 6.2 kPa par Sadok (2005). Ceci suggère que la croissance des soies est plus sensible à la demande climatique que celle des feuilles, de façon cohérente avec les résultats de Wesgate et Boyer (1985) qui ont observé un ajustement osmotique plus poussé chez les feuilles que chez les soies.

L'ensemble de ces résultats suggère que la limitation diurne de la croissance des soies résulte de processus hydrauliques plus liés à l'état hydrique des tissus conducteurs de la plante qu'à la demande climatique s'exerçant localement sur les soies.

Une réduction des vitesses nocturnes et diurnes en cas de déficit hydrique du sol

Un déficit hydrique édaphique réduit la vitesse d'allongement des soies à la fois pendant la période diurne et la période nocturne (Fig. 3.9). L'effet sur la croissance diurne est plus fort que sur la croissance nocturne, ce qui conduit à une alternance jour-nuit plus marquée en déficit hydrique que chez des plantes bien irriguées. Dans l'exemple présenté à la Fig. 3.9, la croissance diurne s'est annulée dès le 2^{ème} ou 3^{ème} jour, alors que la croissance nocturne a continué jusqu'à la 6^{ème} nuit. Le même type de réponse est observé pour les deux modalités de contraintes hydriques appliquées : soit un déficit hydrique précoce (Fig. 3.10), appliqué à partir de l'initiation des soies et maintenu constant jusqu'à la fin de la croissance des soies par des arrosages limités, soit un déficit hydrique tardif (Fig. 3.9), appliqué à la sortie des premières soies par arrêt de l'irrigation 3 jours avant ce stade.

L'effet du déficit hydrique a été plus marqué avec une demande climatique élevée qu'avec une demande faible ($VPD_{\text{épi-air}}$ 2,4 et 0,6 kPa, respectivement, Fig. 3.11). A 2.4 kPa, la croissance diurne s'est quasiment arrêtée dès le premier jour, et la croissance était également fortement affectée en début de nuit. Les effets du déficit hydrique édaphique et de la demande climatique se sont donc additionnés, comme dans le modèle de croissance foliaire proposé par Ben Haj Salah et Tardieu (1997).

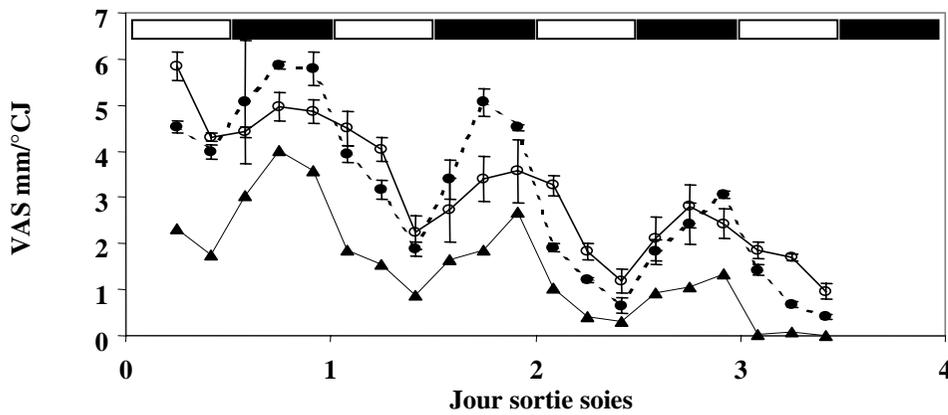


Figure 3.12 : Effet de la ré-irrigation sur la vitesse d’allongement des soies. Des plantes ayant subi un déficit hydrique édaphique modéré (Ψ_{sol} 0.3 - 0.5 Mpa) depuis l’initiation des soies ont été soit maintenues en déficit hydrique jusqu’à la fin de l’expérimentation (\blacklozenge), soit ré-irriguées à l’émergence des premières soies hors des spathes (\bullet) et maintenues ensuite à un état hydrique équivalent à celui des plantes bien irriguées pendant toute l’expérimentation (\circ). Chaque point représente la vitesse moyenne sur une période de 4 heures pour 4 à 6 plantes. Les traits verticaux correspondent aux intervalles de confiance à 0.05. Les barres horizontales au dessus du graphes indiquent les périodes d’éclairage (en blanc) et d’obscurité (en noir) dans la chambre de culture. Le temps est exprimé en jours à partir de l’émergence des premières soies.

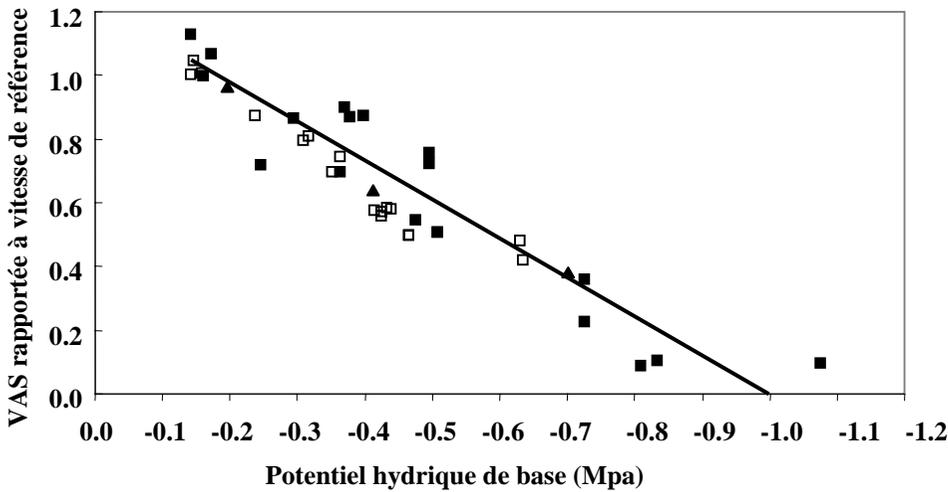


Figure 3.13 : Vitesse d’allongement des soies en phase nocturne en fonction du potentiel hydrique du sol. Chaque point représente le rapport entre la vitesse d’allongement des soies mesurée sur une plante en phase nocturne (moyenne sur 12h) et la vitesse de référence pour le numéro de nuit correspondant (vitesse moyenne nocturne pour des plantes bien irriguées, calculée sur l’ensemble des expérimentations, cf Fig. 3). Ce rapport est mis en relation avec le potentiel hydrique du sol (Ψ_{sol}) pendant la période de 12h considérée. Les plantes ont été soumises soit à un dessèchement progressif du sol à partir de la sortie des soies hors des spathes (\square), soit à un déficit hydrique établi depuis l’initiation des soies (\blacksquare). Seules les mesures effectuées entre 0 et 72h après l’émergence des premières soies ont été prises en compte. Les triangles (\blacktriangle) correspondent à la vitesse moyenne de croissance de la soie 5 calculée à la date d’émergence à partir des ajustements de la Fig. 2.3 pour les plantes bien irriguées (Ψ_{sol} -0.2 Mpa), soumises à un déficit hydrique modéré (Ψ_{sol} -0.4 Mpa) ou sévère (Ψ_{sol} -0.7 Mpa) depuis l’initiation des soies.

$$VAS = 1.22 \Psi_{sol} - 1.22 ; r^2 = 0.876$$

La teneur en eau des soies a été significativement diminuée chez les plantes subissant un déficit hydrique du sol (Fig. 3.6). Une demande climatique élevée a accentué cette diminution. L'ensachage de l'épi a annulé cet effet de la demande climatique, mais n'a pas permis d'atteindre les teneurs en eau observées chez les plantes bien irriguées.

Les soies de plantes en déficit hydrique depuis l'initiation des soies, mais ré-irriguées le jour de la sortie des soies, ont présenté une vitesse d'élongation équivalente, et parfois supérieure, à celle des plantes n'ayant subi aucune contrainte hydrique (Fig. 3.12). Cette absence d'arrière-effet de la contrainte hydrique indique que la réduction de croissance des soies est liée à l'état hydrique courant des plantes et non, par exemple, à une sénescence accélérée des soies. Ce résultat est, là encore, similaire à celui observé sur les feuilles (Welcker et al. 2006).

Afin d'établir une relation quantitative entre la vitesse d'allongement des soies et l'état hydrique du sol, nous avons suivi le rapport entre la vitesse nocturne d'allongement des soies mesurée une nuit donnée et la vitesse moyenne observée en l'absence de contrainte hydrique pour le même numéro de nuit (déterminée comme à la Fig. 3.4). Ce rapport a été mis en relation avec le potentiel hydrique de base estimé simultanément par pesée en continu des colonnes de sol (Fig. 3.13). On observe une décroissance linéaire de la vitesse normalisée avec le potentiel hydrique. La croissance des soies s'est annulée pour un potentiel hydrique de -1 MPa, proche de la valeur annulant la croissance foliaire chez le même génotype. Les points correspondant aux deux modalités de déficit hydrique ont présenté une relation commune. Dans un cas (déficit précoce), les plantes étaient en déficit hydrique stabilisé depuis 150 à 200 °Cj (15 à 20 jours), dans l'autre cas, le dessèchement du sol avait débuté depuis quelques jours seulement. Ceci indique qu'il n'y a pas d'effet cumulatif de la durée de la contrainte hydrique, et que la vitesse d'élongation des soies est directement liée à l'état hydrique de la plante à chaque instant. En outre, la vitesse de croissance des soies avant leur émergence, estimée à partir des prélèvements échelonnés entre l'initiation et la sortie des soies (ajustements de la figure 2.3), présente la même réponse au déficit hydrique (triangles sur la Fig. 3.13) que la vitesse instantanée enregistrée par les capteurs de déplacement pour les soies émergées. Ceci suggère que la courbe de réponse au déficit hydrique obtenue sur des soies émergées est également valide pour la période initiation – émergence des soies, durant laquelle se détermine l'ASI.

La diminution de croissance des soies induite par le déficit hydrique du sol ne semble pas liée à un défaut d'approvisionnement des organes en assimilats carbonés. En effet, la teneur en

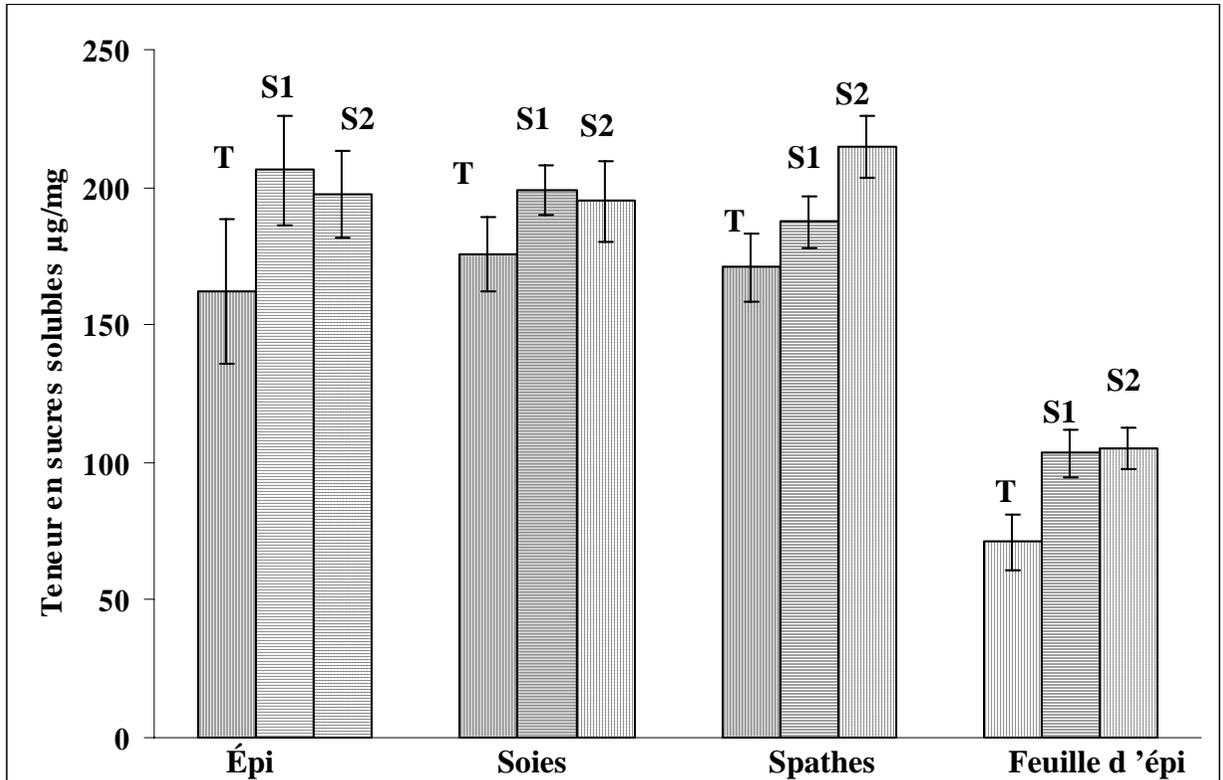


Figure 3.14 : Teneur en sucres solubles dans l'épi, les soies, les spathes et la feuille de l'épi de plantes de maïs bien irriguées (T), soumises à une contrainte hydrique édaphique modérée (S1, Ψ_{sol} 0.3 - 0.5 MPa), ou sévère (S2, Ψ_{sol} 0.6 - 0.8 MPa). Les échantillons ont été récoltés en fin de phase obscure entre 0 et 3 jours après l'apparition des premières soies hors des spathes. Chaque valeur correspond à la moyenne de 8 à 10 plantes. Les traits verticaux correspondent aux intervalles de confiance à 0.05.

sucres solubles mesurée en fin de nuit dans les différents organes de l'épi, et notamment dans les soies, n'est pas affectée, voire même un peu augmentée chez les plantes en déficit hydrique (Fig. 3.14). Le même résultat a été observé chez tous les organes étudiés appartenant à l'épi, et également chez les feuilles. L'hypothèse d'un contrôle hydraulique de la croissance des soies semble donc renforcée.

