



**HAL**  
open science

# Architecture hydraulique d'une talle de fétuque élevée (*festuca arundinacea schreb.*). Implications pour les relations entre la transpiration et l'expansion foliaire.

Pierre Martre

## ► To cite this version:

Pierre Martre. Architecture hydraulique d'une talle de fétuque élevée (*festuca arundinacea schreb.*). Implications pour les relations entre la transpiration et l'expansion foliaire.. Sciences du Vivant [q-bio]. Région Poitou-Charentes; Université de Poitiers, 1999. Français. NNT: . tel-02840874

**HAL Id: tel-02840874**

**<https://hal.inrae.fr/tel-02840874>**

Submitted on 7 Jun 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# THESE

pour l'obtention du grade de  
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE POITIERS  
(Faculté des Sciences Fondamentales et Appliquées)  
(Diplôme National – Arrêté du 30 mars 1992)

Secteur de Recherche : Physiologie, Biologie des Organismes, Population, Interactions

Présentée par :

**Pierre MARTRE**

---

## **Architecture Hydraulique d'une Talle de Fétuque Élevée (*Festuca arundinacea* Schreb.).**

### **Implications pour les Relations entre la Transpiration et l'Expansion Foliaire.**

---

Directeur de Thèse : Claude Varlet-Grancher

Encadrant directe : Jean-Louis Durand

Coencadrant : Bruno Moulia et Hervé Cochard

Soutenue le 21 décembre 1999

devant la Commission d'Examen

---

### **Jury**

<b>J.L. Bonnemain</b>	Professeur, Université de Poitiers	Président
<b>W.K. Silk</b>	Professeur, Université de Californie Davis, USA	Rapporteur
<b>P. Cruiziat</b>	Directeur de Recherche, INRA de Clermont-F <sup>d</sup>	Rapporteur
<b>H. Cochard</b>	Chargé de Recherche, INRA de Clermont-F <sup>d</sup>	Examineur
<b>S. Delrot</b>	Professeur, Université de Poitiers	Examineur
<b>J.L. Durand</b>	Chargé de Recherche, INRA de Lusignan	Examineur
<b>C. Varlet-Grancher</b>	Directeur de Recherche, INRA de Lusignan	Examineur

## AVANT-PROPOS

Cette thèse de doctorat délivrée par l'Université de Poitiers a été réalisée dans l'Unité d'Ecophysiologie des Plantes Fourragères de Lusignan (INRA), sous la direction de Jean Louis Durand. Les aspects croissance et hydraulique ont été co-encadrés respectivement par Bruno Moulia et Hervé Cochard. Ce travail a été rendu possible grâce à un cofinancement, de la Région Poitou-Charentes et de L'INRA, dans le cadre du XI plan Etat-Région.

Ce travail est présenté sous la forme d'une synthèse, en français, et de trois publications rédigées en anglais. Dans la synthèse nous faisons référence à des figures présentées dans les publications. Ces figures sont identifiées par l'article dans lequel elles apparaissent (I, II ou III selon l'ordre de leur présentation) et par leur numérotation respective dans chacune des publications. Certaines figures sont propre à la synthèse et sont référencées uniquement par une seule numérotation.

### *Publications dans des revues à comité de lecture*

**Martre P, Bogeat-Triboulot MB, Durand JL. 1999.** Measurement of a growth-induced water potential gradient in tall fescue leaves. *New Phytologist* **142**: 435-439.

**Martre P, Durand JL, Cochard H. 2000.** Changes in axial hydraulic conductivity along elongating leaf blades in relation to xylem maturation in tall fescue. *New Phytologist* **146**(2): 235-247.

**Martre P, Cochard H, Durand JL. 200?.** Hydraulic architecture and water flows in a growing grass (*Festuca arundinacea* Schreb.). Modelling steady state plant water status. In preparation.

### *Communications dans des séminaires ou des congrès*

**Martre P, Durand JL, Cochard H. 1998.** Water conductivity of mature and growing leaves in tall fescue. *Journal of Experimental Botany* **49s**: 7. (IV<sup>th</sup> Annual meeting of the Society of Experimental Botany, York, England, 23<sup>rd</sup>-27<sup>th</sup> March 1998). [Poster]

**Martre P. 1998.** Conductivité hydraulique des feuilles matures et en croissance de fétuque élevée. *Flux d'eau dans les organes en croissance. Modèle à l'échelle de la plante entière*. Compte rendu réunion interne INRA, 19 Janvier 1998, Paris. [Orale]

**Martre P, Durand JL, Cochard H, André JP. 1999.** Conductivité hydraulique axiale de la feuille en croissance de fétuque élevée en relation avec la maturation du xylème. *Réunion du groupe de travail Xylem*, 17 mai 1999, Clermont-Ferrand. [Orale]

## *REMERCIEMENTS*

Une thèse, tant nominative soit elle, est avant tout un travail de réflexion collectif et c'est avec un grand plaisir que je tiens à remercier toutes les personnes qui ont participé à ce travail.

Tout d'abord je remercie Jean Louis Durand qui m'a proposé ce sujet de thèse. Il a su guider ce travail de recherche, tout en me laissant beaucoup d'autonomie et je le remercie pour la confiance qu'il m'a toujours témoigné. C'est avec beaucoup de patience et de sympathie qu'il m'a fait partager ses connaissances et ses points de vues.

Je tiens tout particulièrement à remercier Bruno Moulia, qui a très activement participé à l'encadrement de cette thèse (sa rigueur scientifique sans faille m'a remis de nombreuses fois dans le droit chemin). Un grand merci pour son aide scientifique qui m'a permis de progresser dans la réalisation de cette étude, sa patience, ses encouragements, et son amitié. Bise à Christine.

A special thank à Hervé Cochard pour son investissement dans ce travail sur la fétuque "forestière". Merci pour toutes nos discussions, ton optimisme flegmatique, et mille et une astuces de paillasse, ainsi que pour ton amitié.

Je tiens à remercier vivement Béatrice Bogeat-Triboulot, qui s'est également beaucoup investie dans ce travail et avec qui j'ai passé de très bons moments à Nancy. Je voudrais également remercier toutes les personnes de l'Equipe d'Ecophysiologie du centre INRA de Nancy pour leur aide et la sympathie qu'elles m'ont témoignée durant mon séjour dans leur forêt.

Mes remerciements vont également à Jean Pierre André qui m'a permis de voir la circulation de l'eau dans la plante d'une manière différente. Je le remercie pour son accueil chaleureux (et la soupe au pistou).

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à Wendy Silk et Pierre Cruiziat, pour avoir accepté de suivre ce travail ; pour les conseils et les encouragements qu'ils m'ont donnés au cours des discussions que nous avons pu avoir. Je les remercie également pour avoir accepté la charge de rapporteur.

Je remercie Monsieur le professeur Jean Louis Bonnemain, de m'avoir encouragé à m'engager dans une étude sur la maturation du xylème, et l'utilisation de la technique de micromoulage avec Jean Pierre André. Je le remercie également pour avoir accepté de présider le jury.

Je remercie également Pierrette Fleurat-Lessard pour ses conseils et Collette Besse pour son aide et son accueil au SIMIS à l'Université de Poitiers.

Je remercie Monsieur le professeur Serge Delrot et Claude Varlet-Grancher pour avoir accepté d'examiner ce mémoire.

Je suis très reconnaissant du soutien et de la bonne humeur quotidienne de toute l'Unité d'Ecophysiologie des Plantes Fourragères de l'INRA de Lusignan. D'une part, l'équipe scientifique (Francois Gastal, Claude Varlet-Grancher, Gilles Lemaire, Florence Tayot, Jean Louis Durand et Bruno Moulia), pour l'ensemble des discussions qui m'ont beaucoup aidé. D'autre part, l'équipe technique (Louissette Couson, Claude Cantot, Annie Epinchard, Gilles Millet, Pascal Poussot, Christophe de Berranger et Jean Pierre Terrasson) pour leur aide au quotidien. Merci à tous.

Je veux également remercier Yannick Hebert et Philippe Barre de l'Unité de Génétique et d'Amélioration des Plantes Fourragères qui m'ont donné accès à leur équipement.

Merci à Pierre Cantot et à Gilles Millet pour avoir combattu avec tant de persévérance les micro-gremlins de mes plantouses.

Merci à tous les copains, pour les discussions animées, les 'ti punch et le Colombo de Dydyè, les poissons fumants de chez Arlette, les matchs de tennis acharnés (qui m'ont coûté une raquette) avec Oliv et Xavier, et merci à Flo, ma comparse de bureau, pour ses coups de mains et son rire communicatif.... sans oublier la petite Alexiane pour m'avoir accordé une danse sur Wild Wild West.

En terminant ces remerciements qui achèvent trois années de travail qui ont absorbé beaucoup de mon temps libre, j'ai une pensée particulière pour Claire, qui m'a soutenu et m'a suivi depuis Montpellier. Merci pour tout.....

**RESUME** - L'objectif de cette thèse était d'analyser et de quantifier, d'un point de vue hydraulique, le couplage entre la transpiration et la croissance foliaire d'une talle de fétuque élevée. En condition de faible transpiration, nous avons mesuré une différence de potentiel hydrique induite par la croissance de 0.3 MPa. Le long de la zone de croissance, la continuité hydraulique du protoxylème est assurée par la plasticité des vaisseaux et leur maturation échelonnée dans le temps. Le dépôt local d'eau est corrélé à la surface d'échange entre le protoxylème et les cellules en expansion. Du fait de la maturation des vaisseaux de métaxylème, la conductivité hydraulique du xylème ( $K_h$ ) augmente d'un facteur 25 dans la zone de maturation. Le profil spatial de  $K_h$  dans les feuilles matures a une forme en cloche, avec un maxima près de la ligule. Nous avons mesuré la conductance totale du système racinaire et des limbes en croissance et matures. Nous avons utilisé un modèle d'analogie électrique pour calculer la conductance radiale spécifique foliaire des limbes, ainsi que pour calculer les flux et les potentiels hydriques locaux dans la talle en croissance. Les variables d'entrée de ce modèle sont : (i) les conductances radiale et axiale, (ii) les flux de transpiration et de croissance des différentes feuilles de la talle. Cette modélisation de l'architecture hydraulique de la talle nous a permis de montrer que, (i) dans les feuilles matures, l'anisotropie des conductances radiale et axiale entraîne une homogénéisation du potentiel hydrique du xylème, (ii) dans les feuilles en croissance, la faible  $K_h$  dans la partie basale entraîne un fort gradient de potentiel hydrique dans cette partie du xylème de la feuille, qui réduit la différence de potentiel hydrique induite par la croissance. L'ensemble de ces résultats montre que la croissance peut être limitée par la disponibilité de l'eau, qui dépend fortement du flux de transpiration des différentes feuilles de la talle. De plus, notre travail expérimental et de modélisation met en évidence l'apport d'une approche hydraulique seule à même d'intégrer les relations locales entre la structure et l'état hydrique de la plante.

**Mots-clés** : architecture hydraulique, cinématique de la croissance, conductivité hydraulique, croissance foliaire, fétuque élevée (*Festuca arundinacea* Schreb.), maturation du xylème, modélisation, potentiel hydrique, relation hydrique, transpiration.

---

**SUMMARY** – In this study, the hydraulic relations between transpiration and leaf growth of tall fescue tiller are quantitatively analysed. In growing leaves, we measured a growth induced water potential difference of 0.3 MPa, in low transpiration conditions. Continuous vessel maturation and the structural plasticity of the vessels maintained protoxylem continuity along the elongation zone. The local water deposition rate was closely correlated to the contact area between the protoxylem and the expanding cells. As metaxylem vessels matured in the maturation zone of the leaves, the xylem hydraulic conductivity ( $K_h$ ) increased by 25-folds. In mature leaves, the spatial distribution of  $K_h$  had a bell shape, with a maximum near the blade joint. Total hydraulic conductance was measured in entire root system, mature blades and growing blades, using a new vacuum induced water flux technique. Then, an electric analogue model was used to compute the leaf-area specific hydraulic conductance of the blades, the local steady state water fluxes and water potentials in a growing tiller. The input variables were the measured radial and axial conductance, and the transpiration and growth induced water flux of each leaves. Predicted and measured water potentials matched well. In mature leaves, a low and homogenous xylem water potential gradient was found. In opposition, in elongating leaves, low  $K_h$  in the basal growing region dramatically increased the xylem water potential gradient. Hence strongly reducing the growth induced water potential difference. All these results support the hypothesis that growth is limited by the water availability, which strongly depends on the transpiration rate. It is argued that hydraulic architecture studies are the only way to build up the local structural properties into whole plant hydraulic behaviour.

**Key-words**: elongation zone (grass), growth kinematics, hydraulic architecture, hydraulic conductivity, leaf growth, modelling, leaf transpiration, water potential, water relations, tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.), xylem maturation.

## TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	13
IMPORTANCE DE L'EAU POUR LA CROISSANCE ET LE DÉVELOPPEMENT DES VÉGÉTAUX	13
IMPORTANCE ET NÉCESSITÉ DE LA TRANSPIRATION .....	14
CROISSANCE ET TRANSPIRATION .....	15
CONTEXTE DE L'ÉTUDE .....	16
OBJECTIFS DE L'ÉTUDE .....	18
SYNTHÈSE .....	21
MORPHOLOGIE ET ANATOMIE GÉNÉRALE DES GRAMINÉES .....	21
<i>La talle : unité structurale et fonctionnelle des graminées.....</i>	<i>21</i>
<i>La feuille .....</i>	<i>22</i>
VASCULARISATION DES GRAMINÉES .....	24
<i>Ultrastructure des éléments conducteurs du xylème .....</i>	<i>24</i>
<i>Vascularisation des feuilles.....</i>	<i>27</i>
Feuilles matures .....	27
Feuilles en croissance .....	29
<i>Vascularisation des zones nodales .....</i>	<i>31</i>
CROISSANCE FOLIAIRE DES GRAMINÉES .....	33
<i>Cinétique de croissance d'une feuille.....</i>	<i>33</i>
<i>Localisation de la croissance .....</i>	<i>34</i>
Zone de division cellulaire.....	34
Zone d'élongation cellulaire.....	35
BASES BIOMÉCANIQUES DU GRANDISSEMENT CELLULAIRE .....	36
<i>Le modèle de Lockhart.....</i>	<i>36</i>
Aspect mécanique .....	36
Aspect hydraulique.....	37
Couplage des aspects mécanique et hydraulique .....	37
Passage de la cellule à l'organe.....	38
<i>Contrôle biophysique de la croissance à l'échelle tissulaire .....</i>	<i>39</i>
Variations développementales.....	39
Variations en fonction des conditions de croissance .....	40
RELATIONS ENTRE LA TRANSPIRATION ET LA CROISSANCE FOLIAIRE.....	41
CIRCULATION ET COMPARTIMENTATION DE L'EAU DANS LA PLANTE .....	43
<i>Bases thermodynamiques des mouvements d'eau en phase liquide.....</i>	<i>44</i>
<i>Absorption racinaire.....</i>	<i>49</i>
Sites d'absorption.....	49
Localisation de la résistance radiale au flux d'eau.....	50
Couplage du flux d'eau et de solutés .....	50
<i>Le trajet xylémien .....</i>	<i>52</i>
Conductivité hydraulique axiale.....	52
Cavitation et Embolie .....	54
<i>Trajets extravasculaires de l'eau dans les feuilles.....</i>	<i>55</i>
Flux de transpiration.....	55
Flux de réhydratation.....	57
Flux de croissance .....	58
CONCLUSION DE LA SYNTHÈSE ET STRATÉGIE D'ÉTUDE .....	64
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	66
PUBLICATION 1 .....	83
PUBLICATION 2 .....	91
PUBLICATION 3 .....	114
CONCLUSIONS & PERSPECTIVES .....	143

## *INTRODUCTION*

---



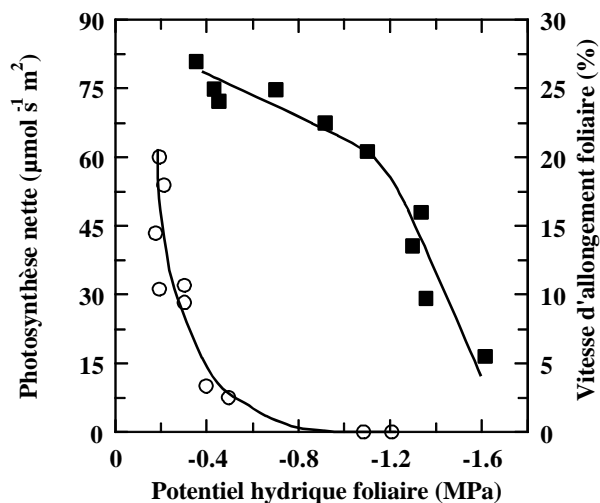
# *INTRODUCTION*

## *IMPORTANCE DE L'EAU POUR LA CROISSANCE ET LE DEVELOPPEMENT DES VEGETAUX*

L'eau est la ressource naturelle qui limite le plus les rendements en agriculture (Boyer, 1982) et les contraintes hydriques sont à l'origine des plus fortes variations interannuelles de rendement. Une diminution de la teneur en eau de la plante se traduit immédiatement par une réduction de la croissance en dimension, avant même que la photosynthèse ne soit affectée (figure 1, Boyer, 1970 ; Acevedo, Hsiao & Henderson, 1971 ; Barlow, Boersma & Young, 1977). (Turner, 1997). L'augmentation de rendement du soja, entre 1935 et 1975, due au progrès génétique est corrélée à une augmentation du potentiel hydrique foliaire moyen la journée (Boyer, Johnson & Saupe, 1980).

L'importance écologique de l'eau résulte de son importance physiologique. L'eau est le constituant pondéral le plus important des végétaux (50 % à 90 % de leur masse de matière fraîche). Elle est le milieu dans lequel a lieu la quasi-totalité des réactions biochimiques ; elle joue le rôle de solvant, de substrat et de catalyseur. Par la pression qu'elle exerce sur les parois, l'eau permet la turgescence cellulaire qui est indispensable au port érigé des plantes herbacées et à l'expansion cellulaire dans les tissus en croissance. La turgescence est également à la base des mouvements d'organes (feuilles, étamines) et de cellules (stomates). A l'échelle de l'organisme, l'eau permet de véhiculer les substances nutritives, les déchets du catabolisme et les phytohormones. L'importance de l'eau dans les processus physiologiques est telle que McIntyre (1987) a suggéré que l'eau soit un facteur majeur de la régulation de la croissance et que certaines fonctions physiologiques des phytohormones pourraient être de réguler l'état hydrique des cellules.

L'eau est donc impliquée tant dans les structures que dans les processus de transport et le métabolisme des plantes.



**Figure 1**

Relation entre la vitesse d'allongement foliaire (○), la photosynthèse nette (■) et le potentiel hydrique foliaire chez le maïs (d'après Boyer, 1970).

### IMPORTANCE ET NECESSITE DE LA TRANSPIRATION

Les plantes sont à l'interface entre deux milieux – le sol et l'atmosphère – avec lesquels elles entretiennent des échanges de matière et d'énergie. D'un point de vue hydrique la plante constitue un maillon du continuum sol-plante-atmosphère dans lequel s'effectue divers processus de transfert, de manières plus ou moins interdépendantes.

La transpiration définie comme la perte d'eau à l'état de vapeur par les feuilles, correspond d'un point de vue physique à une évaporation. La transpiration exige donc un apport d'énergie fourni essentiellement par le rayonnement incident. La transpiration dépend, en outre, de la température et de l'hygrométrie de l'air, de la forme et de la disposition des feuilles, des résistances à la diffusion des gaz opposées par les stomates et par la couche limite d'air (fonction du vent) qui entoure les feuilles (Nobel, 1999).

La transpiration est le processus majeur des relations hydriques de la plante, par son importance quantitative et en conséquence par son rôle majeur dans la détermination de l'état hydrique de la plante. Au cours d'une belle journée d'été, un pied de maïs peut perdre 50% de son poids d'eau en 24 heures. L'évaporation de l'eau crée un gradient de potentiel chimique de l'eau qui est le moteur des mouvements d'eau dans la plante. La transpiration permet également aux feuilles de dissiper, sous forme de chaleur latente, une partie de l'énergie qu'elles reçoivent et limite ainsi leur échauffement (Sheehy *et al.*, 1998).

La transpiration est souvent considérée comme un "mal inévitable" ; un mal parce qu'elle peut entraîner la déshydratation de la plante, inévitable du fait de la structure des feuilles et de la nécessité vitale pour la plante des échanges gazeux. Il existe une forte dualité entre la transpiration et la photosynthèse. Le dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ) et l'eau empruntent le même trajet. L'augmentation de la conductivité, liée à l'ouverture stomatique, augmente donc potentiellement le taux de photosynthèse et de transpiration. Mais le bénéfice photosynthétique, d'une augmentation de la diffusion du  $\text{CO}_2$  dans la feuille, est contrebalancé par le "coût" de l'augmentation concomitante de la transpiration. Ce coût de la transpiration peut inclure une diminution de la capacité photosynthétique du mésophylle due à une diminution du potentiel hydrique foliaire<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Certaines plantes adaptées aux milieux arides, tels que les Cactées (Cactacées) et les Sédums (Crassulacées), font face à ce dilemme grâce à leur métabolisme CAM (Crassulacean Acid Metabolism) qui leur permet de fixer le  $\text{CO}_2$  la nuit lorsque la demande évaporatoire est faible.

Le rapport entre le taux de transpiration et le taux d'assimilation du CO<sub>2</sub> définit, aux échelles de la feuille et instantanée, l'efficacité d'utilisation de l'eau (EUE)<sup>1</sup>. L'EUE est un paramètre écologique important et utile, qui détermine, en partie au moins, l'adaptation des plantes à la sécheresse (Cowan, 1986).