. DISCUSSION - CONCLUSION

Mise au point d'une méthode de mesure in situ pour analyser la réponse de l'allongement des soies aux variations des conditions environnementales

La méthode in situ présentée dans ce chapitre pour suivre l'élongation des soies a permis d'étudier les effets de la température, de la demande climatique et de l'état hydrique du sol. Comme dans le cas des feuilles, elle présente l'inconvénient d'exercer une tension sur les soies qui étaient continuellement reliées à un poids de 20 g. Il était envisageable que la vitesse d'élongation ait été accélérée par cette tension, comme cela a été observée sur d'autres organes d'autres espèces (Cramer et Bowman 1991 ; Walter et al. 2002). Ceci n'a pas été le cas lors de comparaisons directes entre des soies sous tension ou sans tension ; s'il existe, l'effet de la tension était donc peu important. En outre, toutes les vitesses présentées dans ce chapitre étaient rapportées à une vitesse attendue, soit la vitesse à 18°C pour l'étude des effets de la température, soit la vitesse nocturne en l'absence de contrainte pour les effets de la demande climatique et du déficit hydrique du sol, ce qui permettait d'éliminer un éventuel artefact lié au dispositif de mesure.

Les courbes de réponse au déficit hydrique obtenues via cette méthode sur des soies émergées semblent également valables pour caractériser la réponse des soies aux stades plus précoces, durant lesquels se détermine l'ASI, puisqu'elles étaient communes aux vitesses de croissance observées en continu dans ce chapitre et à celles issues de prélèvements destructifs avant la sortie des soies, présentées dans le chapitre 2 (Fig. 3.13).

Les réponses de la vitesse d'allongement des soies aux conditions environnementales présentent de fortes similitudes avec la réponse de la croissance foliaire :

Un premier résultat inattendu est la communauté de réponse à la température chez les feuilles et les soies. Ces réponses ont été obtenues avec des méthodes différentes, soit vitesse absolue pour les feuilles (Ben Haj Salah et Tardieu 1995), soit vitesse normalisée ici. Malgré cette différence de méthode, les deux réponses étaient linéaires et présentaient toutes deux des abscisses à l'origine proches de 10°C. Ceci ouvre la voie à l'étude de communautés de mécanismes chez les deux organes.

La réduction de la vitesse d'allongement des soies en réponse à l'augmentation du $VPD_{\text{épi-air}}$ a également été observée sur les feuilles de maïs, dans différentes conditions expérimentales (Ben Haj Salah et Tardieu 1996, 1997 ; Reymond et al., 2003). Hsiao et al. (1998) attribuent cet effet de la demande évaporative à la baisse de potentiel hydrique dans le xylème, de façon cohérente avec les résultats présentés ici sur les effets de l'ensachage des soies. La réponse à la demande évaporative est donc probablement liée à la capacité des soies et les feuilles de maïs de s'allonger en présence d'un flux hydrique.

Une grande similitude peut être observée entre les réactions des soies et des feuilles à la demande climatique et au déficit hydrique du sol. (i) On observe, dans les deux cas, des alternances jour - nuit qui peuvent être attribuées à la demande climatique. (ii) Les effets de la demande climatique et du déficit hydrique s'additionnent. Ceci a été établi d'une manière quantitative pour les feuilles (Reymond et al. 2003), et seulement qualitative dans l'étude présentée ici, faute de données en quantité suffisante. (iii) Les relations entre vitesse d'élongation d'une part, et demande climatique ou état hydrique du sol d'autre part, étaient linéaires dans tous les cas. On peut cependant observer une différence de réponse à la demande climatique, apparemment plus sensible chez les soies que chez les feuilles en cohérence avec les résultats de Wesgate et Boyer (1985), alors que cette différence n'a pas été observée pour les réponses au déficit hydrique du sol. Ces derniers résultats doivent cependant être interprétés avec prudence étant données les procédures de normalisation des vitesses d'élongation des soies, rendues nécessaires par la baisse tendancielle de celles-ci. Les valeurs des sensibilités, déjà difficile à établir pour les feuilles avec des vitesses absolues, sont donc ici entachées d'erreurs que nous n'avons pas pu évaluer précisément.

Les résultats obtenus vont dans le sens d'un rôle majeur des processus hydrauliques dans le contrôle de l'allongement des soies sous déficit hydrique et semblent écarter l'implication de la disponibilité en assimilats carbonés :

L'ensemble des résultats présentés ici suggère un rôle important des processus hydrauliques sur la réduction de croissance des soies, et ne sont pas en faveur d'une limitation trophique liée au déficit hydrique.

- Lors d'une contrainte hydrique édaphique, le potentiel hydrique des soies et celui des feuilles diminuent de façon synchrone, contrairement à celui du pollen qui reste stable (Westgate et Boyer 1986b).

- L'alternance jour nuit de la vitesse d'élongation, avec des vitesses supérieures la nuit, ne serait pas attendue si la limitation était trophique. De plus, la vitesse d'élongation a mis chaque nuit plusieurs heures à atteindre les vitesses maximales, en cohérence avec la remontée progressive du potentiel hydrique des organes.

- Les teneurs en sucre solubles étaient plus élevées en déficit hydrique qu'en conditions irriguées, comme cela a déjà été observé chez les feuilles (Kim et al , 2000). Ces derniers auteurs montrent qu'une invertase pariétale (IVR2) est induite en situation de déficit hydrique, en clivant le saccharose en hexoses (glucose et fructose) qui rentrent dans les métabolismes des carbohydrates. Le métabolisme carboné semble donc bien protégé en déficit hydrique. L'augmentation des teneurs en sucre pourrait être expliquée par un plus fort effet du déficit hydrique sur l'expansion que sur la photosynthèse (Tardieu et al. 1999).

Les résultats ci dessus semblent donc partiellement contradictoires avec ceux d'autres auteurs qui mettent en avant le métabolisme carboné pour expliquer l'avortement des ovules en déficit hydrique (Schussler et Westgate, 1991ab, McLaughlin et Boyer, 2004). Cependant, les déficits hydriques appliqués par ces auteurs étaient plus sévères que dans notre étude ($\Psi_{sol} -1.5$ MPa, contre -0.4 à -0.7 MPa dans notre étude). Ceci a provoqué un arrêt de la photosynthèse dans les études citées, alors que la photosynthèse du génotype considéré est encore élevée à -0.5 MPa (Welcker, communication personnelle). Il n'est donc pas étonnant que les ovules soient fortement dépendants du métabolisme carboné (effet positif d'une perfusion de saccharose) dans des conditions où leur approvisionnement en assimilats est bloqué. La période d'application des déficits, plus tardive dans les études citées (3 à 5 jours après l'émergence des soies) que dans la nôtre, pourrait également expliquer la divergence des résultats. En effet, les besoins en carbone des ovules, appréciés par l'activité invertase dans les ovules des plantes bien irriguées, sont

faibles jusqu'à l'émergence des soies (pendant notre période d'étude), et augmentent fortement dans les jours qui suivent (McLaughlin et Boyer, 2004).

Chapitre 4 : Analyse de la croissance des soies et des feuilles chez des lignées de maïs (*Zea mays*) contrastées pour le maintien du développement reproducteur en situation de déficit hydrique.

Marie Bouteillé, Avan Fuad Hassan, François Tardieu, Claude Welcker et Olivier Turc

Ce chapitre reprend le rapport du stage de Mastère 1 de Marie Bouteillé effectué au LEPSE en 2006 et partiellement encadré par Avan Fuad. Les données concernant la caractérisation de la croissance foliaire des lignées ont été acquises en 2004 et 2005 dans le cadre du programme de recherche de Claude Welcker.

RESUME

L'objectif de ce chapitre est de caractériser la réponse de la croissance des feuilles et des soies chez des lignées de maïs sélectionnées pour leur comportement contrasté pour le maintien du développement reproducteur en situation de déficit hydrique. L'hypothèse testée est qu'il existe un déterminisme commun pour le maintien de ces 3 processus face au déficit hydrique. La vitesse de croissance des organes a été étudiée sur un dispositif de phénotypage qui permet un enregistrement automatique de l'élongation des organes et des conditions environnementales. L'effet de la température sur la vitesse d'élongation a été analysé en conditions hydriques non limitantes, puis intégré dans une analyse de la réponse au déficit hydrique, caractérisé par le potentiel hydrique du sol.

Nos expérimentations ont confirmé le comportement des lignées observé au champ sur le retard de la floraison femelle en situation de déficit hydrique. Les cinétiques de croissance des feuilles et des soies présentent de fortes similitudes pour l'effet de la température, celui de la demande évaporative et pour la réponse à une diminution du potentiel hydrique du sol. Les lignées qui maintiennent leur croissance foliaire à des potentiels hydriques bas maintiennent également la croissance de leurs soies. Globalement, le comportement des 7 lignées étudiées en situation de déficit hydrique suit la même tendance pour les trois critères étudiés (élongation de la feuille 6, des soies et maintien du développement reproducteur). En première analyse, nos résultats viennent conforter l'hypothèse d'un déterminisme commun du contrôle des processus d'expansion des tissus dans les deux organes en réponse au dessèchement du sol.

ABSTRACT

The objective of this work was to characterise leaf and silk growth in maize inbred lines selected for their contrasted ability to maintain reproductive development under drought stress. We aimed to test the hypothesis of a common determinism in the maintenance in soil water limited conditions of the 3 processes, namely leaf elongation, silk elongation, and flowering synchrony. The rate of elongation of both leaves and silks was studied using a set-up allowing to automatically record elongation rates and environmental conditions. The response of elongation rate to temperature was analysed on well-irrigated plants, and then integrated in an analysis on drought stress plants.

Our experiments confirmed field data on the behaviour of inbred lines in terms of silking delay when soil water availability decreased. Time courses of leaf and silk elongation rates shared strong similarities for the effects of temperature and evaporative demand, and for their response to decreasing soil water potential. The same inbred lines maintained both leaf and silk elongation rates at low soil water potential. The ranking of the 7 studied inbred lines was roughly the same for the maintenance of the 3 processes in drought stressed plants. This first analysis strengthens the hypothesis of a common determinism of expansion processes in silks and leaves.

lignées parentales	P1	tolérant , ASI court maintenu quand stress hydrique
	P2	sensible, ASI long
lignées recombinantes	151	tolérant , ASI court maintenu quand stress hydrique
	86	sensible, ASI long
	129	tolérant , ASI court maintenu quand stress hydrique
	95	sensible, ASI long
lignée	CML 444	tolérant , ASI court maintenu quand stress hydrique

Tableau 4.1 : Lignées de maïs tropical sélectionnées au CIMMYT pour leurs réponses contrastées au déficit hydrique, en ce qui concerne l'ASI (Anthesis-Silking Interval).

Une lignée est dite tolérante au déficit hydrique si une courte durée de l'ASI est maintenue malgré un stress hydrique appliqué pendant la période de floraison. A l'inverse, une lignée est qualifiée de sensible au déficit hydrique si un ASI court n'est pas maintenu.

. INTRODUCTION :

De nombreux travaux de modélisation de la tolérance à la sécheresse ont été menés sur le maïs (*Zea mays* L.), en combinant des approches écophysiologicals (Ben Haj Salah et Tardieu, 1995) et génétiques (Reymond *et al.* 2003). Ils ont conduit à l'élaboration d'un modèle d'analyse de la variabilité de la réponse de la croissance foliaire du maïs au stress hydrique et à la température. Les cultures de maïs sont très sensibles au déficit hydrique, dans la phase végétative, mais aussi au cours du développement reproducteur. Si le stress intervient pendant la pollinisation, la perte de rendement en biomasse peut aller jusqu'à 50% (Claassen et Shaw, 1970). Une réduction du rendement atteignant 90% a été observée par NeSmith et Ritchie (1992) quand leurs plantes ont été stressées dans une période commençant juste avant l'émergence de la panicule et allant jusqu'au début du remplissage des grains. Des études plus récentes montrent que la sensibilité de cette période dépend du génotype ; pour les génotypes actuels, la période de floraison est moins sensible que pour les génotypes anciens, mais c'est maintenant la période qui précède la floraison qui est la plus sensible au stress hydrique (Bruce *et al.*, 2002).

Le maïs est une plante monoïque dicline : elle porte des fleurs mâles et des fleurs femelles, mais celles-ci sont regroupées sur des inflorescences distinctes : la panicule, mâle, est une inflorescence terminale, et chaque épi, femelle, est enfermé dans des bractées, les spathes, à l'aisselle d'une feuille. La rencontre de l'ovule et du grain de pollen nécessite l'allongement considérable (supérieur à 10cm) des styles, ou soies, afin que les stigmates soient exposés au pollen, véhiculé par le vent (pollinisation anémophile). La floraison est le plus souvent protandre : l'anthèse mâle précède de quelques jours la sortie des soies, mais il faut qu'il y ait synchronisme des floraisons mâles et femelles pour que la fécondation puisse avoir lieu. L'intervalle de temps qui sépare l'anthèse de la sortie des soies doit donc être le plus court possible pour que cette fécondation soit réussie. Cet intervalle est appelé ASI (anthesis-silking interval). Quand la plante est en situation de stress au moment de la floraison, on observe un allongement de l'ASI (asynchronie), lié à une sortie plus tardive des soies hors de la gaine des spathes, car la date d'anthèse varie très peu (Dow *et al.*, 1984 ; Bolaños et Edmeades, 1993b).

Les travaux de sélection du CIMMYT (Centro Internacional de Mejoramiento de Maiz Y Trigo, Mexico) ont montré que c'est la capacité de la plante à maintenir un ASI court en période de stress (hydrique notamment) qui détermine la tolérance à ce stress : le rendement en situation de déficit hydrique est fortement corrélé, négativement, à l'ASI (Bruce *et al.*, 2002). Ceci a

conduit à une série de travaux au CIMMYT et au LEPSE pour comprendre les déterminants écophysologiques et génétiques de l'ASI par des approches de modélisation. Des études ont été menées sur une même population de lignées recombinantes de maïs tropical issues du croisement P1xP2, deux lignées parentales développées au CIMMYT dérivées du matériel « Tuxpeño sequia », et qui sont contrastées pour la tolérance à la sécheresse : P1 maintient un ASI court, alors que P2 présente un ASI long en situation de déficit hydrique.

L'objectif premier de ce chapitre est de caractériser la réponse de la croissance des feuilles et des soies chez des lignées sélectionnées pour leur comportement contrasté (en terme d'ASI et de croissance foliaire) en situation de déficit hydrique pour répondre aux questions suivantes : Le maintien de la croissance foliaire, de la croissance des soies et de l'ASI en situation de déficit hydrique sont-ils liés ? Quelles hypothèses peut-on émettre sur les processus et mécanismes expliquant (ou infirmant) cette liaison ?

La croissance foliaire a été étudiée sur la feuille 6, pour laquelle des résultats montrant le rôle déterminant des variables de l'environnement ont déjà été obtenus (Ben-Haj-Salah et Tardieu, 1996, Reymond, 2001, Reymond *et al.*, 2003, 2004). Elle a été mesurée pendant la période comprise entre l'apparition des feuilles 6 et 8, période pendant laquelle elle est linéaire, pour une température donnée (Muller *et al.*, 2001). La croissance des soies a été étudiée en attachant ensemble les premières soies qui émergent du cornet des spathes (chapitre 3). Dans un premier temps, la vitesse de croissance des organes a été étudiée en conditions hydriques non limitantes et reliée à la température des organes. Ceci permet d'intégrer l'effet de la température sur les processus de croissance en exprimant ces derniers par unité de temps thermique, et permet ensuite d'analyser la réponse au déficit hydrique sans qu'elle soit biaisée par les fluctuations thermiques (environnement fluctuant en serre, échauffement des organes lié à la contrainte hydrique...). La croissance de la feuille 6 des 7 lignées a été enregistrée au cours de deux séries d'expérimentations en 2004 et 2005. Dans la première série les plantes ont été soumises à différents régimes thermiques en chambre de culture pendant la période de croissance de la feuille 6. Dans la seconde série, les plantes ont subi un dessèchement du sol par arrêt de l'irrigation à l'émergence de la feuille 6. Ces expérimentations concernaient l'ensemble de la descendance du croisement P1xP2 (130 lignées recombinantes) et ont constitué le support d'un travail de DAA sur les QTL de réponse de la croissance foliaire au déficit hydrique (Maton, 2005). Une expérimentation spécifique a été mise en place en serre en janvier 2006 afin de suivre la croissance des soies des 7 lignées soumises à 3 régimes hydriques contrastés.

. MATERIEL ET METHODES :

Matériel végétal :

Le matériel végétal utilisé dans cette étude se compose au total de 7 lignées : 4 lignées recombinantes (86, 95, 129, 151) de maïs tropical issues du croisement Ac7643, dit P1, par Ac7729/TZSRW, dit P2, issus du matériel Tuxpeno, des deux lignées parentales P1 et P2, et d'une lignée CML444, utilisée pour l'introgression de caractères de tolérance dans du matériel tempéré (Tableau 4.1).

Conditions expérimentales :

✓ **Conditions de culture :**

Trois séries d'expérimentations ont été conduites : les deux premières ont concerné l'étude de la croissance de la feuille 6 soumise à différents régimes thermiques (Exp-F6-Temp) ou à un déficit hydrique du sol (Exp-F6-déficit) ; la troisième a concerné l'étude de la croissance des soies (Exp-soies). Les expériences ont été menées en serre avec un éclairage d'appoint, constitué de lampes à sodium, qui a permis de maintenir la durée de la photopériode à 12h par jour durant la période hivernale. La température a été maintenue autour de 20-25°C en journée et de 18°C la nuit grâce à différents systèmes de régulation : chauffage, ou ventilation et cooling quand la température s'élève. Pour les expériences de réponse de la croissance de la feuille 6 à la température (Exp-F6-temp), les plantes ont été transférées en chambre de culture au moment de l'apparition de la feuille 6 hors du cornet foliaire. Des paliers de température ont été appliqués au cours de la nuit (18°C, 22°C, 26°C), tandis que la température diurne a été maintenue constante à 28°C.

Les grains de maïs ont été semés dans des colonnes en PVC de 12 l pour Exp-soies et 6 l pour Exp-F6, à raison de cinq grains par pot pour deux génotypes (Exp-soies) ou 3 grains pour 3 génotypes (Exp-F6). Toutes les colonnes ont été préparées de la même façon, avec un substrat composé d'un mélange de terre tamisée argilo-limoneuse (Mauguio, Hérault, France), et de terreau (40% et 60% respectivement). Au fond des colonnes se trouvent des billes d'argile d'un diamètre de l'ordre de 1cm qui servent à faciliter le drainage. Une couche de perlite (20g) est ajoutée à la surface des colonnes dès l'apparition des premières feuilles. Cette perlite provient d'une roche volcanique siliceuse qui permet d'éviter le dessèchement du sol en surface en limitant l'évaporation de l'eau du sol.

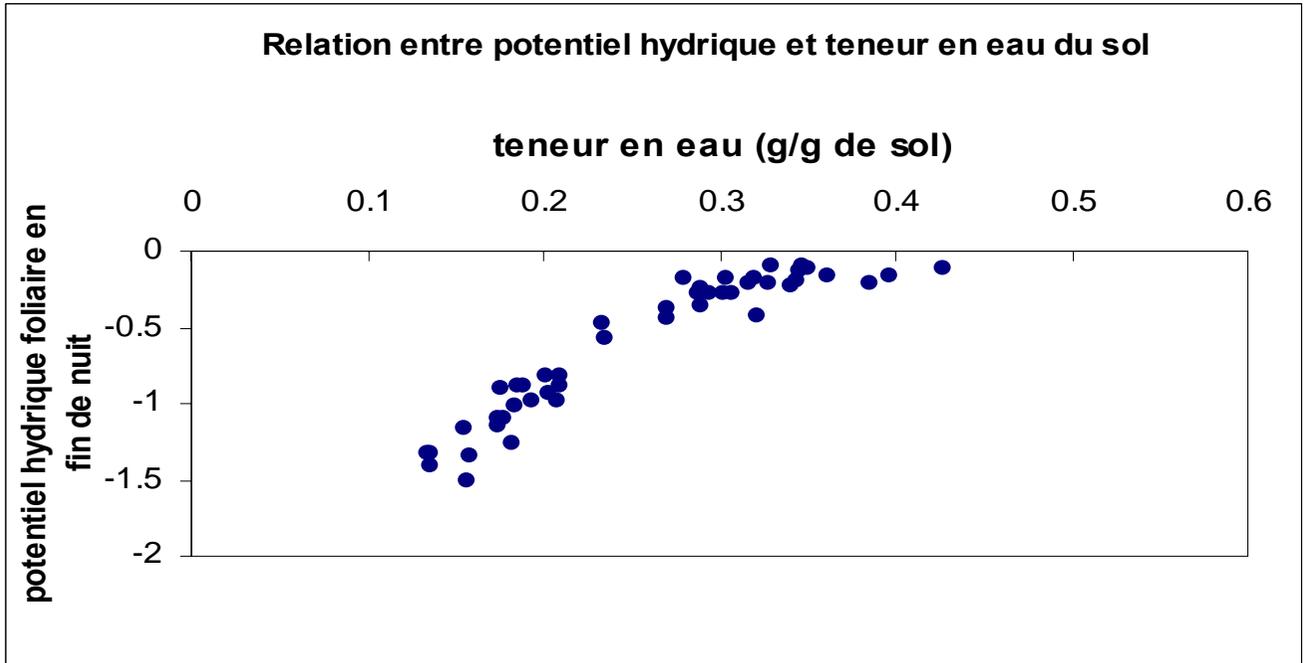


Figure 4.1: Relation entre le potentiel hydrique et la teneur en eau du sol

En fin de nuit, le potentiel hydrique du sol est égal à celui de la plante, car la demande climatique est nulle. Les données présentées correspondent aux potentiels hydriques foliaires de trois nuits différentes, à 5h du matin. Chaque point de la courbe correspond à la mesure de potentiel d'une plante (tous génotypes confondus), pour une des trois nuits de mesures.

La température et l'humidité de l'air ont été mesurées par des capteurs (HMP35A Vasala Oy, Helsinki, Finlande) placés sous abris ventilés. La température des zones méristématiques a été mesurée à l'aide de thermocouples cuivre-constantan placés dans la gaine des premières feuilles de quatre plantes, proche de la zone méristématique. Ces thermocouples (4 pour Exp-soies, 10 pour Exp-F6) étaient bien répartis dans le dispositif. Le rayonnement photosynthétique actif (P.A.R.) a été mesuré à l'aide de capteurs de rayonnement (Licor, Lincoln, LB, USA) placés entre les colonnes à hauteur du couvert. Toutes les données de température, de PAR, d'humidité relative de l'air ont été mesurées toutes les 18 secondes et moyennées sur 15 minutes, puis enregistrées sur une centrale d'acquisition de données (Campbell Scientific, LTD CR10 Wiring Panel, Shepshed, Leicestershire, Angleterre).

✓ **Contrôle de l'état hydrique du sol :**

L'irrigation des plantes se fait manuellement avec une solution nutritive de Hoagland (1/10) enrichie en oligo-éléments. La fréquence d'arrosage augmente avec le développement des plants de maïs durant leur phase de croissance foliaire. L'état hydrique du sol a été contrôlé. L'humidité initiale du substrat dans les colonnes a été préalablement calculée ; un échantillon de sol a été prélevé dans chaque colonne et passé à l'étuve pour calculer les teneurs en eau initiales, qui étaient comprises entre 0.35 et 0.42g d'eau par g de sol sec. La teneur en eau du sol a été calculée à chaque instant à partir de la pesée du pot, de la tare (PVC+billes), du poids de terre initial, et de l'estimation de la matière fraîche. Le potentiel hydrique du sol correspondant à cette teneur en eau a été calculé à partir d'une relation entre ces deux variables, établie pour chaque expérimentation (Figure 4.1).

Le potentiel hydrique du sol a été estimé à partir de mesures du potentiel hydrique foliaire mesuré en fin de nuit à plusieurs reprises sur l'ensemble des pots (Exp-soies) ou sur un échantillon représentatif (Exp-F6). La mesure a été effectuée à l'aide d'une chambre à pression (Soilmoisture Equipment Corp., Santa Barbara, CA, USA), en fin de nuit. A ce moment là, la plante est en équilibre avec le sol ; le potentiel hydrique foliaire est alors un bon estimateur du potentiel hydrique du sol. Ainsi, à chaque instant, les vitesses d'élongation ont pu être reliées à l'humidité du sol.

Des contraintes hydriques ont été appliquées, par arrêt (Exp-F6-déficit) ou forte diminution (Exp-soies) de l'irrigation, à des stades précis de développement : à partir de l'émergence de la feuille 6 (Exp-F6-déficit) ou à partir de l'initiation des soies (Exp-soies). En dehors de ces périodes, les plantes ont été irriguées de façon à maintenir une humidité du sol

autour de 0,42 g d'eau par g de sol sec (potentiel > 0,1 MPa). Dans Exp-soies, 3 régimes d'alimentation hydrique ont été établis à partir de l'initiation des soies en modulant les doses d'arrosage de façon à obtenir des valeurs contrastées de potentiel hydrique. En une semaine environ, nous avons atteint des potentiels hydriques de -1,3 à -0,8 MPa pour les plantes soumises à un déficit hydrique sévère, de -0,6 à -0,4 MPa pour les plantes subissant une contrainte modérée, et de -0,2 à -0,1 MPa pour les plantes bien irriguées. Les plantes ont ensuite été maintenues pendant toute la période de mesure de la croissance des soies à ces potentiels, par des irrigations quotidiennes qui permettaient de ramener le sol à la teneur en eau voulue. Dans Exp-F6, une contrainte hydrique progressive a été appliquée pendant la croissance de la feuille 6, en stoppant complètement l'irrigation de la plante. Le dessèchement a donc été continu et a augmenté pendant la période de mesure. A chaque nuit de mesure correspond un état hydrique différent. Les plantes ont été ré-irriguées au bout de 8-10 jours, lorsque leur potentiel hydrique atteignait environ -1,2 MPa, de façon à ramener l'humidité du sol à 0,42 g d'eau par g de sol sec.

Mesures :

✓ Suivi de la croissance :

La vitesse de croissance des organes a été enregistrée automatiquement à l'aide de capteurs de déplacement. Ces capteurs sont munis d'une poulie dont la rotation traduit l'élongation de l'organe. Un fil reliant l'extrémité de l'organe à un contrepoids de 20 g passe sur la poulie. Le déplacement de l'extrémité de l'organe fait tourner la poulie, ce qui est transmis en signal électrique. Ce signal est enregistré toutes les 15 minutes par la centrale d'acquisition de données. Grâce à un étalonnage préalable, le signal électrique, enregistré en mV, est converti en une vitesse de déplacement en mm par unité de temps. Pour chaque génotype, 4 plantes ont été suivies.

Dès son apparition hors de la gaine de la feuille 5, l'extrémité du limbe de la feuille 6 a été attachée à l'aide d'une « mini pince à linge » sur un fil relié à un capteur rotatif de déplacement. Les premières soies émergeant des spathes ont été fixées directement sur le fil, dès le premier jour de leur sortie, à l'aide d'une colle physiologique (Telesis 5 Silicone Adhesive, Premiere Products Inc., Pacoima, CA, USA).

L'établissement des cinétiques et des courbes de réponse a été réalisé grâce au logiciel R (R Development Core Team 2003).

Le calcul du temps thermique a été utilisé pour prendre en compte l'effet de la température sur le développement et la croissance des plantes. Il repose sur l'existence de

relations linéaires entre la température des organes et la vitesse des processus analysés. Dans le cas de l'allongement des feuilles de maïs, on a :

$$dL/dt = a (T-T_0)$$

où L est la longueur de la feuille en croissance, T est la température, a et T₀ sont respectivement la pente et l'abscisse à l'origine de cette relation. Il s'en suit que :

$$a = dL / ((T - T_0) \cdot dt)$$

Le dénominateur (T- T₀). dt est appelé temps thermique, et T₀, température de base. La pente a exprime la vitesse du processus par unité de temps thermique, indépendamment de la température. Les valeurs de a et de T₀ ont été estimées pour la vitesse d'élongation des feuilles et celle des soies de chaque lignée, en analysant dans chaque cas la relation entre la vitesse d'élongation et la température pour des plantes bien irriguées. Les vitesses d'élongation ont été exprimées par unité de temps thermique dans l'analyse de la réponse au déficit hydrique.

✓ **Suivi du développement des plantes :**

La phénologie des plantes (nombre de feuilles visibles) a été notée quotidiennement. Ces notations ont permis de repérer la sortie de la feuille 6, dont le développement a pu être suivi. Des notations du développement reproducteur ont aussi été faites régulièrement. La sortie des soies a été repérée pour que leur croissance puisse être enregistrée dès leur apparition. Dès sa sortie, la panicule (inflorescence mâle) a été coupée, pour éviter la diffusion de pollen, qui, en fécondant les inflorescences femelles et l'ovule, bloque la croissance des soies (Kiesselbach, 1949).