## CROISSANCE ET TRANSPIRATION

La croissance en volume d'un organe résulte essentiellement de l'expansion cellulaire. Le grandissement cellulaire et l'alimentation hydrique sont fortement couplés, puisque l'accroissement de volume d'une cellule est avant tout (en proportion) un accroissement de volume d'eau. Cependant la quantité d'eau destinée à la croissance est souvent très faible comparée au flux d'eau transpiré (environ 1%) (Boyer, 1974 ; Boyer, 1977).

A l'échelle de la plante, les interactions entre la transpiration et la croissance sont multiples et complexes. Toutefois, de manière globale, toute régulation du fonctionnement de la plante ayant pour effet de réduire la transpiration – à température constante – est accompagnée d'une augmentation de la vitesse de croissance foliaire et, *vice versa* (Boyer, 1985). Si beaucoup d'études ont mis en évidence ce couplage entre la transpiration et la croissance foliaire, très peu se sont penchées sur les mécanismes de cette interaction. L'eau destinée à la croissance doit, *a priori*, provenir de la même source – le xylème – que l'eau de la transpiration. Lorsque la transpiration augmente, la diminution du potentiel hydrique du xylème réduit la disponibilité en eau pour la croissance des parties aériennes. La croissance et la transpiration apparaissent donc comme deux processus consommateurs d'eau potentiellement en compétition. La disponibilité de l'eau est un élément important de l'interaction entre la croissance et la transpiration. Cependant, des régulations d'ordres biologiques doivent également être prises en compte (*e.g.* extensibilité des parois, disponibilité en solutés, variations de perméabilité) (Frensch, 1997).

Les études menées jusqu'à présent ne permettent pas de relier dans un cadre conceptuel cohérent les différents flux d'eau de la plante, la pression de turgescence et le comportement bio-rhéologique des tissus en croissance. Les techniques d'étude des relations hydriques progressent, allant à une échelle toujours plus fine, mais nous avons de plus en plus de difficultés à relier les comportements et mécanismes que nous observons à l'échelle de l'organe et de la cellule au comportement de la plante entière – et plus encore s'il s'agit d'intégrer ces mécanismes à l'échelle du peuplement. C'est sûrement dans cette intégration de l'échelle infra à l'échelle supra que réside la valeur et la pertinence de la modélisation en écophysiologie (Passioura, 1979 ; Passioura, 1996).

Ce type d'approche plus mécaniste, nécessite que l'on établisse un modèle hydraulique à l'échelle de la plante en prenant en compte de façon explicite les mécanismes de la croissance. Les relations plante-eau sont souvent traitées par une approche de type boîte noire, une meilleure connaissance des relations structure/fonction dans la plante nous permettrait de localiser les points de contrôle biologiques potentiels.

---

<sup>1</sup> L'EUE moyennée sur une journée est de l'ordre de 0.4 à 1.2 mmolCO<sub>2</sub> mmol<sup>-1</sup>H<sub>2</sub>O pour une feuille de type C<sub>3</sub>, 0.8 à 2 mmolCO<sub>2</sub> mmol<sup>-1</sup>H<sub>2</sub>O pour une feuille de type C<sub>4</sub> et 4 à 16 mmolCO<sub>2</sub> mmol<sup>-1</sup>H<sub>2</sub>O pour une feuille de type CAM (Nobel, 1999).

## CONTEXTE DE L'ETUDE

Le travail présenté ici peut être replacé dans le cadre général de la thématique de l'unité d'*Ecophysiologie des Plantes Fourragères de Lusignan* où il s'est déroulé. Le cadre général du travail de l'unité est l'analyse et la modélisation du fonctionnement des peuplements fourragers sous contraintes environnementales (azote, lumière, température et eau).

De par leurs modes d'exploitation (pâturage ou fauche), les prairies sont régulièrement défoliées. Chaque coupe supprime la surface foliaire photosynthétiquement active. La pérennité et la productivité d'une prairie dépendent donc de la vitesse de mise en place de la surface foliaire. Chez les graminées, la mise en place de la surface foliaire dépend d'une part du tallage, et d'autre part de la croissance foliaire. En condition de peuplement dense et de forte compétition intraspécifique (état normal des prairies) la mise en place de la surface foliaire dépend essentiellement de la vitesse de croissance foliaire (Nelson, Asay & Sleper, 1977 ; Horst, Nelson & Asay, 1978 ; Agnusdei, 1999). De plus, dans le cas des graminées fourragères, la partie récoltable de la biomasse est exclusivement composée des feuilles. Ces considérations justifient d'étudier tout particulièrement la croissance foliaire.

La culture des prairies est conduite sans irrigation, les prairies sont donc régulièrement soumises à des déficits hydriques du sol. Il est donc particulièrement important d'étudier la croissance foliaire et sa modulation par l'état hydrique à la fois du sol et de la plante.

On peut distinguer deux types de contraintes hydriques. Les contraintes édaphiques, qui correspondent à une disponibilité en eau réduite dans le sol. La cinétique d'établissement d'un déficit hydrique édaphique est lente et dépend de la vitesse de dessèchement du sol. Elles sont qualifiées de contraintes statiques, car elles se manifestent même en l'absence de flux d'eau à travers la plante. A ces contraintes édaphiques s'ajoutent des contraintes atmosphériques. Lorsque la demande évaporatoire augmente, les pertes d'eau par transpiration créent un flux d'eau dans la plante, qui du fait des résistances aux mouvements d'eau dans le sol et la plante, entraînent une altération de l'état hydrique de la plante. Ce type de contraintes est qualifié de dynamique, car elles sont associées à la circulation de l'eau dans la plante. Les contraintes dynamiques peuvent se définir par l'intensité de la transpiration, elle-même définie par la demande évaporatoire, qui est essentiellement déterminée par la température des feuilles (fonction du rayonnement incident) d'une part, et par l'humidité et la température de l'air d'autre part. Une forte demande évaporatoire amplifie les conséquences d'un dessèchement du sol sur l'état hydrique de la plante et sur sa croissance. En conditions naturelles, où les conditions climatiques fluctuent rapidement, l'état hydrique de la plante et la vitesse de croissance foliaire peuvent changer très rapidement et ces deux types de contraintes peuvent se superposer.

Lors de l'établissement d'un déficit édaphique, Michelena & Boyer (1982) chez le maïs et Onillon (1993) chez la fétuque élevée ont montré qu'il existe une relation étroite entre le potentiel hydrique des feuilles matures et la vitesse d'allongement foliaire, ces deux variables diminuant avec le dessèchement. Par contre, le potentiel hydrique et la turgescence cellulaire dans les parties en croissance des feuilles ne sont pas affectés (Michelena & Boyer, 1982). De plus la vitesse d'allongement foliaire décroît avec le potentiel hydrique du sol, même dans des conditions particulières où l'état hydrique des

parties aériennes est maintenu à un niveau similaire à celui des plantes bien irriguées (Passioura, 1988a ; Gowing, Davies & Jones, 1990). Ceci suggère l'existence d'un signal non hydraulique émis par les racines soumises au déficit hydrique. Zhang & Davies (1989) et Saab *et al.* (1990) ont montré que ce signal pourrait être l'acide abscissique (ABA). Ces travaux suggèrent donc que l'état hydrique des feuilles puisse ne pas être directement impliqué dans la détermination de la vitesse d'allongement foliaire. Cependant, la plupart de ces études ont été réalisées en conditions contrôlées, sous faible demande climatique. Comme le souligne Kramer (1988) de telles situations, où la disponibilité en eau dans le sol est faible et où l'état hydrique des feuilles est artificiellement maintenu, peuvent maximiser le rôle d'un contrôle intégré faisant intervenir un signal racinaire, et minimiser le rôle d'un contrôle local faisant intervenir l'état hydrique des feuilles et les flux d'eau entre organes.

La réduction de la vitesse nocturne d'allongement foliaire du maïs lors d'un déficit hydrique édaphique ne dépend que de l'état hydrique du sol et est directement liée à la concentration en ABA dans la sève xylémienne (Ben Haj Salah & Tardieu, 1997). Cependant, la journée, la vitesse d'allongement foliaire diminue un peu plus. Cette réduction supplémentaire de la vitesse d'allongement est directement reliée à la demande évaporatoire ou à l'état hydrique des feuilles matures (Ben Haj Salah & Tardieu, 1997). La vitesse diurne d'allongement foliaire dépend donc de la transpiration, en plus de l'état hydrique du sol. En conditions de forte demande climatique et de déficit hydrique édaphique, un "signal" hydraulique se superpose au signal non hydraulique d'origine racinaire (Ben Haj Salah & Tardieu, 1997).

Durant la dernière décade, l'action de l'ABA sur la conductivité stomatique et la croissance foliaire a été très étudiée (Davies & Zhang, 1991 ; Tardieu & Davies, 1993 ; Bacon, 1999), alors que la signification de la composante hydraulique a été largement négligée (Frensch, 1997). Et comme le souligne Ben Haj Salah & Tardieu (1996) dans la plupart des études où l'effet de la demande évaporatoire sur la vitesse de croissance foliaire est analysé, il est difficile de distinguer les effets de la température, de l'éclairement et de l'humidité de l'air sur la vitesse de croissance foliaire. De plus, dans ces études à court terme en conditions contrôlées, la transpiration et l'état hydrique des parties matures et en croissance ne sont généralement pas mesurés. Il est donc difficile de relier la vitesse de croissance instantanée à l'état hydrique instantané de la plante ; ce qui, de notre point de vue, est un préalable à une analyse permettant de hiérarchiser les différents processus, hydraulique ou non, qui peuvent être impliqués.

## OBJECTIFS DE L'ETUDE

Pouvoir développer des modèles dynamiques de croissance foliaire, prenant en compte l'effet de la demande évaporatoire, requiert (entre autre chose) de savoir rendre compte des interactions entre la transpiration et la croissance foliaire. La plante a une structure hétérogène et complexe, où tous les organes ou toutes les cellules, ne sont pas nécessairement soumis au même niveau de contrainte hydrique. Il est donc nécessaire de connaître les différentes résistances aux transferts d'eau et leur conséquence sur les relations hydriques entre organes.

L'architecture hydraulique des plantes herbacées, et en particulier des graminées, a très peu été étudiée et de nombreux points restent à éclaircir, en particulier :

Où sont situées les principales résistances aux transferts hydriques, et quelles sont leurs implications sur les relations hydriques de la plante entière ?

Existe-t-il une continuité du xylème le long des feuilles en croissance ?

Dans une feuille en croissance, dont la partie apicale est exposée au rayonnement, quelle est la part respective des flux d'eau destinés à la croissance et à la transpiration ?

Comment sont raccordées entre elles, d'un point de vue hydraulique, les différentes feuilles d'une talle ? Sont-elles hydrauliquement indépendantes ?

Par quelles voies, phloémienne ou xylémienne, sont irriguées les zones de croissance foliaire ?