Le diamètre de la base des plantes, ainsi que la hauteur de la dernière ligule visible ont été mesurés régulièrement sur l'ensemble des plantes. Une relation commune à l'ensemble des génotypes a été établie entre le produit diamètre x diamètre x hauteur et le poids de matière fraîche de plantes prélevées. Ceci a permis d'estimer le poids de matière fraîche des plantes dans chaque pot.

Parallèlement à ces observations, des plantes sélectionnées ont été prélevées puis disséquées tous les 4 jours au début, puis tous les jours jusqu'à la fin de l'expérimentation. Ces plantes ont été choisies de manière à laisser suffisamment de plantes par traitement et par génotype pour les suivis de croissance (des feuilles et des soies). Les dissections de plantes nous ont permis d'observer et de dater l'initiation de la panicule, de l'épi, puis des épillets, et des soies. La date d'initiation des premiers épillets marque le début du développement de l'épi. Elle est reliée au stade foliaire de la plante : dans Exp-soies, elle a coïncidé avec le stade 12 feuilles

	RETARD DE LA FLORAISON FEMELLE en jours (retard en °Cj)		
	champ	serre, déficit modéré, -0,5MPa	serre déficit sévère, -1MPa
151	1.5	1.1 (12)	4.4 (49)
P1	2	1.8 (20)	5 (54)
CML444	2	2.4 (26)	4.9 (54)
129	2.3	2.1 (23)	5,2 (57)
P2	7	3.3 (36)	6.4 (70)
86	7.1	3.4 (37)	8 (88)
95	14.7	4.8 (53)	14.9 (164)

Tableau 4.2: Retard de la floraison femelle induit par des déficits hydriques au champ et en serre chez les sept lignées de maïs étudiées.

Les valeurs sont exprimées en nombre de jours (nombre de degrés-jours entre parenthèse) de retard par rapport aux plantes bien irriguées du même génotype dans l'expérimentation correspondante. Au champ, ces valeurs correspondent à la moyenne de trois années d'expérimentations. En serre, elles sont calculées à partir de nos données (Exp-soies).

Les lignées sont classées de la plus tolérante (retard le plus faible) à la plus sensible (retard le plus important).

visibles. Ceci, couplé au suivi quotidien du stade foliaire sur toutes les plantes, a permis de calculer l'âge de chaque plante, exprimé en temps depuis le début du développement de l'épi. La durée initiation épi – sortie des soies a ainsi été calculée pour chaque plante pour caractériser la précocité de floraison femelle en tenant compte des décalages de développement entre individus. La détermination de la date d'initiation des soies observée sur un génotype lors de la dissection a permis de caler la date d'application de la contrainte hydrique pour ce génotype.

. RESULTATS :

Les expérimentations ont confirmé le comportement des lignées observé au champ sur le retard de la floraison femelle en situation de déficit hydrique :

Le tableau 4.2 compare le retard de la floraison femelle induit par un déficit hydrique dans des expérimentations au champ menées au CIMMYT et dans nos expérimentations en serre pour les 7 lignées étudiées. Pour les expérimentations au champ, la contrainte hydrique a consisté à stopper l'irrigation environ 3 semaines avant la floraison. L'intensité du déficit hydrique du sol dépend des caractéristiques climatiques de l'année (demande évaporative notamment). La valeur indiquée dans le tableau correspond à la moyenne des observations de 3 années d'expérimentation. Dans nos expériences en serre, nous avons contrôlé le niveau de contrainte hydrique appliqué par ajustement quotidien de l'état hydrique du sol à un potentiel donné. Un déficit hydrique modéré, correspondant à un potentiel hydrique de -0,5MPa, et un déficit sévère, correspondant à un potentiel hydrique de -1Mpa, ont ainsi été appliqués. Le décalage de floraison femelle observé dans chacune de ces situations est exprimé dans le tableau 4.2 en nombre de jours (et de degrés-jour) de retard par rapport à la floraison des plantes bien irriguées. Les lignées P1 et P2 ont été choisies comme lignées parentales d'une population de lignées recombinantes sur leur comportement contrasté pour le maintien de la floraison femelle en situation de déficit hydrique au champ (retard de 2j pour P1 contre 7j pour P2). Parmi leur descendance, nous avons sélectionné pour notre étude 2 lignées présentant un important décalage de floraison, similaire (7j, lignée 86) ou supérieur (15j, lignée 95) à celui du parent P2, et 2 lignées maintenant leur floraison aussi bien (2j, lignée 129) ou mieux (1,5 j, lignée 151) que le parent P1. La lignée non apparentée CML444, également étudiée dans ce travail, présente un comportement similaire à celui de P1 (retard de 2j). Nos études menées en serre confirment le comportement des lignées observé au champ, puisque le même classement est observé dans chacune des situations de déficit hydrique (modéré ou sévère) que nous avons étudiées :

A

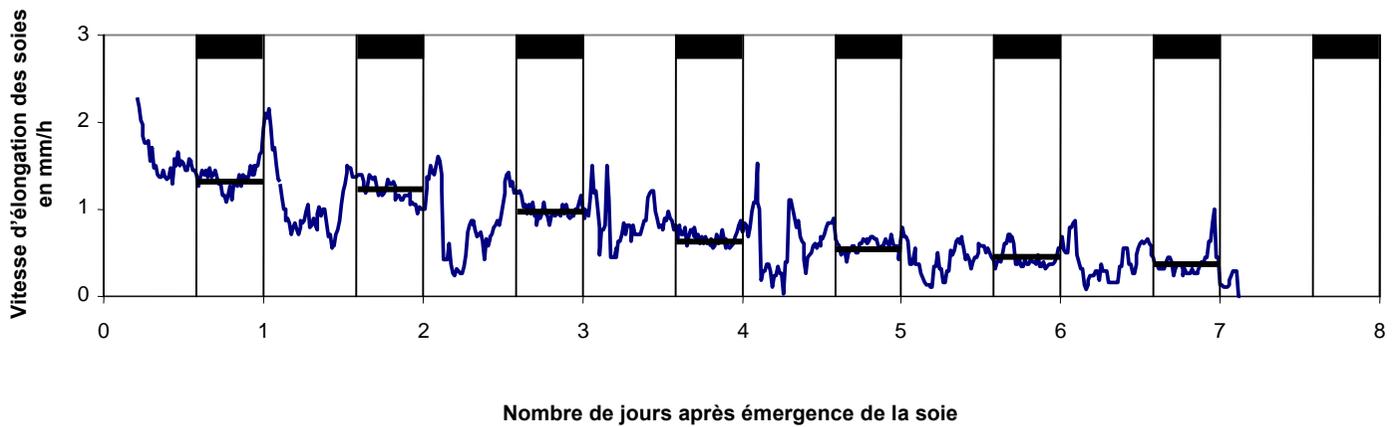
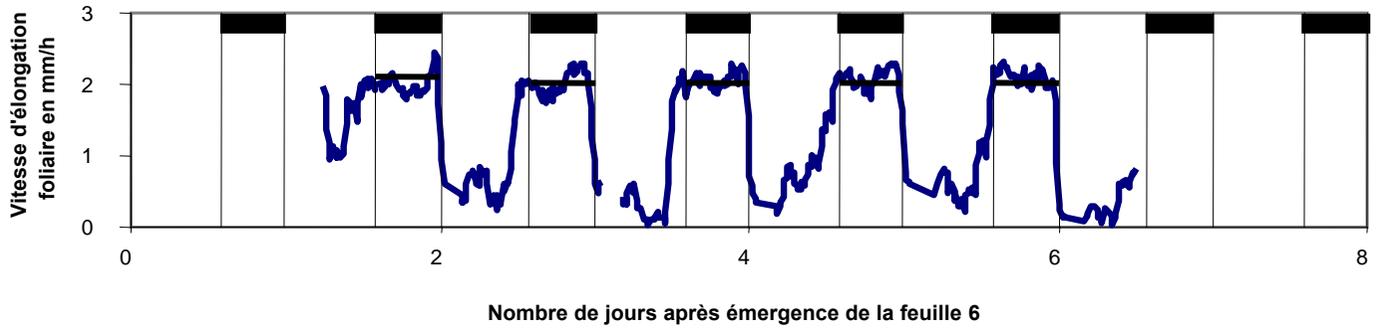


Figure 4.2: Évolution de la vitesse d'élongation des organes au cours du temps .

A- évolution de la vitesse d'élongation de la feuille 6

B- Évolution de la vitesse d'élongation des soies

Classement : 151 > P1 = CML = 129 > P2 = 86 > 95

Ainsi, la lignée 95 apparaît comme la plus sensible au déficit hydrique, avec un décalage de la floraison femelle qui peut atteindre 15 jours pour les déficits hydriques imposés au champ et pour le déficit hydrique sévère en serre. A l’opposé, la lignée 151 semble être celle qui tolère le mieux le stress hydrique, quelle que soit l’expérimentation, puisque les contraintes hydriques ne retardent la floraison femelle que d’un jour et demi dans les expérimentations en champ, et de 1 à 4 jours en serre selon l’intensité du déficit hydrique subi.

Globalement, on observe la même amplitude de retard de floraison dans les expérimentations en serre que dans les essais au champ (de 1 à 15 jours dans les 2 cas). Cependant, pour un niveau de déficit hydrique donné (modéré ou fort) les contrastes entre les lignées observés en serre sont inférieurs à ceux qui sont observés au champ (de 1 à 5j pour le déficit modéré, et de 4 à 15 jours pour le déficit sévère). En fait, les observations au champ concernant les lignées qui maintiennent leur floraison coïncident avec les résultats obtenus avec un déficit modéré en serre, tandis que le comportement au champ des lignées présentant une floraison retardée est similaire à celui observé avec un déficit hydrique sévère en serre. Ceci pourrait s’expliquer par une demande évaporative beaucoup plus forte dans les champs du CIMMYT (Mexique) qu’en serre, qui amplifierait l’effet du déficit hydrique du sol, augmentant ainsi les contrastes entre les génotypes qui maintiennent et ceux qui retardent leur floraison.

Cinétiques de croissance des soies et des feuilles sans déficit hydrique : Analyse de la réponse à la température:

✓ **Il existe des similitudes entre les cinétiques de croissance des feuilles et des soies :**

La figure 4.2A présente l’évolution de la vitesse d’allongement de la feuille 6 au cours du temps, exprimé en nombre de jours après l’émergence de la feuille. La vitesse d’allongement, exprimée en mm/h, est calculée à partir de l’enregistrement automatique tous les quarts d’heure de la position de l’extrémité de l’organe relié à un capteur de déplacement. La cinétique montre que la vitesse d’élongation de la feuille 6 est relativement stable pendant la nuit, et est supérieure à la vitesse d’élongation diurne. De plus, ce plateau de croissance nocturne (voir figure 4.2A) se maintient d’une nuit sur l’autre pendant au moins 6 nuits à partir de l’émergence de la feuille. Cette stabilité est liée à la zone de croissance de la feuille 6, qui fonctionne en régime permanent (maintien de sa taille et de son activité via la production et l’allongement de cellules) pendant 8 à 10 jours.

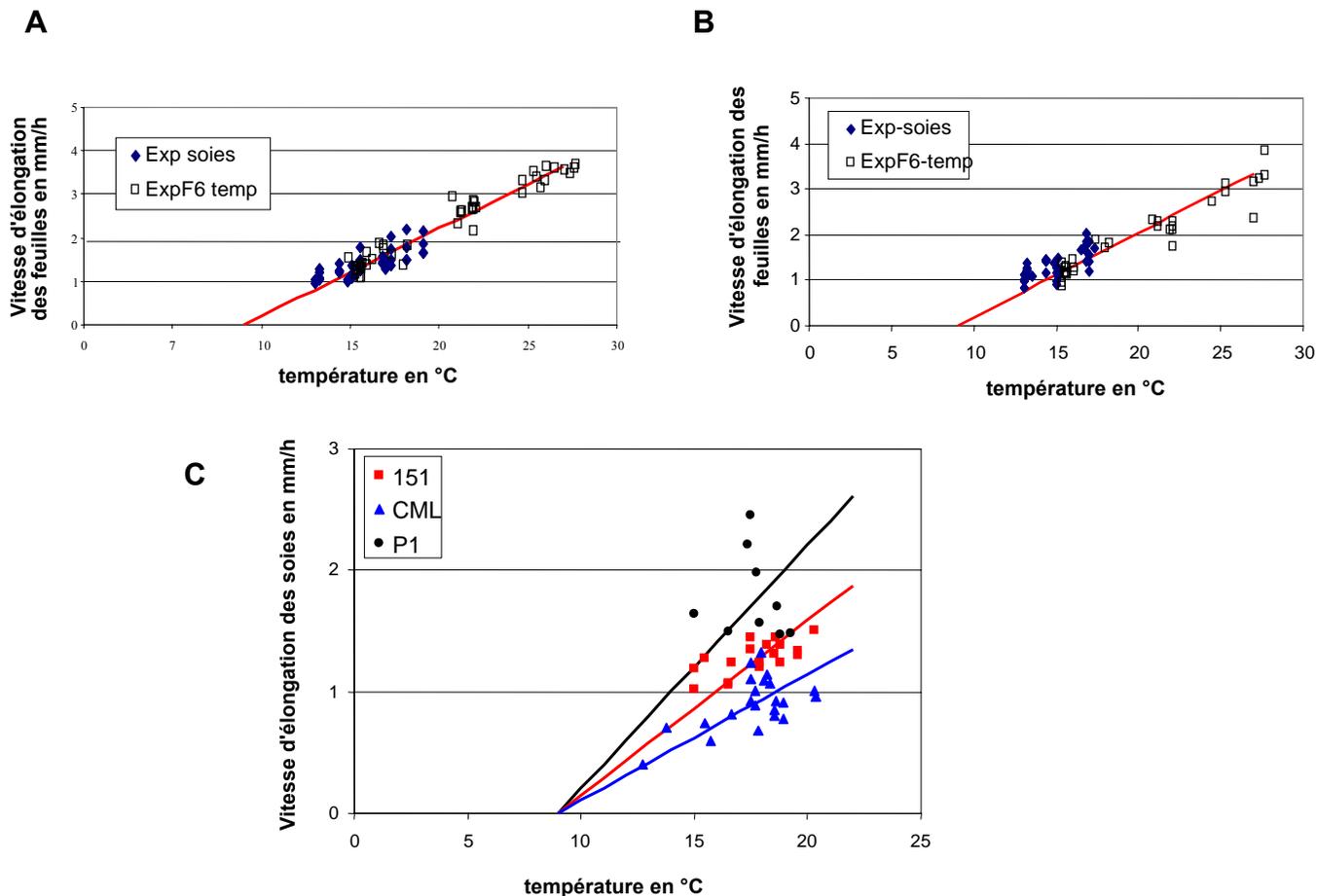


Figure 4.3: Relation entre la vitesse d'élongation des organes et leur température.

A - Courbe de réponse à la température de la vitesse d'élongation de la **feuille 6** pour la lignée **95**

B- Courbe de réponse à la température de la vitesse d'élongation de la **feuille 6** de la lignée **151**

C- Courbe de réponse à la température de la croissance des **soies** de trois lignées contrastées

REPONSE DE LA CROISSANCE DES SOIES A LA TEMPERATURE							
	86	95	129	151	CML444	P1	P2
Pente (soies) en mm/h/°Cj	0,12	0,17	0,16	0,14	0,10	0,20	0,17
Coef.Détermination (soies)	0,97	0,96	0,98	0,98	0,94	0,96	0,99
Pente (feuilles) en mm/h/°Cj	0,23	0,20	0,22	0,19	0,22	0,20	0,22
Coef.Détermination (feuilles)	0,99	0,99	0,97	0,97	0,99	0,98	0,99

Tableau 4. 3: Valeurs des coefficients de détermination (r^2) et des pentes des droites de régression des courbes de réponse des feuilles et des soies à la température pour l'ensemble des lignées étudiées

L'observation de cette cinétique montre aussi une alternance jour/nuit tout au long de la période de mesure ; alors que la vitesse d'élongation nocturne est relativement stable, la période diurne est caractérisée par de fortes variations de croissance. On observe toujours une forte diminution de la vitesse d'élongation pendant la période diurne par rapport à la vitesse observée la nuit précédente.

Ces variations sont probablement liées à la demande évaporative, qui augmente fortement pendant la journée (augmentation de la température et du VPD). Les processus qui permettent la croissance des différents organes sont alors considérablement ralentis. En conséquence, notre analyse de la réponse de la croissance foliaire à la température prend en compte la croissance de la feuille 6 pendant la nuit, afin de nous affranchir de l'effet de la demande climatique, pendant la période comprise entre son émergence et celle de la feuille 8 au cours de laquelle la vitesse de croissance est stable pour une température donnée.

L'évolution de la vitesse d'élongation des soies est représentée sur la figure 4.2B. On observe, comme pour les feuilles, une vitesse d'élongation nocturne supérieure à la vitesse d'élongation diurne. Cette décroissance diurne est, là encore, liée à l'augmentation de la demande climatique au cours de la journée. Le plateau de croissance nocturne, qui était constant pendant cinq nuits consécutives pour la feuille 6 ne se maintient pour les soies qu'au cours des trois nuits qui suivent leur émergence hors du cornet des spathes. Cette décroissance se poursuit au cours des nuits suivantes, et la croissance des soies s'annule environ 7 jours après leur sortie. Cette différence est liée au fonctionnement de la zone de croissance des soies, qui ralentit au moment de leur sortie, et à la sénescence des soies qui intervient 5 à 8 jours après leur sortie de spathes (chapitre 3). En conséquence, notre analyse de la réponse de la croissance des soies a porté sur la vitesse d'élongation au cours des 2 premières nuits suivant l'émergence.

✓ **La réponse de l'élongation des feuilles à la température n'est pas corrélée à celle des soies :**

L'analyse de la réponse de l'élongation de la feuille 6 à la température est illustrée avec l'ensemble des points expérimentaux concernant les deux lignées qui montraient les comportements les plus contrastés pour le maintien du développement reproducteur en situation de stress hydrique : les lignées 95 (figure 4.3A) et 151 (figure 4.3B). Chaque point des courbes de réponse correspond à une moyenne de la vitesse d'élongation de la feuille 6 d'une plante et à la température moyenne du méristème sur une période de 2h30. Cette moyenne permet de lisser la variabilité ponctuelle des données brutes obtenues tous les quarts d'heure. Les variations de température proviennent soit de consignes imposées en chambre de culture (Exp-F6-temp), soit

des fluctuations enregistrées à la serre (Exp-F6-temp et Exp-soies). Nous avons ainsi pu explorer une gamme de température allant de 13 à 28°C pour les feuilles pendant la période d'enregistrement.

La pente des courbes de réponse de l'élongation de la feuille 6 à la température et le coefficient de détermination des ajustements linéaires des cinq autres génotypes étudiés sont présentés dans le tableau 4.3. Dans tous les cas, les points issus des différentes expérimentations concernant un même génotype s'alignent selon un ajustement linéaire commun avec des coefficients de détermination élevés. Pour toutes les lignées étudiées, les ajustements linéaires des courbes coupent l'axe des abscisses pour une température proche de 9°C. Nous avons donc fixé la valeur de ce paramètre, correspondant à la température de base du processus (voir Matériel et méthodes), à 9°C pour tous les génotypes afin de les comparer sur la pente de l'ajustement linéaire, qui correspond à la vitesse d'élongation de la feuille 6, exprimée par unité de temps thermique. Nos résultats indiquent que la réponse de l'élongation foliaire à la température n'est pas différente pour les deux lignées analysées. Les pentes des courbes de réponse sont de 0,201 pour le génotype 95, et de 0,186 pour le génotype 151. Les génotypes 86 et CML444, avec respectivement des pentes de 0,228, et 0,223, ont les taux de croissance foliaire qui répondent le mieux à l'augmentation de température. Il ne semble pas y avoir de corrélation entre la vitesse d'élongation de la feuille 6 et le maintien du développement reproducteur en déficit hydrique. Par exemple, CML444 et 151 ont des comportements similaires pour leur développement reproducteur, mais des vitesses de croissance foliaires aux deux extrêmes de la gamme décrite par les 7 génotypes étudiés.

Pour la réponse de la croissance des soies à la température, la gamme de température explorée était trop étroite pour calculer les 2 paramètres (température de base et pente) des ajustements linéaires pour chaque lignée. Nous avons donc fait l'hypothèse, cohérente avec des résultats obtenus sur du matériel tempéré (chapitre 3), que la température de base pour la croissance des soies est identique à celle de la croissance foliaire (9°C pour la population étudiée). Les valeurs de la pente de l'ajustement entre la vitesse d'élongation des soies et la température figurent dans le tableau 4.3 pour les 7 génotypes. L'ensemble des points expérimentaux concernant les génotypes les plus contrastés sur ce critère (P1 et CML444), ainsi qu'un génotype intermédiaire (151), est présenté sur la figure 4.3C.

La croissance de la lignée P1 est celle qui répond le mieux à la température, puisque la pente de la droite de régression est la plus élevée, 0,201. L'augmentation de la croissance des soies avec la température est deux fois plus rapide chez cette lignée (P1) que chez la lignée CML444, dernière du classement (voir Tableau 4.3), dont la pente est de 0,104. La troisième

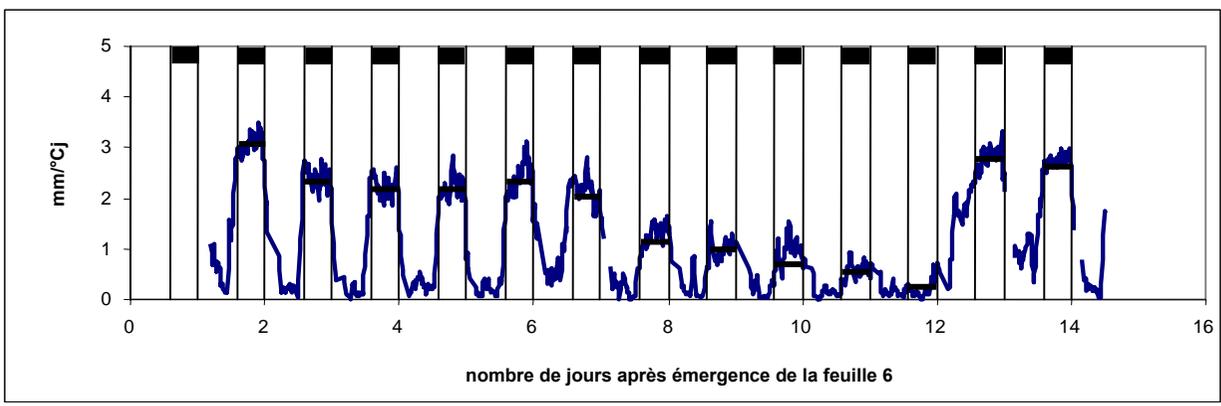
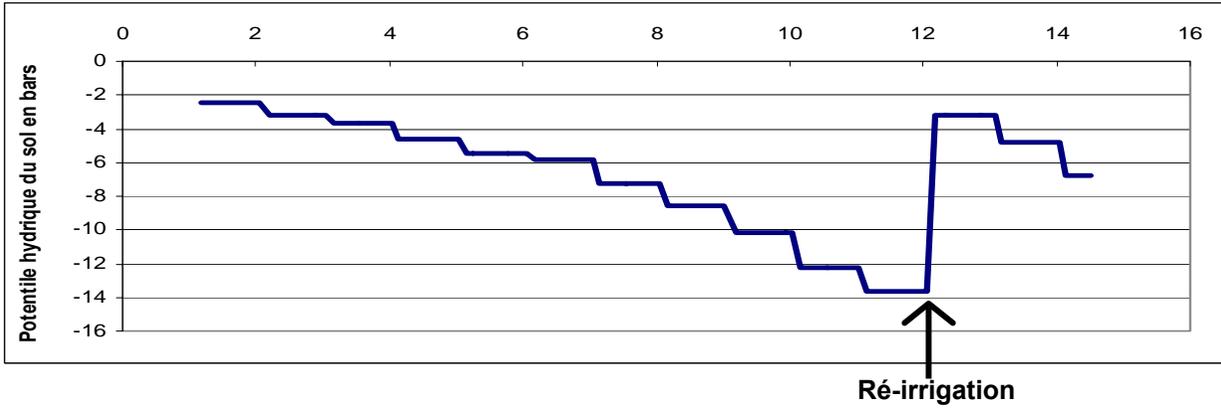
A**B**

Figure 4.4: Évolution de la vitesse d'élongation de la feuille 6 (A) et du potentiel hydrique du sol (B) au cours d'un cycle de dessèchement du sol suivi d'une réirrigation.

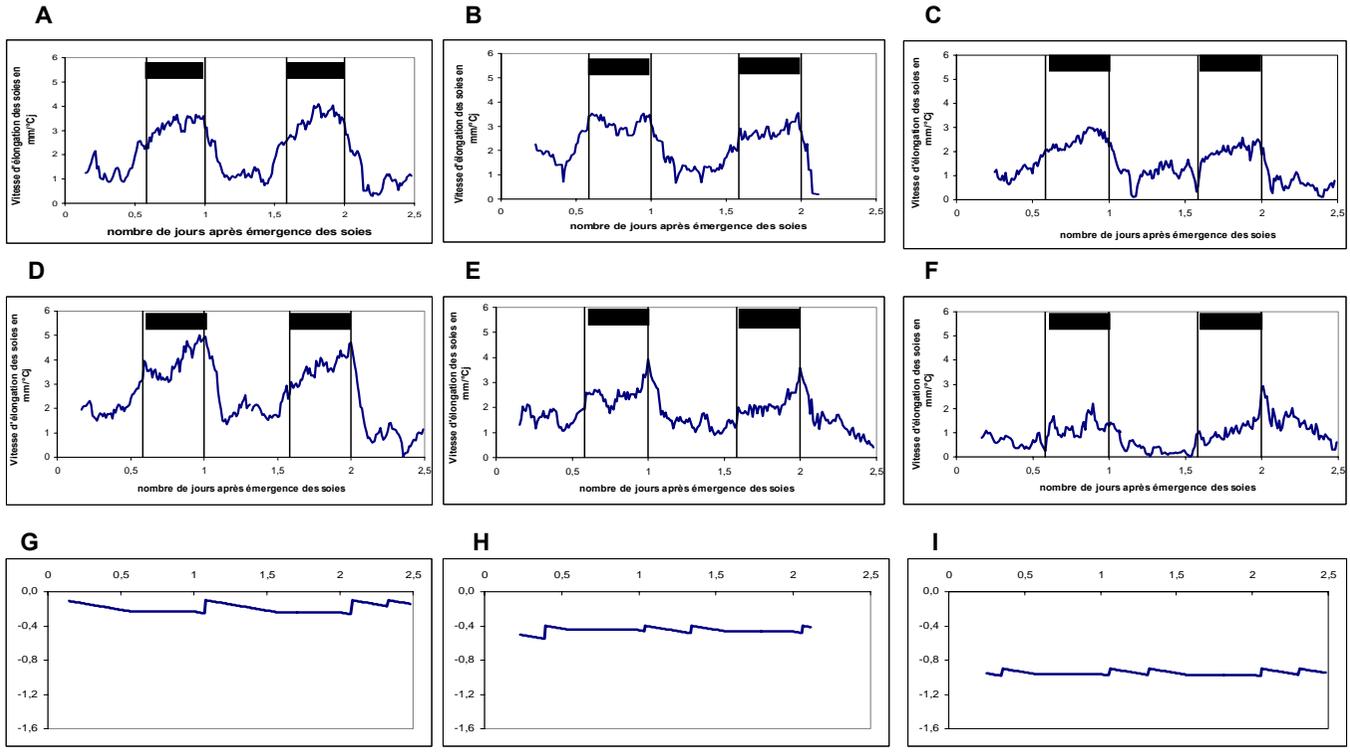


Figure 4.5: Évolution de la vitesse d'élongation des soies au cours des 2 jours suivant leur émergence pour des plantes de 2 lignées (A,B,C: lignée 151; D,E,F: lignée 95) soumises à 3 niveaux différents de potentiel hydrique du sol: G, condition témoin; H, stress modéré; I, stress sévère.

lignée présentée sur la figure 4.3C, 151, a une réponse intermédiaire, avec une pente de 0,144. Le classement des lignées selon la réponse de l'élongation des soies à la température n'a rien en commun avec le classement des lignées pour le maintien du développement reproducteur en régime hydrique restrictif, puisque les lignées tolérantes au déficit telles que CML444, ont, en réponse à la température, une vitesse d'élongation des soies assez faible. Il semblerait donc que ces deux types de réponse ne soient pas corrélés.