L'objectif de cette étude était de faire une description fine de l'**architecture hydraulique** des talles de fétuque élevée (*Festuca arundinacea* Schreb.) et d'analyser les conséquences de cette architecture hydraulique sur les transferts d'eau dans la talle en prenant en compte de façon explicite les **flux hydriques liés à la croissance foliaire**. Au cours de ce travail un effort conséquent a donc été réalisé pour décrire la **structure** et la **fonction** des différentes voies de circulation de l'eau dans la plante.

Dans le chapitre qui suit, une synthèse des connaissances dont on dispose *a priori*, pour traiter ce problème, est effectuée. Sur cette base, les questions initiales sont affinées et notre stratégie d'étude est définie.

*SYNTHESE*

---

*"...the complexity of the water transport pathway within plants has caused workers to approach the system as a 'black box'; flow rates and forces have been measured without a full understanding of the pathways. We feel that the future research emphasis in water transport in trees should be towards opening the black box..."*

*Ewers & Cruiziat (1991)*

## **SYNTHESE**

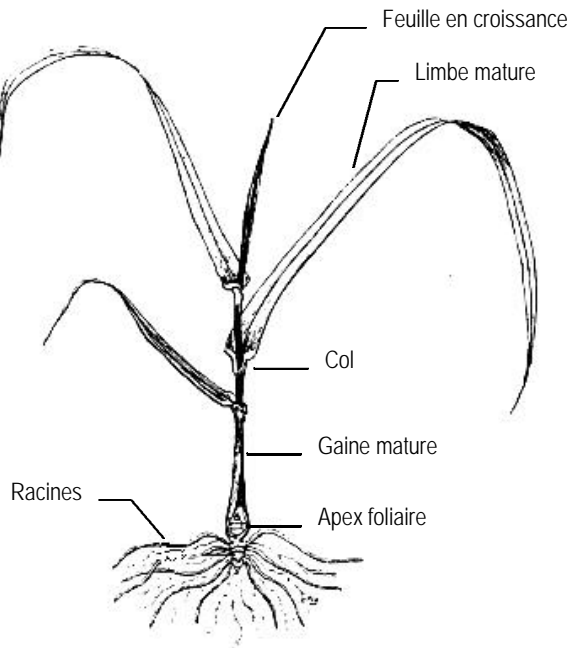
### **MORPHOLOGIE ET ANATOMIE GENERALE DES GRAMINEES**

#### **LA TALLE : UNITE STRUCTURALE ET FONCTIONNELLE DES GRAMINEES**

La partie aérienne des graminées est constituée de ramifications appelées talles (figure 2), qui prennent naissance à l'aisselle des feuilles. Chaque feuille est associée à un bourgeon axillaire qui va potentiellement pouvoir donner naissance à une talle axillaire. Au début de leur développement les talles axillaires sont hétérotrophes, elles sont alimentées par la talle axillante. Progressivement, alors que les premières feuilles deviennent autotrophes, des racines adventives se développent à l'aisselle des premières feuilles. Au stade adulte, chaque talle est donc un individu autonome. La talle est l'unité structurale et fonctionnelle des graminées.

Au stade végétatif, les entre-nœuds sont emboîtés, la tige ne mesure que quelques millimètres. Après l'induction florale, il y a un allongement des entre-nœuds des talles reproductrices et l'inflorescence se construit à la place de l'apex. Après floraison la talle meurt. Chez les graminées pérennes, certaines talles – les plus jeunes – restent à l'état végétatif, ce qui assure la pérennité de la plante.



**Figure 2**

Dessin d'une tige de fétuque élevée. (d'après, Nelson & MacAdam, 1989.)

## LA FEUILLE

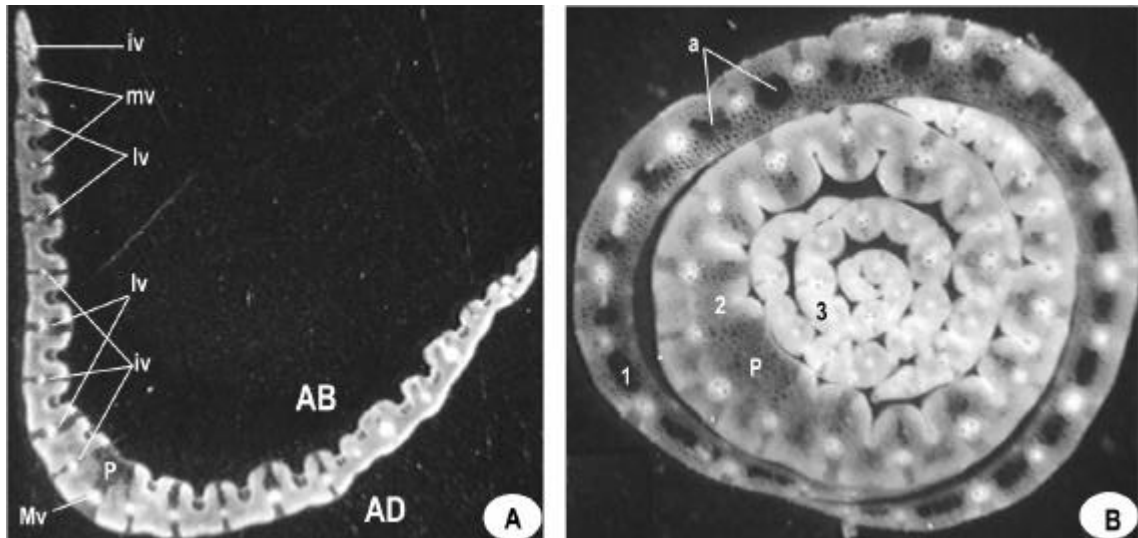
Les feuilles sont constituées d'une gaine qui assure le port érigé de la tige, et d'un limbe qui représente la surface photosynthétique et transpirante de la feuille (figure 2). Le limbe et la gaine sont séparés par un tissu plus dur – le col – sur lequel est insérée une membrane – la ligule – plus ou moins développée selon les espèces.

La base de la gaine s'insère sur la tige sur toute sa largeur au niveau de la zone d'insertion foliaire. Les feuilles successives d'une tige se développent à l'intérieur des feuilles précédentes. Les allongements du limbe et de la gaine sont séparés dans le temps, le limbe s'allonge en premier, mais il existe un intervalle de temps pendant lequel le limbe et la gaine s'allongent simultanément (Schnyder *et al.*, 1990). Le limbe se déploie progressivement lorsqu'il émerge du col de la gaine de la feuille précédente. Lorsque la feuille a fini de s'allonger, le limbe s'incline grâce à une croissance anisotrope des cellules épidermiques du col.

Les feuilles des graminées possèdent une nervation parallèle qui leur confère un aspect élancé. Les marges du limbe sont plus ou moins parallèles sur le premier tiers du limbe, elles se rapprochent progressivement vers la pointe de la feuille. La face abaxiale (inférieure) du limbe est plate. La face adaxiale (supérieure) est caractérisée par des sillons et des crêtes (figure 3A). Les crêtes renferment les faisceaux criblo-vasculaires. Le limbe, ainsi que la gaine, possèdent une symétrie axiale par rapport à la crête centrale. Chez la fétuque élevée, la densité de stomates sur la face adaxiale est d'environ 83 stomates par  $\text{mm}^2$ , alors qu'elle n'est que d'environ 23 stomates par  $\text{mm}^2$  sur la face abaxiale (Cohen, Chilcote & Frake, 1982). Le long de la feuille de fétuque élevée, la densité de stomates augmente d'environ 17% de la base vers la pointe de la feuille sur la face adaxiale ; sur la face abaxiale, elle ne varie pas de manière significative long du limbe (Cohen *et al.*, 1982). Sur la face adaxiale les stomates sont alignés sur les flans des crêtes. La rigidité de la feuille est assurée par l'épiderme et les massifs de sclérenchymes qui joignent les épidermes abaxiale et adaxiale à la hauteur des crêtes principales. Le mésophylle est spongieux, chez la fétuque élevée il représente 40 à 44 %

de l'aire de section en coupe transversale, alors que les méats intercellulaires représentent 20 à 27% de l'aire de section (Cohen *et al.* 1982). Chez le blé le volume total de la feuille est constitué à 45% dans le limbe et 56% dans la gaine de méats intercellulaires (Dannenhoffer, Evert & Evert, 1990).

Les deux faces de la gaine sont lisses (figure 3B). Chez la fétuque élevée, la gaine ne possède pas de stomate (observation personnelle). Les espaces intercellulaires dans le parenchyme de la gaine sont beaucoup plus importants que dans le limbe. Dans les gaines des feuilles matures il est fréquent que le parenchyme soit entièrement résorbé, laissant la place à un espace gazeux entre les massifs de sclérenchyme qui bordent les faisceaux criblo-vasculaires.



**Figure 3**

**A** Coupe transversale d'un limbe mature de fétuque élevée. AB, face abaxiale ; AD, face adaxiale ; iv, faisceau intermédiaire ; lv, faisceau majeur ; mv, faisceau mineur ; Mv, faisceau médian ; P, veine médiane. Noter la symétrie du limbe par rapport à la veine médiane. **B**, Coupe transversale d'une gaine de fétuque élevée à 80 mm de la base de la feuille 1, gaine de la dernière feuille mature ligulée. 2, limbe de la feuille en croissance lente. 3, limbe de la feuille en croissance rapide. Les feuilles 1, 2 et 3, sont à des stades de développement identiques à ceux des feuilles respectivement L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, et L<sub>3</sub>, qui nous avons utilisées dans nos expériences. a, aerenchyme ; P, veine médiane. (X15 ; Martre non publié.)

Au cours de son développement, la feuille est le siège de profonds changements. Initialement sa transpiration peut être considérée comme nulle. La totalité de l'eau affluant dans la feuille en croissance est consommée dans la croissance. Lorsque la feuille émerge de la gaine de la feuille précédente, une part de plus en plus importante de l'eau arrivant dans la feuille est alors consommée par la transpiration de la partie apicale éclairée. Le limbe émerge enroulé, face adaxiale à l'intérieure, puis, ensuite il se déploie et s'incline. L'efficacité d'interception du rayonnement lumineux du limbe augmente donc considérablement au cours de son développement.

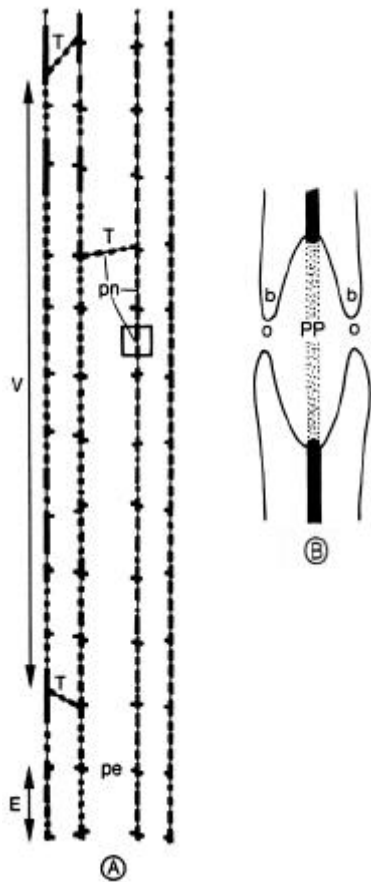
Ces éléments de l'anatomie des graminées étant rappelés, nous pouvons maintenant étudier plus en détail la vascularisation des talles. Nous commençons par quelques éléments sur l'ultrastructure des éléments conducteurs du xylème.