Curieusement, le classement des lignées selon la réponse de l'élongation des soies à la température est pratiquement inversé par rapport à celui des feuilles. Les lignées présentant une vitesse d'élongation foliaire rapide (86, CML) ont une vitesse d'élongation des soies qui est lente, et inversement (P1, 95). Seule la lignée 151 est mal classée selon les 2 critères. Cela pourrait traduire un antagonisme entre la croissance des organes végétatifs et reproducteurs. Cependant, la gamme de variation de la vitesse d'élongation foliaire est faible dans notre échantillonnage (0,19 à 0,23) par rapport à la variabilité dans l'ensemble de la population de lignées (0,15 à 0,30). L'antagonisme apparent feuilles – soies pour la vitesse d'élongation pourrait être un artefact lié au choix de ces sept lignées.

Caractérisation de la réponse de l'élongation des feuilles et des soies au déficit hydrique édaphique:

✓ **Les cinétiques de croissance des feuilles et des soies sont affectées de façon similaire par un déficit hydrique du sol**

Les figures 4.4 (pour les feuilles) et 4.5 (pour les soies) présentent l'évolution de la vitesse d'allongement des organes lorsque le sol se dessèche (le potentiel hydrique du sol diminue). L'expression de la vitesse par unité de temps thermique permet de comparer des expériences entre elles et de travailler en conditions fluctuantes (serre) comme si on était en conditions stabilisées. Ce calcul de temps thermique prend en compte, pour chaque période de mesure, les valeurs de températures qui sont au dessus de la température de base, soit 9°C pour les lignées étudiées.

Dans le cas des feuilles, les plantes sont soumises à un dessèchement progressif du sol par arrêt de l'irrigation au début de la croissance de la feuille 6. L'intensité de la contrainte (potentiel hydrique du sol exprimé en MPa) évolue avec le temps pour une même plante. La chute de croissance n'intervient chez les feuilles, que quatre jours après arrêt de l'irrigation, durée nécessaire à la mise en place du dessèchement dans le sol. La vitesse d'allongement chute ensuite rapidement, puisqu'elle diminue de moitié en quatre jours, passant du quatrième au

huitième jour de $3\text{mm}/^{\circ}\text{Cj}$ à $1,5\text{mm}/^{\circ}\text{Cj}$, tandis que le potentiel hydrique du sol diminue de $-0,4$ à $-0,8$ MPa. La reprise de l'élongation au moment de la ré-irrigation montre que la chute de la croissance est bien liée au stress hydrique, et pas à la sénescence de la feuille.

Dans le cas des soies, le potentiel hydrique du sol a été ajusté à une valeur donnée dès l'initiation des soies, puis maintenu stable pendant toute la durée de croissance des soies par des arrosages quotidiens tenant compte de la transpiration et de la biomasse des plantes. Les cinétiques présentées sur la figure 4.5 décrivent l'évolution de la vitesse d'élongation des soies pendant les 2,5 jours suivant leur sortie des spathes pour six plantes différentes : 2 lignées (151 et 95) subissant 3 régimes hydriques différents. On observe également pour les soies une diminution du plateau de croissance nocturne lorsque l'intensité du déficit hydrique augmente, avec des différences selon la lignée. Ces enregistrements montrent en effet que les plantes du génotype 151 sont tolérantes au déficit hydrique, car leur croissance passe de $3,8\text{ mm}/^{\circ}\text{Cj}$ en conditions témoin à $2,5\text{ mm}/^{\circ}\text{Cj}$ en régime hydrique limitant (stress sévère). En revanche les plantes du génotype 95 confirment dans ces cinétiques de croissance leur sensibilité au déficit hydrique édaphique, car leur croissance est divisée par 4 quand on applique un stress sévère, passant de $5\text{ mm}/^{\circ}\text{Cj}$ à $1,3\text{ mm}/^{\circ}\text{Cj}$.

Quel que soit l'organe suivi, on remarque que la vitesse d'élongation subit, comme pour la réponse à la température, une alternance entre de fortes valeurs nocturnes et des valeurs diurnes plus faibles en raison de l'augmentation de la demande climatique. Pour l'analyse de la réponse de l'élongation des organes au déficit hydrique, nous ne prendrons en compte que les valeurs nocturnes. Pour les feuilles, nous avons pris en compte toute la période jusqu'à l'émergence de la feuille 8, puisqu'une ré-irrigation après douze jours de dessèchement permet de retrouver les valeurs initiales de vitesse d'élongation, indiquant que les réponses pendant cette période ne sont pas biaisées par une éventuelle sénescence. Pour les soies, seules les 2 premières nuits suivant leur émergence sont prises en compte, pour éviter de confondre l'effet du déficit hydrique avec l'effet de l'âge des soies.

✓ **Les lignées qui maintiennent leur croissance foliaire à des potentiels hydriques bas maintiennent également la croissance de leurs soies :**

La figure 4.6 présente la réponse de la croissance des organes au déficit hydrique du sol. Chaque point de la courbe de réponse correspond à une mesure nocturne de la croissance d'organe et du potentiel hydrique du sol. La moyenne de ces deux variables a été calculée sur une période de cinq heures en fin de chaque nuit d'enregistrement (de minuit à cinq heures du matin). L'ensemble des points expérimentaux concernant les deux lignées que nous avons choisi

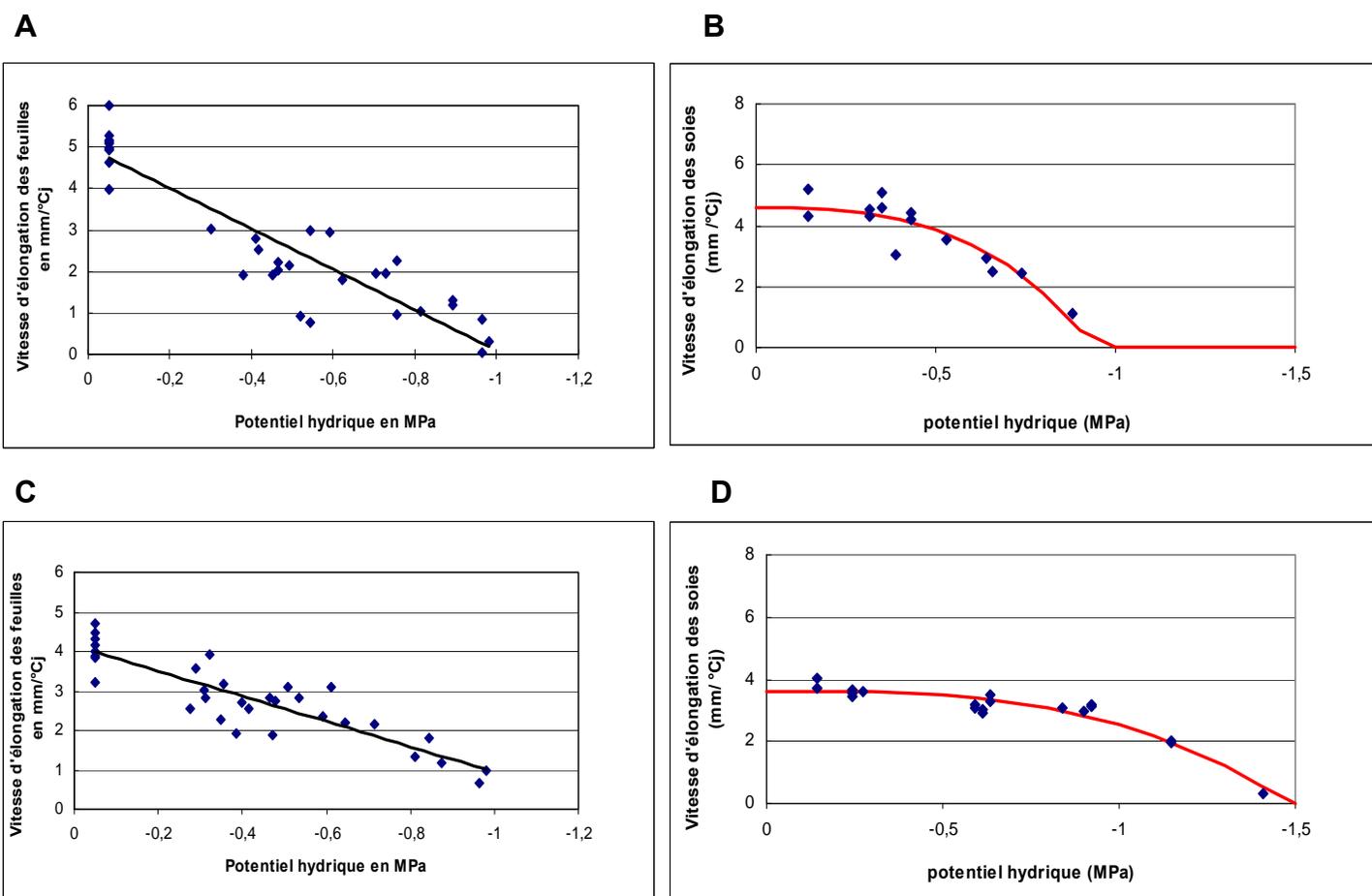


Figure 4.6: Relation entre la vitesse d'élongation des organes et le potentiel hydrique du sol. Réponse des feuilles (A) et des soies (B) de la lignée 95 au potentiel hydrique du sol. Réponse des feuilles (C) et des soies (D) de la lignée 151 au potentiel hydrique du sol.

REPONSE DE LA CROISSANCE (FEUILLES ET SOIES) AU POTENTIEL HYDRIQUE DU SOL							
	86	95	129	151	P1	P2	CML
Ordonnée à l'origine (soies) en mm/°Cj	3,21	4,56	3,80	3,62	5,15	4,30	2,70
Intercept (soies) en MPa	-1,26	-0,94	-1,26	-1,49	-1,13	-1,25	-1,45
Coef. Détermination (soies)	0,98	0,99	0,97	0,99	0,97	0,99	0,98
Ordonnée à l'origine (feuilles) en mm/°Cj	5,47	4,98	5,33	4,14	4,73	5,28	5,38
Intercept (feuilles) en MPa	-0,98	-1,01	-1,16	-1,22	-1,05	-1,10	-1,15
Coef. Détermination (feuilles)	0,98	0,96	0,94	0,98	0,96	0,99	0,95

Tableau 4.4: Valeurs des abscisses à l'origine (intercepts), des ordonnées à l'origine et des coefficients de détermination des courbes de réponse au potentiel hydrique de la vitesse d'élongation des organes.

de suivre dans cette étude (95 et 151) permet d'illustrer la réponse de la vitesse d'élongation des organes au déficit hydrique. Dans tous les cas, la vitesse de croissance des organes diminue avec le potentiel hydrique du sol. La réponse des organes de chaque génotype est ainsi décrite par deux paramètres caractéristiques : la vitesse d'élongation (exprimée en mm par degré-jour) en l'absence de contrainte hydrique, qui correspond à l'ordonnée à l'origine des ajustements, et le potentiel hydrique pour lequel la vitesse d'élongation s'annule qui correspond à l'intercept. Les paramètres et les coefficients de détermination des ajustements de chaque génotype sont présentés dans le tableau 4.4.

Dans le cas des feuilles, les données expérimentales ont été ajustées à des relations linéaires (Figures 4.6A pour le génotype 151, et 4.6C pour le génotype 95). La comparaison des lignées selon les paramètres des ajustements fait apparaître que les lignées qui maintiennent leur développement reproducteur en situation de déficit hydrique (151, 129, CML444) maintiennent également leur vitesse d'élongation foliaire à des potentiels hydriques bas, inférieurs à $-1,15\text{MPa}$. Les plantes de la lignée 151, la plus tolérante au déficit continuent de croître à des potentiels hydriques de $-1,22\text{MPa}$. A l'inverse, les lignées 95 et 86 dont le développement reproducteur est le plus sensible au déficit hydrique ont leur vitesse d'élongation foliaire stoppée pour des potentiels de l'ordre de -1MPa ($-0,98\text{MPa}$ pour la lignée 86, la plus sensible sur ce critère). Les lignées parentales P1 et P2, contrastées pour le maintien du développement reproducteur, annulent leur vitesse d'élongation foliaire pour des potentiels hydriques très proches. Leur classement est même inversé sur ce critère ($-1,05$ et $-1,10\text{MPa}$ pour P1 et P2, respectivement).

Les mêmes observations restent valables en ce qui concerne la réponse des soies au déficit hydrique du sol. Les données expérimentales ont été ajustées à une fonction d'ordre 3 (Figure 4.6B pour le génotype 151, et 4.6D pour le génotype 95). Les lignées qui étaient tolérantes (ou sensibles) sur les deux critères précédents de réponse au déficit hydrique (maintien du développement reproducteur et de l'élongation foliaire) le sont toujours pour l'élongation des soies. Comme pour la réponse de l'élongation foliaire, les lignées parentales P1 et P2 présentent des comportements proches pour la réponse des soies, avec une inversion du classement obtenu pour le maintien de l'ASI. La lignée 86 a une réponse inattendue. Cette lignée, qui était une des plus sensibles, semble maintenir l'élongation de ses soies jusqu'à des potentiels de $-1,26\text{MPa}$. Ce résultat est cependant à considérer avec précaution, car la lignée 86 est celle pour laquelle le nombre d'individus analysé est le plus faible (seulement 2 plantes dans le traitement bien irrigué), en raison d'un problème phytosanitaire en cours d'expérimentation.

. DISCUSSION :

Le maintien de la croissance foliaire, de la croissance des soies, et de l'ASI en situation de déficit hydrique sont-ils liés ?

Une étude récente menée au LEPSE suggère l'existence de bases génétiques communes aux feuilles et aux soies d'une part pour leur capacité de croissance en régime hydrique non limitant, et d'autre part pour le maintien de cette capacité de croissance en conditions de déficit (Welcker *et al.*, 2007). En première analyse, nos résultats portant sur 7 lignées viennent conforter cette hypothèse puisque le comportement des lignées en réponse au déficit hydrique suit la même tendance pour les trois critères étudiés (élongation de la feuille 6, des soies et maintien du développement reproducteur).

Pour 6 des 7 lignées étudiées, la réponse des soies au déficit hydrique du sol est totalement cohérente avec celle des feuilles. Les lignées pour lesquelles la croissance foliaire s'annule rapidement avec la diminution du potentiel hydrique du sol présentent la même sensibilité de la croissance des soies au dessèchement du sol. De même, les lignées tolérantes pour la croissance des feuilles en conditions de déficit le sont aussi pour la croissance des soies. Seule la lignée 86 semble avoir une réponse des soies différentes de celle des feuilles : cette lignée apparaît sensible au déficit en ce qui concerne la réponse des feuilles, mais la croissance de ses soies est maintenue à des potentiels très bas. Cependant, les résultats concernant cette lignée sont sans doute biaisés par le faible effectif de plantes que nous avons pu analyser. Plusieurs plantes malades sur ce génotype ont été éliminées, notamment parmi les plantes bien irriguées, conduisant à une probable sous-estimation de la vitesse d'élongation en l'absence de contrainte et de sa décroissance avec le déficit.

Cependant, le comportement des lignées parentales P1 et P2 semble indiquer une indépendance entre le contrôle de l'ASI et celui de l'expansion des soies. Ces lignées ont été sélectionnées car elles présentaient des comportements contrastés vis à vis de l'ASI en situation de stress hydrique. Nos résultats le confirment, P1 est une lignée tolérante, puisqu'elle maintient un ASI court lors d'un stress hydrique, et P2 est dite sensible au déficit car la durée de l'ASI est plus longue dans ces conditions. Mais d'après nos résultats, la lignée P2 est plus tolérante que P1 à la fois pour la croissance des feuilles, mais aussi pour celle des soies en situation de déficit car elle maintient la croissance des organes à des potentiels plus faibles que P1. Pour ces lignées, on observe bien une cohérence entre la réponse des feuilles et celle des soies, mais une divergence entre le maintien de l'expansion des tissus et le maintien du développement reproducteur. Des données concernant l'allongement des spathes (bractées qui engainent l'épi), non présentées dans

ce mémoire, montrent que la lignée P2 maintient la croissance de ses spathes malgré le déficit hydrique du sol, alors que la longueur des spathes est fortement affectée par le déficit pour la lignée P1. La date de sortie des soies, qui détermine l'ASI, est le résultat d'une course de vitesse entre la croissance des soies et celle des spathes. On peut émettre l'hypothèse que, dans le cas de P2, le maintien de l'expansion des organes (spathes et, dans une moindre mesure, soies) s'avère au final pénalisant pour l'ASI.

Dans nos expérimentations, la capacité de croissance des feuilles et des soies en l'absence de déficit hydrique, appréciée par la pente de la relation entre la vitesse d'élongation et la température des organes, ne sont pas corrélées entre elles ni avec le maintien du développement reproducteur en situation de déficit hydrique. L'élongation des feuilles et celle des soies varient même en sens inverse en réponse à la température. Les lignées pour lesquelles on observe une croissance foliaire forte (lignées 86 et CML444 par exemple) ont une croissance des soies relativement faible. A l'inverse, la lignée P1 présente la vitesse de croissance des soies la plus élevée, alors que sa croissance foliaire est très faible. Mais il faut prendre des précautions, car les sept lignées étudiées présentent des vitesses d'élongation foliaire assez proches. La comparaison entre les croissances des feuilles et des soies en conditions témoins peut donc être faussée par le faible écart entre les lignées sur ce critère là.

Quelles hypothèses peut-on émettre sur les processus et les mécanismes expliquant ou infirmant cette liaison ?

La capacité de croissance d'un tissu, en conditions d'irrigation optimales, est essentiellement déterminée par les propriétés de la paroi de la cellule végétale dans la zone de croissance. Le relâchement de la paroi, nécessaire à l'expansion cellulaire, est contrôlé notamment par des expansines (Cosgrove 2005). Des représentants de la famille des expansines, amis aussi des aquaporines et des celluloses synthases, aussi impliqués dans les processus d'élongation cellulaire ont été retrouvés à la fois dans les soies et dans les feuilles (Wu *et al.*, 2000). Il semble que des allèles associés à la variation du taux de division cellulaire soient aussi retrouvés dans les feuilles et dans les soies (Granier *et al.*, 2000). Le contrôle de la vitesse d'élongation, quel que soit l'organe, pourrait être lié à une coordination entre la division et l'élongation cellulaire (Fleming, 2005).

La variabilité de la réponse de l'expansion des tissus au déficit hydrique du sol peut avoir différentes origines. Une première hypothèse est basée sur un contrôle hydraulique. Westgate et Boyer (1985) ont montré que les soies avaient de faibles capacités d'ajustement osmotiques en

régime hydrique limitant, tandis que les feuilles maintenaient leur turgescence. Bouchabke *et al.* (2006) rapportent que la turgescence n'est pas maintenue dans les cellules de la zone de croissance des feuilles chez les plantes soumises à une demande évaporative forte, ou à un déficit hydrique du sol. De plus, ils observent qu'il existe une grande variabilité du maintien de la turgescence entre les différentes lignées étudiées. Le maintien de la turgescence pourrait donc être un mécanisme commun nécessaire à la stabilité de la croissance des soies et des feuilles.

On observe, aussi bien chez les feuilles que chez les soies, une diminution de la croissance pendant la journée. Cette décroissance pourrait être liée au contrôle circadien de l'expression des gènes impliqués dans la croissance (expansines, ...) (Harmer *et al.*, 2000), mais des études ont montré que des plantes cultivées dans des conditions environnementales stables ne présentaient pas de décroissance diurne. Cette oscillation jour/nuit semble donc être liée aux variations des conditions environnementales. Nixon *et al.* (2005) ont montré que cette chute de la croissance au cours de la journée pouvait être liée à un effet inhibiteur de la lumière, via la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui induiraient un stress oxydatif, néfaste à la croissance des cellules. Les expériences que nous avons menées en serre montre une décroissance très rapide de la croissance des organes (soies et feuilles) tôt le matin. A l'inverse, la transition était plus lente dans les expérimentations en champ, avec une conductivité hydraulique du sol plus importante que dans nos colonnes de culture (Ben Haj Salah et Tardieu, 1995). Cela renforce encore l'hypothèse d'un contrôle hydraulique de la dépression journalière de la croissance. Il faudrait, pour valider cette hypothèse, pouvoir mesurer la turgescence des cellules directement sur la plante. Ainsi, on pourrait établir une relation directe entre la capacité à maintenir les cellules en turgescence et le maintien de la croissance en situation de stress hydrique.

Une autre hypothèse souvent invoquée dans la bibliographie pour expliquer le maintien ou non du développement reproducteur en situation de déficit hydrique fait intervenir des modifications dans la répartition des ressources carbonées entre les différents organes de la plante. Certains organes seraient privilégiés par rapport à d'autres (par exemple l'épi par rapport à la panicule, ou les soies par rapport aux spathes) et recevraient plus de ressources carbonées ; par conséquent la croissance de ces organes serait favorisée. Certaines de nos observations, comme le fait que les vitesses d'élongation des feuilles et des soies varient en sens inverse pour un même génotype en réponse à la température ou que les spathes soient plus ou moins affectées par le déficit hydrique, pourraient aller dans ce sens. Cependant, nous avons souligné que nos résultats sur la variabilité de la réponse à la température sont très partiels, et qu'une course de vitesse entre l'élongation des soies et spathes, fondée un contrôle hydraulique de l'expansion

peut expliquer le retard de la floraison sans faire intervenir de mécanismes trophiques. De plus, les travaux de Ben Haj Salah (1996) montrent que dans les zones en croissance de feuilles de maïs ayant subi un déficit hydrique modéré, les teneurs en sucres étaient similaires et parfois plus importantes que celles mesurées sur des feuilles ne subissant pas de déficit hydrique. Kim *et al.* (2000) rapportent qu'un gène d'invertase du Maïs (IVR2) est induit en situation de déficit hydrique, permettant le clivage du saccharose en glucose et fructose qui rentrent dans le métabolisme des sucres et augmentent donc le pool global de ressources carbonées disponibles. Ceci entraîne l'accumulation de ces sucres dans les divers organes des plants de maïs en déficit hydrique, mais cette répartition n'est pas forcément différentielle.

Les hypothèses faisant intervenir l'allocation des assimilats carbonés sont souvent fondées sur des relations entre la vitesse de croissance d'un organe et sa biomasse à un stade donné (Edmeades *et al.*, 1993). On peut se demander si c'est une plus forte allocation de ressources trophiques qui favorise la croissance d'un organe, ou si, parce que l'expansion d'un organe est maintenue (via des processus hydrauliques par exemple), la plante va lui affecter plus d'assimilats.

CONCLUSIONS – PERSPECTIVES :

. LES ACQUIS DE LA THESE :

Le présent travail montre en premier lieu que les variations d'ASI en réponse au déficit hydrique sont bien liées à des variations de vitesse de croissance des soies, car l'effet du déficit sur les autres organes (panicule, spathes, pédoncule et épi) a peu d'impact sur l'ASI (chapitre 1).

L'analyse spatio-temporelle des divisions et de l'extension des cellules suggère une base biologique à l'ASI : celle-ci correspond à la durée entre la fin des divisions cellulaires des soies, synchronisée avec la déhiscence des anthères, et le début de l'arrêt de la croissance dans la partie apicale des soies, synchronisée avec la sortie des soies (chapitre 2). Le déficit hydrique réduit les vitesses de division cellulaire et d'extension des tissus, mais ne modifie pas les durées de division cellulaire.

Une méthode de mesure *in situ* de la croissance des soies a été mise au point (chapitre 3). L'analyse des cinétiques de vitesse de croissance des soies indique des différences notables avec les cinétiques de croissance foliaire : en particulier la croissance des soies ne présente pas de phase linéaire. Ceci a nécessité des protocoles expérimentaux adaptés, permettant le calcul de vitesses normalisées, afin de quantifier la réponse de la croissance des soies au déficit hydrique du sol et de l'air. La variabilité des paramètres des courbes de réponse, selon le génotype, a été examinée (chapitre 4). Les résultats obtenus (i) suggèrent une communauté de mécanismes, avec un rôle central des processus hydrauliques, (ii) confortent l'hypothèse d'un déterminisme génétique commun, pour le contrôle des processus d'expansion des tissus dans les soies et dans les feuilles en réponse au dessèchement du sol.

. PERSPECTIVES :

Les résultats obtenus au cours de ce travail ouvrent des perspectives pour la modélisation de la réponse du maïs au déficit hydrique. En effet, ils ont permis de progresser dans l'identification et la hiérarchisation des processus impliqués dans le contrôle de la croissance des organes de maïs en réponse au déficit hydrique, en mettant en évidence le rôle central des processus hydrauliques. Ceci pourrait être conforté par des mesures directes de turgescence dans les zones en croissance, ainsi que par des analyses de transcrits et de métabolites dans des situations et pour des génotypes bien caractérisés.

Modélisation de la croissance des soies

La poursuite du travail de modélisation consistera à traduire en équations les courbes de réponse à la température, à la demande évaporative ($VPD_{epi - air}$) et au dessèchement du sol, obtenues dans le chapitre 3, et à les introduire dans un modèle de croissance des soies fondé sur la cadre d'analyse établi au chapitre 2. Ce modèle devra être confronté aux données acquises via des prélèvements destructifs pendant la phase précoce de croissance des soies dans les spathes, afin de tester sa validité depuis l'initiation jusqu'à la sortie des soies. Dans ce modèle, comme dans celui proposé par Ben Haj Salah et Tardieu (1996) pour les feuilles de maïs, chaque génotype est caractérisé par un jeu particulier de paramètres des courbes de réponse (chapitre 4).

Modélisation de la date de sortie des soies

L'intégration de données décrites dans le chapitre 1, concernant la croissance des différents organes (rafle, pédoncule, spathes) qui contribuent à déterminer la date de sortie des soies, pourrait permettre de simuler la course de vitesse entre les soies et les spathes, sous l'effet des variables environnementales, pour prévoir la date de sortie des soies en fonction du génotype et du scénario climatique.

Intégration dans un modèle de simulation de culture

La poursuite de la caractérisation des génotypes via un jeu de paramètres, et l'intégration de ces paramètres génotypiques dans un modèle de simulation de culture, pourrait aboutir à la prévision du rendement en fonction du couple (génotype x scénario climatique). Ceci constituerait un outil d'aide à la sélection, permettant le test *in silico* de génotypes virtuels présentant le jeu de paramètres valorisant au mieux une situation pédo-climatique donnée (construction d'idéotypes). Une action dans ce sens est en cours, en collaboration avec une équipe australienne (Univ. Queensland, Brisbane) dans le cadre du Challenge Programme Generation, visant à intégrer nos données dans le modèle de culture APSIM.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

- Bassetti P, Westgate ME.** 1993. Emergence, Elongation, and Senescence of Maize Silks. *Crop Science* **33**: 271-275.
- Bassetti P, Westgate ME.** 1993. Senescence and Receptivity of Maize Silks. *Crop Science* **33**: 275-278.
- Bassetti P, Westgate ME.** 1993. Water Deficit Affects Receptivity of Maize Silks. *Crop Science* **33**: 279-282.
- Ben Haj Salah H, Tardieu F.** 1995. Temperature Affects Expansion Rate of Maize Leaves without Change in Spatial-Distribution of Cell Length - Analysis of the Coordination between Cell-Division and Cell Expansion. *Plant Physiology* **109**: 861-870.
- Ben Haj Salah H, Tardieu F.** 1996. Quantitative analysis of the combined effects of temperature, evaporative demand and light on leaf elongation rate in well-watered field and laboratory-grown maize plants. *Journal of Experimental Botany* **47**: 1689-1698.
- Ben Haj Salah H, Tardieu F.** 1997. Control of leaf expansion rate of droughted maize plants under fluctuating evaporative demand - A superposition of hydraulic and chemical messages? *Plant Physiology* **114**: 893-900.
- Bolanos J, Edmeades GO.** 1993. Eight Cycles of Selection for Drought Tolerance in Lowland Tropical Maize .2. Responses in Reproductive-Behavior. *Field Crops Research* **31**: 253-268.
- Bolanos J, Edmeades GO.** 1996. The importance of the anthesis-silking interval in breeding for drought tolerance in tropical maize. *Field Crops Research* **48**: 65-80.
- Bouchabke O, Tardieu F, Simonneau T.** 2006. Leaf growth and turgor in growing cells of maize (*Zea mays* L.) respond to evaporative demand under moderate irrigation but not in water-saturated soil. *Plant Cell and Environment* **29**: 1138-1148.
- Boyer JS, Westgate ME.** 2004. Grain yields with limited water. *Journal of Experimental Botany* **55**: 2385-2394.
- Bruce WB, Edmeades GO, Barker TC.** 2002. Molecular and physiological approaches to maize improvement for drought tolerance. *Journal of Experimental Botany* **53**: 13-25.
- Claassen MM, Shaw RH.** 1970. Water deficit effects on corn. II Grain components. *Agronomy Journal* **62**: 652-655.
- Cosgrove DJ.** 2005. Growth of the plant cell wall. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **6**: 850-861.