## VASCULARISATION DES GRAMINEES

### ULTRASTRUCTURE DES ELEMENTS CONDUCTEURS DU XYLEME

Au court de leur maturation, les éléments conducteurs du xylème subissent de profondes modifications (Fukuda, 1996). Les dernières phases de la maturation des cellules du xylème sont caractérisées par une autolyse pendant laquelle le contenu cellulaire est hydrolysé. Il y a alors un dépôt de lignine et de paroi secondaire, à l'exception des zones amincies où, seule, une paroi primaire partiellement hydrolysée est présente. Ces zones poreuses constituent des punctuations par lesquelles l'eau va pouvoir circuler entre les éléments de vaisseaux adjacents (figures 4, II-5L et II-5M). Leur diamètre varie de 0,1 à 2 µm suivant les espèces (Siau, 1984 ; Sperry & Tyree, 1988). Ces punctuations donnent aux parois du xylème une ornementation caractéristique (figure 5). L'extrémité des éléments conducteurs est effilée et l'eau ne passe pas d'un vaisseau à l'autre "axialement" par leurs extrémités, mais "radialement" sur une longueur parfois assez importante où les conduits se chevauchent.

Il existe deux catégories d'éléments conducteurs : les vaisseaux et les trachéides<sup>1</sup> (Esau, 1965a). Chez la plupart des graminées, le protoxylème et le métaxylème sont formés de vaisseaux (Cheadle, 1942 ; Fahn, 1954).

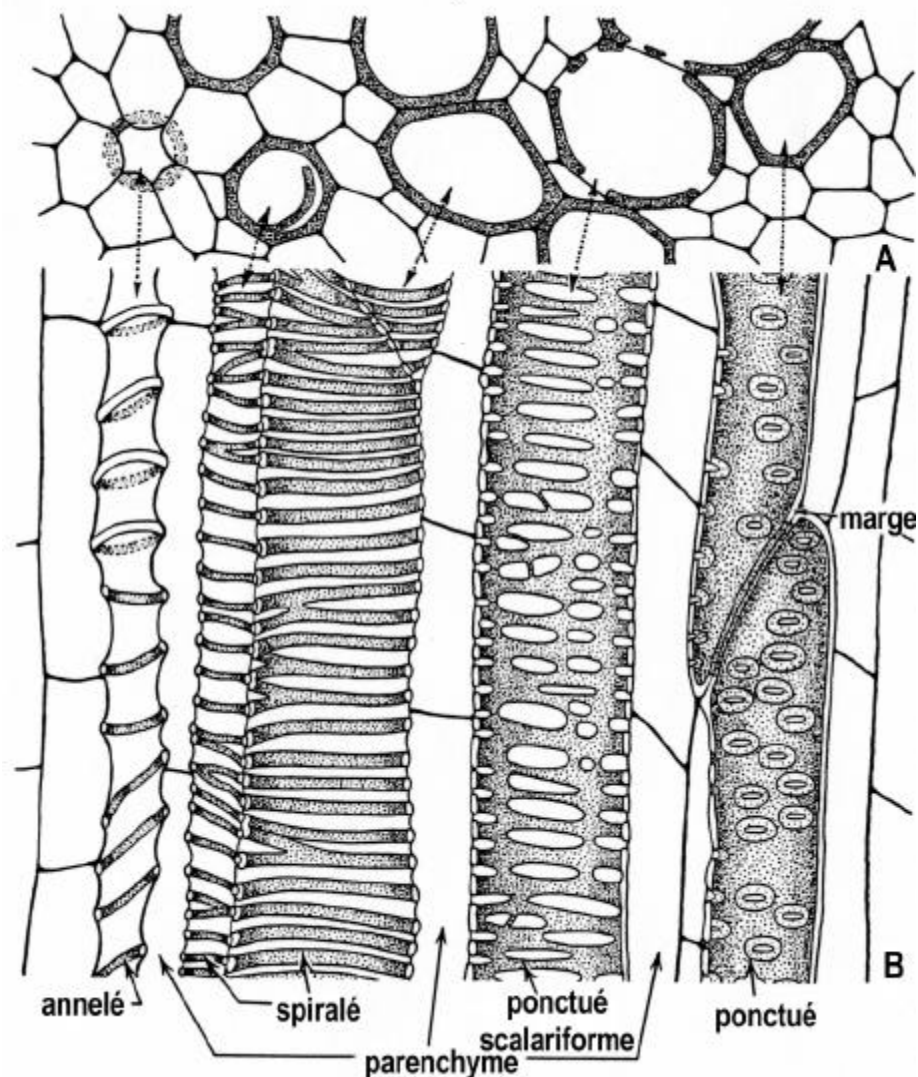


**Figure 4**

**A**, Groupe de vaisseaux chez une Angiosperme. Chaque élément de vaisseau (E) s'ouvre sur les éléments qui le précèdent ou qui le suivent par des perforations (pe). Un vaisseau (V) est limité par des cloisons terminales (T) non perforées. Les vaisseaux communiquent entre eux par des punctuations (pn). **B**, Détail de la zone marqué d'un rectangle en A montrant une ponctuation en coupe longitudinale. PP : paroi primaire, partiellement hydrolysée au niveau de la ponctuation (région en pointillé) ; PS : paroi secondaire formant un rebord (b) limitant une sorte de chambre qui communique avec la lumière des vaisseaux par un orifice (o) arrondi ou allongé. (d'après Robert & Catesson, 1990.)

<sup>1</sup> Les trachéides, phylogénétiquement plus primitives que les vaisseaux, se rencontrent principalement chez les gymnospermes et les ptéridophytes. Leur diamètre - 10 à 30 µm - et leur longueur - 1 à 10 mm - sont beaucoup plus faibles que ceux des vaisseaux. Chaque trachéide est issue d'une seule cellule cambiale, dont les parois transversales et longitudinales sont ponctuées (Nobel, 1999).

Les vaisseaux sont constitués de cellules, appelées éléments de vaisseau, aux parois transversales partiellement ou totalement perforées. L'empilement d'éléments de vaisseaux - jusqu'à plusieurs milliers, communiquant entre eux par des perforations - forme un tube rigide, creux, limité par des parois terminales qui ne se perforent pas. Les vaisseaux sont reliés entre eux par des punctuations. Le diamètre des vaisseaux peut varier d'environ 10 à 500  $\mu\text{m}$ . Leur longueur varie de 1 mm à plusieurs centimètres chez les espèces herbacées et jusqu'à 10 m chez les espèces ligneuses comme le chêne (Nobel, 1999). Dans une même plante il existe une très grande variabilité de la longueur des vaisseaux ; les vaisseaux les plus courts peuvent représenter jusqu'à 90% du nombre total de vaisseaux (Zimmermann & Jeje, 1981). Il existe deux grands types de perforations – scalariforme et simple – qui suivant leur forme et leur orientation par rapport à l'axe du vaisseau représentent de 1 à 25% de la résistance au flux d'eau axiale (Schulte, Gibson & Nobel, 1989; Ellerby & Ennos, 1998; Schulte, 1999).

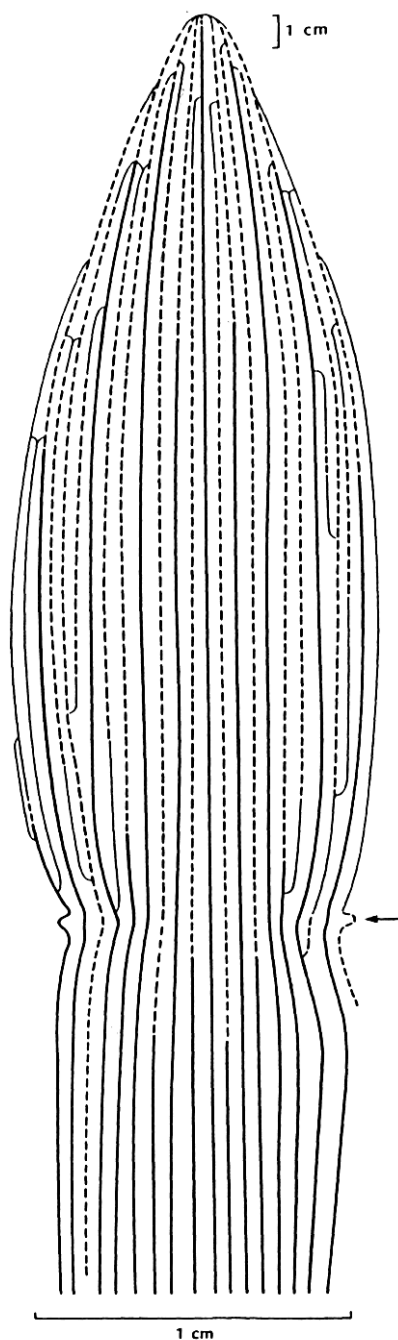


**Figure 5**

Sections transversale (A) et longitudinale (B), d'une partie des éléments conducteurs primaires et des cellules de parenchyme associées d'une tige d'*Aristolochia*, illustrant les différents types d'ornementation des parois des éléments conducteurs. La partie la plus ancienne du xylème est à gauche. Les parois primaires sont indiquées par des traits fins. Les parois secondaires sont représentées en gris. L'élément qui présente une ornementation annelée est partiellement étiré et les cellules de parenchyme adjacentes font légèrement saillie dans son lumen. Les éléments qui présentent des ornementations spiralées sont interconnectés au niveau des spires des hélices. L'élément spiralé le plus large, montre en B dans la partie supérieure, une jonction entre deux éléments superposés. Il existe deux principaux types d'ornementations ponctuées : scalariforme (à punctuations allongées) et ponctué (à punctuations arrondi). (x512 ; d'après Esau, 1965a.)

Certains vaisseaux ont une structure différente. Dans le métaxylème de la plupart des fruits et des fleurs (Schmid, 1977) et des zones d'abscission foliaire (André, Catesson & Liberman, 1999), ainsi que le protoxylème des zones de croissance (Esau, 1965a ; figure II-5E), les parois secondaires lignifiées sont réduites à des anneaux ou à des spirales (figure 5). La surface de la paroi primaire (non recouverte de paroi secondaire) de ces vaisseaux est donc beaucoup plus importante que celle des vaisseaux ponctués, ce qui leur permet de supporter des déformations importantes et augmente leur conductivité hydraulique radiale. Les épaisissements annelés ou spiralés de lignine créent une re-circulation de l'eau dans la cavité située entre deux épaisissements qui diminue les gradients de pression hydrostatiques par rapport à un vaisseau aux parois lisses et favorise le flux radial (Roth, 1996).