- Cramer GR, Bowman DC.** 1991. Kinetics of maize leaf elongation. I. Increased yield threshold limits short-term, steady-state elongation rates after exposure to salinity. *Journal of Experimental Botany* **42**: 1417-1426.
- Dow EW, Daynard TB, Muldoon JF, Major DJ, Thurtell GW.** 1984. Resistance to drought and density stress in Canadian and European maize (*Zea mays* L.) hybrids. *Canadian Journal of Plant Science* **64**: 575-585.
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebus PA, Smith F.** 1956. Colorimetric method for the determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* **28**: 350-356.
- Edmeades GO, Bolanos J, Hernandez M, Bello S.** 1993. Causes for Silk Delay in a Lowland Tropical Maize Population. *Crop Science* **33**: 1029-1035.
- Fiorani F, Beemster GTS, Bultynck L, Lambers H.** 2000. Can meristematic activity determine variation in leaf size and elongation rate among four *Poa* species? A kinematic study. *Plant Physiology* **124**: 845-855.
- Fleming AJ.** 2005. The control of leaf development. *New Phytologist* **166**: 9-20.
- Granier C, Inze D, Tardieu F.** 2000. Spatial distribution of cell division rate can be deduced from that of p34(cdc2) kinase activity in maize leaves grown at contrasting temperatures and soil water conditions. *Plant Physiology* **124**: 1393-1402.
- Granier C, Tardieu F.** 1998. Spatial and temporal analyses of expansion and cell cycle in sunflower leaves - A common pattern of development for all zones of a leaf and different leaves of a plant. *Plant Physiology* **116**: 991-1001.
- Harmer SL, Hogenesch LB, Straume M, Chang HS, Han B, Zhu T, Wang X, Kreps JA, Kay SA.** 2000. Orchestrated transcription of key pathways in Arabidopsis by the circadian clock. *Science* **290**: 2110-2113.
- Herrero MP, Johnson RR.** 1981. Drought stress and its effects on maize reproductive systems. *Crop Science* **21**: 105-110.
- Hsiao TC, Frensch J, Rojas-Lara BA.** 1998. The pressure-jump technique shows maize leaf growth to be enhanced by increases in turgor only when water status is not too high. *Plant Cell and Environment* **21**: 33-42.
- Keating BA, Carberry PS, Hammer GL, Probert ME, Robertson MJ, Holzworth D, Huth NI, Hargreaves JNG, Meinke H, Hochman Z, McLean G, Verburg K, Snow V, Dimes JP, Silburn M, Wang E, Brown S, Bristow KL, Asseng S, Chapman S, McCown RL, Freebairn DM, Smith CJ.** 2003. An overview of APSIM, a model designed for farming systems simulation. *European Journal of Agronomy* **18**: 267-288.

- Kiesselbach TA.** 1949. The structure and reproduction of corn. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, USA. 101 p.
- Kim JY, Mahe A, Brangeon J, Prioul JL.** 2000. A maize vacuolar invertase, IVR2, is induced by water stress. Organ/tissue specificity and diurnal modulation of expression. *Plant Physiology* **124**: 71-84.
- Liang BM, Sharp RE, Baskin TI.** 1997. Regulation of growth anisotropy in well-watered and water-stressed maize roots .1. Spatial distribution of longitudinal, radial, and tangential expansion rates. *Plant Physiology* **115**: 101-111.
- Lizaso JI, Batchelor WD, Westgate ME.** 2003. A leaf area model to simulate cultivar-specific expansion and senescence of maize leaves. *Field Crops Research* **80**: 1-17.
- Lockhart JA.** 1965. An analysis of irreversible plant cell elongation. *Journal of Theoretical Biology* **8**: 264-275.
- Maksymowych R.** 1973. Cell division. In R Maksymowych, ed, *Analysis of leaf development*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp 44-49.
- Maksymowych R.** 1973. Cell enlargement and differentiation. In R Maksymowych, ed, *Analysis of leaf development*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp 50-57.
- Maton C.** 2005. Existe -t-il un déterminisme génétique commun au maintien de la croissance végétative et du développement reproducteur chez les maïs en conditions de stress hydrique ? Diplôme d'Agronomie Approfondie, INA Paris-Grignon, Paris, France. 23 p.
- McLaughlin JE, Boyer JS.** 2004. Glucose localization in maize ovaries when kernel number decreases at low water potential and sucrose is fed to the stems. *Annals of Botany* **94**: 75-86.
- Mironov V, De Veylder L, Van Montagu M, Inze D.** 1999. Cyclin-dependent kinases and cell division in plants - The nexus. *Plant Cell* **11**: 509-521.
- Muller B, Bourdais G, Reidy B, Bencivenni C, Massonneau A, Condamine P, Rolland G, Conejero G, Rogowsky P, Tardieu F.** 2007. Association of specific expansins with longitudinal and lateral expansion in maize leaves is maintained under environmental, genetic and developmental sources of variation. *Plant Physiology* **143**: doi:10.1104/pp.1106.087494.
- Muller B, Reymond M, Tardieu F.** 2001. The elongation rate at the base of a maize leaf shows an invariant pattern during both the steady-state elongation and the establishment of the elongation zone. *Journal of Experimental Botany* **52**: 1259-1268.
- Muller B, Stosser M, Tardieu F.** 1998. Spatial distributions of tissue expansion and cell division rates are related to irradiance and to sugar content in the growing zone of maize roots. *Plant Cell and Environment* **21**: 149-158.

- NeSmith DS, Ritchie JT.** 1992. Effects of soil water-deficits during tassel emergence on development and yield component of maize (*Zea mays*). *Field Crops Research* **28**: 251-256.
- Nixon PJ, Barker M, Boehm M, de Vries R, Komenda J.** 2005. FtsH-mediated repair of the photosystem II complex in response to light stress. *Journal of Experimental Botany* **56**: 357-363.
- Otegui ME, Andrade FH, Suero EE.** 1995. Growth, Water-Use, and Kernel Abortion of Maize Subjected to Drought at Silking. *Field Crops Research* **40**: 87-94.
- Reymond M.** 2001. Variabilité Génétique des réponses de la croissance foliaire du maïs à la température et au déficit hydrique. Combinaison d'un modèle écophysiological et d'une analyse QTL. Thèse de Doctorat, ENSAM, Montpellier, France. 70 p.
- Reymond M, Muller B, Leonardi A, Charcosset A, Tardieu F.** 2003. Combining quantitative trait loci analysis and an ecophysiological model to analyze the genetic variability of the responses of maize leaf growth to temperature and water deficit. *Plant Physiology* **131**: 664-675.
- Reymond M, Muller B, Tardieu F.** 2004. Dealing with the genotype x environment interaction via a modelling approach: a comparison of QTLs of maize leaf length or width with QTLs of model parameters. *Journal of Experimental Botany* **55**: 2461-2472.
- Ribaut JM, Bänziger M, Setter T, Edmeades GO, Hoisington DA.** 2004. Genetic dissection of drought tolerance in maize: a case study. In H Nguyen, A Blum, eds, *Physiology and biotechnology integration for plant breeding*. Marcel Dekker Inc., New York, USA, p 571–611.
- Ribaut JM, Hoisington DA, Deutsch JA, Jiang C, Gonzalez de Leon D.** 1996. Identification of quantitative trait loci under drought conditions in tropical maize .11. Flowering parameters and the anthesis-silking interval. *Theoretical and Applied Genetics* **92**: 905-914.
- Sacks MM, Silk WK, Burman P.** 1997. Effect of water stress on cortical cell division rates within the apical meristem of primary roots of maize. *Plant Physiology* **114**: 519-527.
- Sadok W.** 2005. Méta-analyse de cinétiques de croissance foliaire en conditions hydriques fluctuantes, chez deux populations de lignées recombinantes de maïs. Thèse de Doctorat, ENSAM, Montpellier, France. 100 p.
- Sadok W, Naudin P, Boussuge B, Muller B, Welcker C, Tardieu F.** 2006. Leaf growth rate per unit thermal time follows QTL-dependent daily patterns in hundreds of maize lines under naturally fluctuating conditions. *Plant Cell and Environment*: doi:10.1111/j.1365-3040.2006.01611.x.
- Schnyder H, Nelson CJ.** 1989. Growth rates and assimilation positioning in the elongation zone of tall fescue leaf blades at high and low irradiance. *Plant Physiology* **90**: 1201-1206.

- Schussler JR, Westgate ME.** 1991. Maize kernel set at low water potential: I. Sensitivity to reduced assimilates during early kernel growth. *Crop Science* **31**: 1189-1195.
- Schussler JR, Westgate ME.** 1991. Maize kernel set at low water potential: II. Sensitivity to reduced assimilates at pollination. *Crop Science* **31**: 1196-1203.
- Silk WK.** 1992. Steady Form from Changing Cells. *International Journal of Plant Sciences* **153**: S49-S58.
- Tardieu F, Granier C.** 2000. Quantitative analysis of cell division in leaves: methods, developmental patterns and effects of environmental conditions. *Plant Molecular Biology* **43**: 555-567.
- Tardieu F, Granier C, Muller B.** 1999. Modelling leaf expansion in a fluctuating environment: are changes in specific leaf area a consequence of changes in expansion rate? *New Phytologist* **143**: 33-44.
- Walter A, Spies H, Terjung S, Kusters R, Kirchgessner N, Schurr U.** 2002. Spatio-temporal dynamics of expansion growth in roots: automatic quantification of diurnal course and temperature response by digital image sequence processing. *Journal of Experimental Botany* **53**: 689-698.
- Welcker C, Boussuge B, Bencivenni C, Ribaut JM, Tardieu F.** 2006. Are source and sinks strengths genetically linked in maize plants subjected to water deficit? A QTL study of the responses of leaf growth and of Anthesis-Silking Interval to water deficit. *Journal of Experimental Botany*: doi:10.1093/jxb/erl1227.
- Westgate ME, Boyer JS.** 1985. Osmotic adjustment and the inhibition of leaf, root, stem and silk growth at low water potentials in maize. *Planta* **164**: 540-549.
- Westgate ME, Boyer JS.** 1986. Reproduction at low silk and pollen water potentials in maize. *Crop Science* **26**: 951-956.
- Westgate ME, Boyer JS.** 1986. Silk and pollen water potentials in maize. *Crop Science* **26**: 947-951.
- Wu YJ, Meeley RB, Cosgrove DJ.** 2001. Analysis and expression of the alpha-expansin and beta-expansin gene families in maize. *Plant Physiology* **126**: 222-232.
- Zinselmeier C, Jeong BR, Boyer JS.** 1999. Starch and the control of kernel number in maize at low water potentials. *Plant Physiology* **121**: 25-35.

Analyse de la croissance des soies de plantes de maïs soumises à des déficits hydriques édaphiques et atmosphériques

Résumé : Le décalage entre les floraisons mâle et femelle (ASI) est lié génétiquement à la perte de rendement en déficit hydrique, puisque les génotypes présentant les ASI les plus élevés en déficit hydrique sont ceux qui maintiennent le moins bien le rendement. Le présent travail montre tout d'abord que les variations d'ASI sont liées à des variations de vitesse de croissance des soies. L'analyse spatiale et temporelle des divisions et de l'extension des cellules dans les soies suggère une base biologique à l'ASI : elle correspond à la durée entre la fin des divisions cellulaires dans les soies, synchrones avec la déhiscence des anthères, et le début de l'arrêt de la croissance dans la partie apicale des soies, synchrones avec la sortie des soies. Une méthode de mesure in situ de la croissance des soies a été mise au point. L'analyse des cinétiques de vitesse de croissance des soies indique une forte similitude avec les cinétiques de croissance foliaire. La réponse de la croissance des soies à la température, au déficit hydrique du sol et de l'air a été quantifiée, et la variabilité des paramètres des courbes de réponse, selon le génotype, a été examinée. Les résultats obtenus suggèrent que les mécanismes impliqués dans le contrôle de l'extension des tissus en réponse au déficit hydrique du sol et de l'air sont communs aux feuilles et aux soies, avec un rôle central des processus hydrauliques. Ils confortent l'hypothèse d'un déterminisme génétique commun aux deux tissus pour le maintien de la croissance en conditions de sécheresse.

Mots clés : *Zea mays* L., ASI (intervalle floraison mâle – floraison femelle), analyse de la croissance, soies, déficit hydrique, $VPD_{\text{épi-air}}$, modélisation.

Analysis of silk growth of maize plants subjected to water deficits and high evaporative demand

Summary : Drought tolerance in maize is associated to the maintenance of a short anthesis-to-silking interval (ASI) under water stress. The present study firstly shows that the variations of ASI in response to soil and air water deficits are explained by variations of silk elongation rate. A spatial and temporal analysis of cell division and elongation in silk tissues suggests a biological basis for ASI : it corresponds to the duration between the end of cell division in the silk, coinciding with anthesis, and the arrest of cell growth in the apical part of the silk, coinciding with silking. A non-destructive method was developed to continuously record silk elongation rate. Kinetics of silk elongation rate shared strong similarities with those of leaf growth. The response of silk growth to drought was quantified as a function of temperature, soil water potential and air evaporative demand. The variability of the parameters was examined across genotypes with contrasted ASI or leaf growth under water deficit. Our results suggest that the mechanisms involved in the control of tissue elongation in plants subjected to soil and air drying could be common to leaves and silks, and mainly relevant to hydraulics. They reinforce the hypothesis of a common genetic determinism for the maintenance of elongation in both tissues under drought.

Key words : *Zea mays* L., ASI (Anthesis-silking Interval), growth analysis, silk growth, water deficit, evaporative demand, model.