Après avoir décrit l'ultrastructure des éléments conducteurs du xylème, nous allons maintenant voir leur organisation dans les feuilles et les entre-nœuds des graminées.



**Figure 6**

Diagramme de la vascularisation longitudinale d'une feuille d'orge. Les portions de faisceaux présentant une anatomie de faisceau majeur sont représentées par un trait épais, celles avec une anatomie de faisceau intermédiaire par un trait discontinu et celles avec une anatomie de faisceau mineur par un trait fin. La flèche horizontale indique la région de la ligule. (d'après, Dannenhoffer *et al.* 1990.)

## VASCULARISATION DES FEUILLES

### Feuilles matures

Le limbe et la gaine sont vascularisés par de nombreux faisceaux criblo-vasculaires longitudinaux parallèles qui convergent et fusionnent à la pointe du limbe (figure 6). Les faisceaux longitudinaux peuvent être classés en trois types - majeurs, intermédiaires et mineurs - en fonction de leur taille et de leur structure (Esau, 1943 ; Patrick, 1972a). Sur toute la largeur du limbe et de la gaine les faisceaux larges alternent avec les intermédiaires. Les faisceaux mineurs sont situés entre chaque faisceau intermédiaire et large adjacent (Nelson & Dengler, 1997). Ces faisceaux longitudinaux sont connectés entre eux par des faisceaux transversaux (Blackman, 1971 ; Kuo, O'Brien & Zee, 1972).

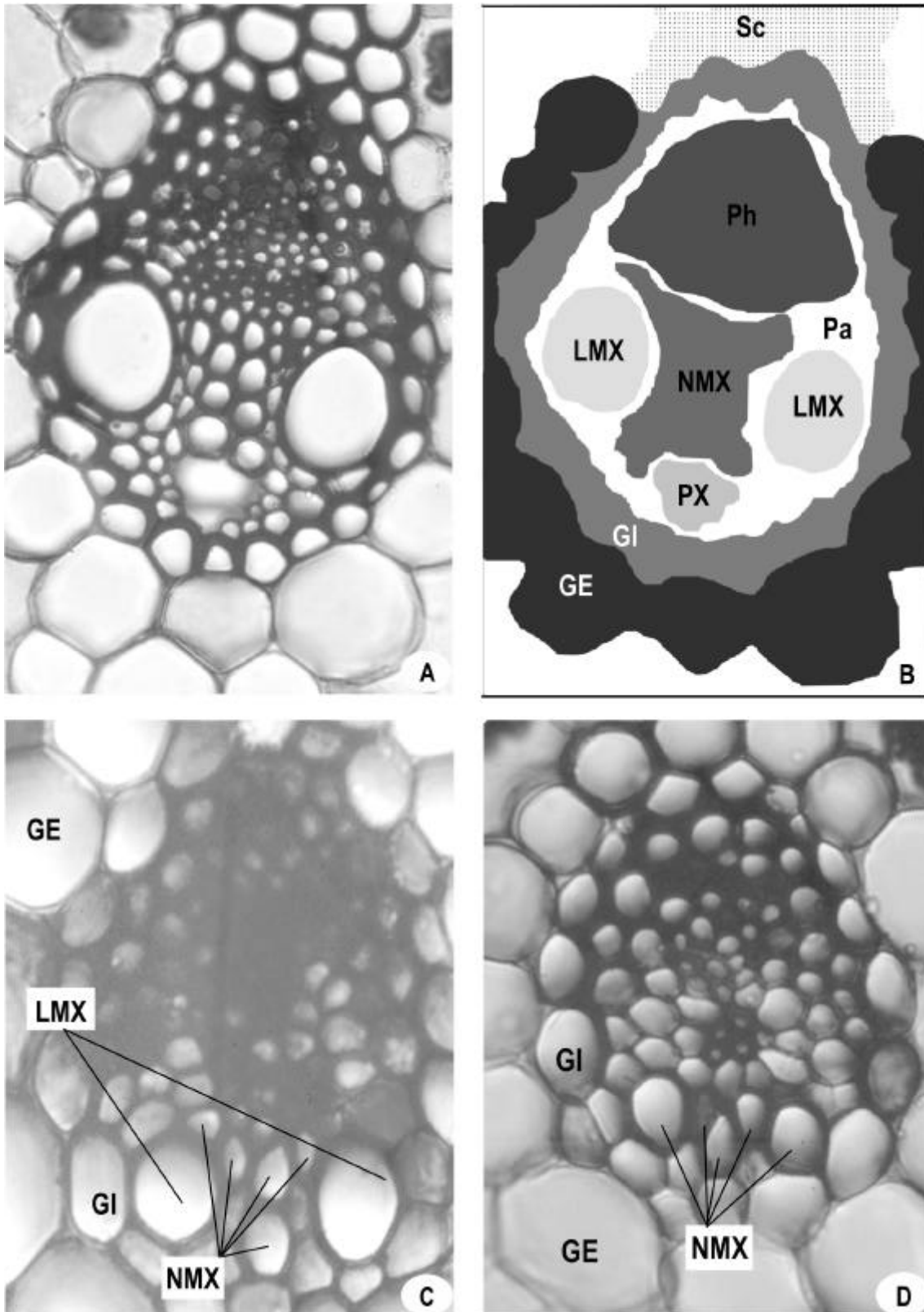
Les faisceaux majeurs sont les plus gros, ils assurent le transport à longue distance de l'eau et des assimilats entre la feuille et les autres organes de la plante (Altus & Canny, 1982). Réciproquement, les faisceaux intermédiaires et mineurs assurent la distribution de l'eau et la collecte des assimilats dans le limbe, qui sont ensuite redistribués aux faisceaux majeurs *via* les faisceaux transversaux (Altus & Canny, 1982).

L'arrangement spatial des faisceaux montre une régularité frappante. Le long du limbe il existe une relation stable entre la largeur du limbe et le nombre de faisceaux (Colbert & Evert, 1982 ; Russell & Evert, 1985 ; Dannenhoffer *et al.*, 1990). Chez *Arundinella hirta* la distance entre deux faisceaux de même ordre est constante le long du limbe (Dengler & Dengler, 1990 ; Dengler *et al.*, 1997).

Chez les espèces festucoides, telle que la fétuque élevée, les faisceaux longitudinaux sont entourés par une double gaine fasciculaire (figure 7, Esau, 1965a ; Dengler, Dengler & Hattersley, 1985). La gaine externe est formée par une assise de cellules parenchymateuses de grand diamètre qui généralement possèdent des chloroplastes. La gaine interne est constituée d'une couche de cellules de faible diamètre dont la paroi est lignifiée (Esau, 1965a). Chez la plupart des espèces de graminées la paroi des cellules de la gaine interne possède une lamelle de subérine, homologue à la paroi de l'endoderme des racines, qui forme une barrière apoplastique aux flux d'eau et de solutés (Evert, Botha & Mierzwa, 1985 ; Canny, 1986 ; Eastman, Dengler & Peterson, 1988). La gaine externe est prolongée par un massif de sclérenchyme, qui pour les faisceaux majeurs est continu jusqu'à l'épiderme de chacune des faces de la feuille et discontinu pour les faisceaux intermédiaires et mineurs. Les faisceaux transversaux ne possèdent généralement qu'une seule gaine qui a l'anatomie de la gaine interne des faisceaux longitudinaux (Dengler *et al.*, 1985).

Les faisceaux majeurs sont constitués d'un pôle phloémien situé du côté de l'épiderme abaxiale, et d'un pôle xylémien, situé du côté de l'épiderme adaxiale (figure 7AB). Ces deux pôles sont séparés par une assise de cellule de parenchyme, qui n'est pas toujours continue (Esau, 1943). Les vaisseaux de protoxylème<sup>1</sup> occupent une position centrale dans le pôle xylémien. Ils sont au nombre de trois à cinq. Ils sont entourés par des cellules de parenchyme xylémien et par des vaisseaux de métaxylème de petit diamètre (Cheadle, 1942). De chaque côté du faisceau on rencontre deux

<sup>1</sup> Comme l'a montré Esau (1943) la distinction des vaisseaux de protoxylème et de métaxylème permet de donner un aspect dynamique à la structure de la plante et de clarifier les relations entre le développement de la plante et la fonction du système vasculaire. En suivant la classification proposée par Esau la distinction entre le protoxylème et le métaxylème n'est pas basée sur leur caractéristique morphologique, telle que l'ornementation de la paroi, mais sur leur position caractéristique dans le tissu vasculaire et leur développement vs. celui de l'organe ou de la plante (Esau, 1965b ; Schmid, 1977).



**Figure 7**

Les différents types de faisceaux d'un limbe mature de fétuque élevée. Sections transversales à main levée (x400). **A**, faisceau majeur. **B**, diagramme du faisceau montré en A, représentant les différents tissus. **C**, faisceau intermédiaire. **D**, faisceau mineur. LMX, vaisseaux de métaxylème de grand diamètre; NMX, vaisseaux de métaxylème de petit diamètre; GE, gaine externe; GI, gaine interne; Pa, parenchyme; Ph, phloème; PX, Protoxylème; Sc, sclérenchyme.

vaisseaux de métaxylème de grand diamètre qui sont en contact avec des vaisseaux de métaxylème de petit diamètre et des cellules de parenchyme xylémien. Le métaphloème est constitué de tubes criblés de diamètre assez important, associés à des cellules compagnes. Le protophloème est formé de tubes criblés aplatis entre le métaphloème et la gaine vasculaire. Dans les faisceaux matures, le protophloème et le protoxylème apparaissent généralement en section transversale comme étant écrasés du fait de l'allongement qu'ils ont subi dans la zone de croissance. Dans les organes matures, le protoxylème laisse place à une lacune. Cette organisation des faisceaux majeurs se retrouve de façon assez conservée chez le maïs (Sharman, 1942 ; Esau, 1943), la canne à sucre (Artschwager, 1925 ; Colbert & Evert, 1982), l'orge (Dannenhoffer *et al.*, 1990) et la fétuque élevée (Dengler *et al.*, 1985).

Les faisceaux intermédiaires et petits présentent une organisation générale similaire à celle décrite pour les faisceaux majeurs. Mais les faisceaux intermédiaires ne possèdent pas de protoxylème ni de protophloème (figure 7C). Les faisceaux mineurs ne possèdent pas non plus de métaxylème large (figure 7D ; Dannenhoffer *et al.*, 1990).

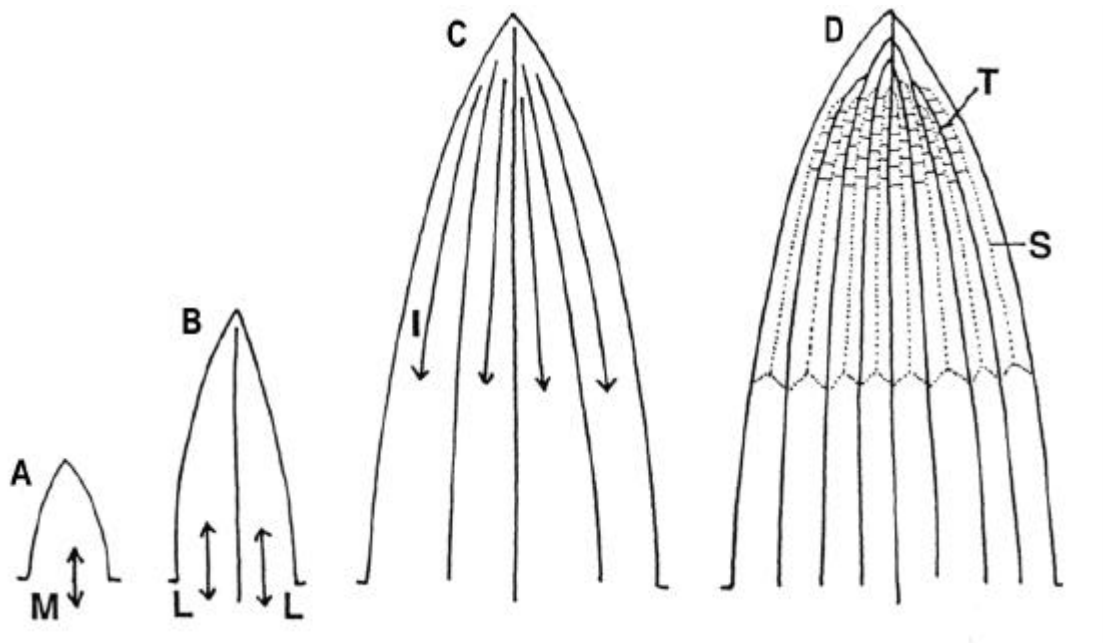
Tous les faisceaux du limbe apparaissent avec l'anatomie de faisceaux mineurs (Figure 6). A la pointe de la feuille le faisceau médian du limbe a l'anatomie d'un faisceau mineur. En quelques millimètres, il se différencie en faisceau intermédiaire, puis majeur. Deux nouveaux faisceaux prennent alors naissance à partir de ce faisceau médian et en quelques millimètres ils prennent à leur tour l'anatomie de faisceaux intermédiaires puis majeurs (figure 6). Les autres faisceaux majeurs et intermédiaires prennent naissance de cette façon à partir des faisceaux précédemment formés. Les faisceaux mineurs prennent naissance sur les marges du limbe (Colbert & Evert, 1982 ; Dengler *et al.*, 1985 ; Russell & Evert, 1985 ; Dannenhoffer *et al.*, 1990).

### *Feuilles en croissance*

Dans les méristèmes foliaires, les premiers faisceaux de procambium (qui correspondent aux futurs faisceaux criblo-vasculaires majeurs) apparaissent de manière isolée au niveau du disque d'insertion du primordium (Figure 8AB ; Bugnon, 1924 ; Sharman, 1942 ; Dannenhoffer & Evert, 1994). Ils ont une progression acropète dans le primordium, et basipète dans la tige. Les faisceaux de procambium de rang inférieur (qui correspondent aux futurs faisceaux criblo-vasculaires intermédiaires et mineurs) prennent naissance à l'apex du primordium, après que les faisceaux de rang supérieur ont atteint leur position la plus apicale (Figure 8CD). Ils ont une différenciation entièrement basipète (Sharman, 1942 ; Dannenhoffer & Evert, 1994). Chez l'orge, la vascularisation longitudinale des feuilles est établie lorsque la feuille mesure environ 4 mm (Dannenhoffer & Evert, 1994).

Les premiers vaisseaux de protoxylème se différencient également de manière isolée dans le disque d'insertion du primordium et suivent le même sens de différenciation que les faisceaux de procambium de rang supérieur (Dannenhoffer & Evert, 1994 ; Paolillo, 1995). Les premiers vaisseaux de protoxylème et de protophloème se différencient d'abord dans le faisceau médian, les suivants apparaissent de manière symétrique de part et d'autre du faisceau médian (Charment, 1942 ; Esau, 1943). Les différents vaisseaux de protoxylème d'un même faisceau proviennent de divisions anticlinales d'une cellule mère de procambium. Ils se différencient les uns après les autres, chaque élément ayant un diamètre plus important que le précédent (Esau, 1965b). Lorsque le premier vaisseau de protoxylème est déjà mature, les files cellulaires des vaisseaux suivants peuvent encore subir des divisions paradermales (Esau, 1943, plate 6).





**Figure 8**

Modèle d'ontogénèse des faisceaux vasculaires dans les feuilles de monocotylédone. **A**, Mise en place de la provascularisation du faisceau médian (MV) dans le disque d'insertion de la jeune feuille. Le faisceau médian a une différenciation acropète dans le primordium foliaire et basipète dans la tige où il va se raccorder à la vascularisation de la tige. **B**, Mise en place de la provascularisation des faisceaux latéraux majeurs (L) dans le disque d'insertion de la jeune feuille. Les faisceaux latéraux majeurs ont une différenciation acropète dans le primordium foliaire et basipète dans la tige où ils vont se raccorder à la vascularisation de la tige. **C**, Mise en place de la provascularisation des faisceaux intermédiaires (I) dans la partie apicale de la feuille. Seulement quelques faisceaux intermédiaires vont se raccorder à la vascularisation de la tige, les autres se terminent de manière aveugle avant de pénétrer dans la gaine ou bien ils fusionnent avec un faisceau majeur adjacent. **D**, Mise en place des faisceaux mineurs (S) et transversaux (L) dans le limbe de la feuille. Noter la mise en place basipète des faisceaux transversaux. (d'après,

Lorsqu'ils traversent la zone de croissance, les vaisseaux de protoxylème subissent des déformations importantes. La continuité du protoxylème dans la zone de croissance est assurée par sa plasticité structurale (O'Brien, 1981) et une maturation des différents éléments de protoxylème qui est échelonnée sur la durée de l'allongement de la feuille (Esau, 1943). Ainsi, les vaisseaux de protoxylème sont matures les uns après les autres et sont aussi étirés les uns après les autres lorsqu'ils traversent la zone d'élongation. Selon Paolillo (1995), la maturation basipète des éléments de protoxylème initiés au-dessus de la zone de croissance<sup>1</sup> permet de maintenir constant le long de la zone de croissance le nombre de vaisseaux de protoxylème fonctionnels. Mais un certain nombre d'études histologiques montrent au contraire que la maturation de nouveaux éléments de protoxylème dans la zone de croissance n'est pas suffisante pour assurer la continuité du protoxylème le long de la zone de croissance (Sharman, 1942; Evert, Russin & Bosabalidis, 1996; Trivett & Evert, 1998). Ainsi, Evert *et al.* (1996) affirment que dans les feuilles en croissance de maïs qu'ils ont observées, il n'y a plus de protoxylème fonctionnel au moins 3 cm avant que les premiers vaisseaux de métaxylème soient matures. Dans les zones de croissance foliaire de ray-grass anglais, il existerait également une discontinuité du protophloème (Forde, 1965). Au contraire, selon Patrick (1972b), la vitesse de différenciation des tubes criblés est suffisante pour maintenir une continuité du protophloème dans la zone de croissance des feuilles et des entre-nœuds de blé.

<sup>1</sup> Ces vaisseaux sont interprétés par Esau (1993) comme étant les premiers vaisseaux de métaxylème.

L'absence d'une gaine vasculaire mature subérifiée dans la zone de croissance et la paroi primaire partiellement hydrolysée des éléments de protoxylème (Fujino & Itoh, 1998), diminuent certainement de manière conséquente la résistance au flux d'eau radial entre le protoxylème et les cellules en expansion. Mais les éléments de protoxylème sont entourés de cellules de très petit diamètre (Esau, 1965a, plate 57A ; Dong, McCully & Canny, 1997, Figure 1B), qui, comme pour les hypocotyles de soja (Nonami, 1998), du fait de leur faible diffusivité, pourraient considérablement augmenter la résistance extravasculaire dans la zone de croissance. De plus, chez le maïs la maturation des plasmodesmes coïncide avec celle des tubes criblés du métaphloème, qui sont les derniers composants des faisceaux à être mature (Trivett & Evert, 1998).

Le métaxylème et le métaphloème ont une différenciation basipète dans le faisceau médian et plus tard dans les faisceaux intermédiaires, puis mineurs. La partie distale de la zone de croissance correspond à peu près au niveau où débute le dépôt de paroi secondaire des premiers vaisseaux de métaxylème (Goodwin, 1942 ; MacAdam, 1988 ; Evert *et al.*, 1996). La maturation des faisceaux transversaux et des gaines vasculaires des faisceaux longitudinaux commence au même moment que celle du métaxylème et du métaphloème, *i.e.* au-delà de la zone de croissance (Blackman, 1971). La maturation du métaxylème dans les feuilles de graminées a reçu beaucoup moins d'attention que celle du protoxylème. Dans la plupart des études histologiques il est difficile de situer les descriptions faites par rapport à la limite de la zone de croissance (dont la longueur n'est généralement pas déterminée).

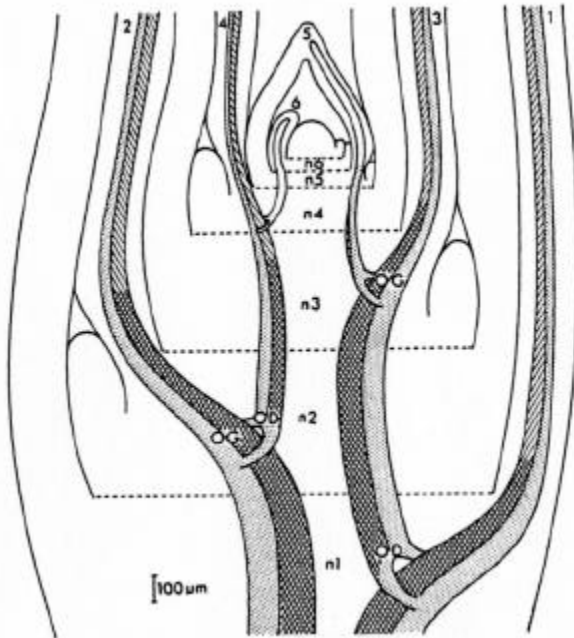
Dans les racines, la maturation du métaxylème peut continuer jusqu'à 20 cm au-delà de l'apex (St Aubin, Canny & Mc Cully, 1986 ; Sanderson, Whitbread & Clarkson, 1988). De ce fait les zones de croissance racinaires sont isolées, d'un point de vue hydraulique, du reste de la plante (Frensch & Steudle, 1989 ; Frensch & Hsiao, 1993). Il est difficile de concevoir qu'il en soit ainsi dans les feuilles, car la partie mature émergée de la feuille en croissance transpire et en l'absence d'une continuité vasculaire son potentiel hydrique serait très faible - du fait d'une résistance hydraulique importante - ce qui n'est pas le cas (*e.g.* Westgate & Boyer, 1984 ; Onillon, 1993).

#### VASCULARISATION DES ZONES NODALES

Pendant l'allongement des feuilles, le protoxylème et le protophloème forment une connexion entre la zone de croissance et les parties matures de la plante (*i.e.* dans la tige et dans la partie apicale de la feuille). Le système vasculaire des graminées est constitué de nombreux faisceaux longitudinaux interconnectés à chaque nœud par un plexus de faisceaux anastomosés. La vascularisation des nœuds et des entre-nœuds est différente chez les espèces festucoides (*e.g.* *Festuceae*, *Hordeae*, *Aveveneae*) et les espèces panicoides (*e.g.* *Zea*, *Saccharum*, *Sorghum*) (Hitch & Sharman, 1971). En particulier, chez les espèces panicoides les faisceaux foliaires restent individualisés dans plusieurs nœuds, jusqu'à sept nœuds chez le maïs par exemple (Sharman, 1942).

De manière générale, chez les espèces festucoides un faisceau parcourt rarement plus de deux ou trois entre-nœuds sans se ramifier et fusionner avec un faisceau provenant d'une autre trace foliaire. Il n'y a donc pas chez les espèces festucoides de faisceau caulinaire à proprement parler (Hitch & Sharman, 1971 ; O'Brien & Zee, 1971 ; Patrick, 1972a ; Busby & O'Brien, 1979). Il apparaît également de façon assez générale qu'une feuille a des connexions préférentielles avec la feuille située deux nœuds en dessous de

son insertion sur la tige (Hitch & Sharman, 1971 ; Patrick, 1972a ; Busby & O'Brien, 1979 ; Dannenhoffer & Evert, 1994), excepté chez le ray-grass d'Italie où une feuille est connectée aux faisceaux vasculaires provenant de la feuille  $n-1$  (Bell, 1976b).



**Figure 9**

Diagramme d'une section longitudinale de la partie apicale de la tige d'une jeune plante de blé, montrant les stades successifs de différenciation des éléments vasculaires et des cellules de transfert dans la veine médiane des feuilles 1 à 6.  $n1 - n6$ , nœuds 1 à 6. Non hachuré, tissu provasculaires ; Pointillés, phloème ; hachure simple, xylème ; double hachure, xylème associé à des cellules de transfert. OG, faisceau obstruant ; OD, faisceau obstrué. (D'après Busby & O'Brien, 1979.)

Les faisceaux majeurs provenant d'une feuille  $n$  entrent dans la tige, pénètrent dans la zone nodale de la feuille  $n-1$  et traversent l'entre-nœud avant d'être "obstrués" par un faisceau majeur de même rang (*i.e.* un faisceau médian avec un faisceau médian, *etc.*) dans la zone nodale de la feuille  $n-2$  (Figure 9 ; Hitch & Sharman, 1971 ; Busby & O'Brien, 1979). A ce niveau les "faisceaux obstrués" forment une fourche autour des faisceaux de la feuille  $n-2$  ("faisceaux obstruants") qui viennent d'entrer dans la tige. Les faisceaux obstrués et obstruants continuent leur course jusqu'au nœud suivant où ils fusionnent et sont connectés aux faisceaux majeurs des feuilles plus âgées par les faisceaux ramifiés du plexus nodal.

Les faisceaux intermédiaires et mineurs fusionnent à la base de la gaine avant de pénétrer dans la tige. Ils se différencient dans la tige lorsque la connexion des faisceaux majeurs est établie. Ils ne participent donc pas à la formation du plexus nodal, mais ils vont s'y connecter (Hitch & Sharman, 1971).

Le plexus nodal est une zone de transfert intense d'assimilats et d'eau, qui permet d'homogénéiser le potentiel hydrique des faisceaux qui alimentent les différentes feuilles en amont du nœud. La zone nodale permet également de redistribuer entre les différents organes de la plante les assimilats transportés par le phloème et les éléments minéraux transportés par le xylème (Busby & O'Brien, 1979).

Selon Patrick (1972b) chez le blé la connexion phloémienne entre la tige et une feuille a lieu "only when the leaf  $n+2$  was about to emerge was there a direct route to it for photosynthate from any source – in this cultivar, principally from leaf  $n$ , which was then fully grown". De même pour le xylème, "the vascular system of the newly emerge leaf becomes connected to the transpiration pathway just as the leaf is exposed to the atmosphere" (Busby & O'Brien, 1979).

C'est également dans les nœuds que se situe la zone d'insertion des racines nodales. L'étude de l'attachement des racines nodales de ray-grass d'Italie montre une différenciation très intense de tissus vasculaires - le plexus périphérique - qui forme un cylindre entourant les faisceaux foliaires et ceux du plexus nodal (Bell, 1976c). Une feuille peut être connectée directement à une racine par un ou plusieurs faisceaux foliaires ou indirectement *via* le plexus nodal ou périphérique (Hitch & Sharman, 1971 ; Bell, 1976c). Selon André (1998) il n'y aurait pas de continuité vasculaire entre les racines et les nœuds chez les bambous, la continuité serait uniquement fasciculaire. Leurs métaxylèmes seraient connectés par des ramifications ponctuées (André, 1998).

Dans des expériences de colorants vitaux, Bell (1976c) a montré que le colorant absorbé par une racine nodale de ray-grass d'Italie est transporté vers la feuille la plus proche, si toutes les autres racines sont dans l'eau. Si l'on bloque la transpiration de la feuille la plus proche, le colorant alimente alors les autres feuilles (Bell, 1976c). Les feuilles ont donc des relations privilégiées avec certaines racines, mais sont connectées à l'ensemble du système racinaire.

Après avoir décrit la mise en place de la vascularisation dans les feuilles et les entre-nœuds, nous allons nous intéresser à la cinétique de croissance des feuilles et à l'activité des zones de croissance au cours de l'ontogenèse des feuilles.

## CROISSANCE FOLIAIRE DES GRAMINEES

Chez les végétaux la croissance n'est pas diffuse, mais est localisée dans des zones de croissance. Chez les monocotylédones la croissance foliaire présente une forte anisotropie. Cela fait des feuilles de monocotylédones un modèle relativement simple et adapté à l'étude de la cinématique de la croissance, et pour analyser l'effet des contraintes environnementales sur les processus de croissance. L'utilisation d'un formalisme mathématique adapté de la dynamique des fluides a permis d'analyser la croissance de manière quantitative et dynamique, en terme de taux local relatif de croissance et de dépôt local d'éléments (Erickson & Sax, 1956a ; Erickson & Sax, 1956b ; Erickson, 1976 ; Silk & Erickson, 1979 ; Gandar, 1980 ). Ce cadre d'analyse permet de prendre en compte l'expansion et le déplacement des éléments de tissu, c'est à dire de considérer la croissance à la fois sous l'aspect spatial - changements définis en un point fixe de l'espace - et matériel - changements qui concernent les éléments physiques - (Erickson & Silk, 1980).

## CINETIQUE DE CROISSANCE D'UNE FEUILLE

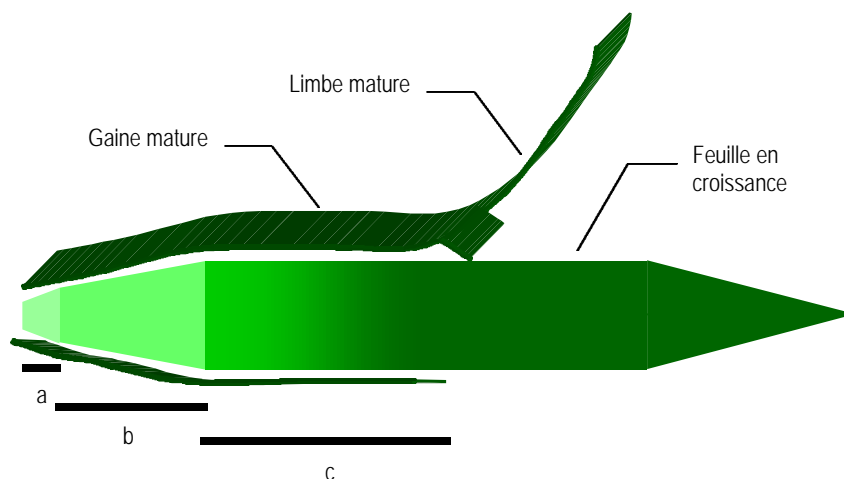
La première phase de la croissance d'une feuille est caractérisée par une vitesse d'allongement très faible (Williams, 1975 ; Skinner & Nelson, 1994). Chez la fétuque élevée, cette phase dure environ neuf jours à 24 °C (figure 11a ; Durand, Schäufele & Gastal, 1999). En moins d'un jour, la vitesse de croissance augmente d'un facteur dix, puis elle augmente progressivement jusqu'à quatre jours après que la pointe de la feuille ait émergé hors des gaines des feuilles précédentes (Durand *et al.*, 1999). La feuille mesure alors environ 50 % de sa longueur finale. La vitesse de croissance évolue alors beaucoup moins vite pendant 4 à 5 jours, puis diminue rapidement. La moitié de la croissance de la feuille s'effectue donc à l'abri de la lumière dans les gaines des feuilles précédentes. La durée de croissance d'une feuille de fétuque depuis le stade 1 mm est

d'environ 36 jours à 24 °C (Durand *et al.*, 1999). On peut remarquer que l'émergence de la feuille, n'est pas accompagnée d'une diminution de la vitesse de croissance, mais au contraire d'une augmentation (figure 11a) ; alors que la transpiration de la feuille doit certainement augmenter de façon considérable dans le même temps.

### LOCALISATION DE LA CROISSANCE

On définit la zone de croissance comme étant l'endroit où les tissus croissent en volume. Au-delà de la zone de croissance, les tissus continuent à croître en poids mais leur volume est fixé à la fin de la zone de croissance. Chez les graminées la zone de croissance foliaire est située à la base de la feuille, protégée à l'intérieur des gaines des feuilles précédentes (Sharman, 1945 ; Kemp, 1980). Elle reste à une position fixe et est traversée par les cellules produites par le méristème.

La vitesse de croissance dépend de la vitesse de division cellulaire, de la vitesse et de la durée de l'expansion cellulaire (Volenc & Nelson, 1981). Ces deux processus, division et expansion, déterminent la taille finale de la feuille. Chez les monocotylédones ils se produisent simultanément, mais ils sont en grande partie séparés dans l'espace. Il existe à la base de la feuille un gradient de développement, qui consiste successivement, en une zone de division cellulaire, une zone d'élongation cellulaire et une zone de maturation où se produisent le dépôt de paroi secondaire, la lignification et la mise en place de l'appareil photosynthétique (figure 10). Cette structuration est beaucoup plus marquée que chez les dicotylédones, où la division et l'expansion cellulaire ne sont pas si clairement séparées ni dans l'espace, ni dans le temps (Granier & Tardieu, 1998).



**Figure 10**

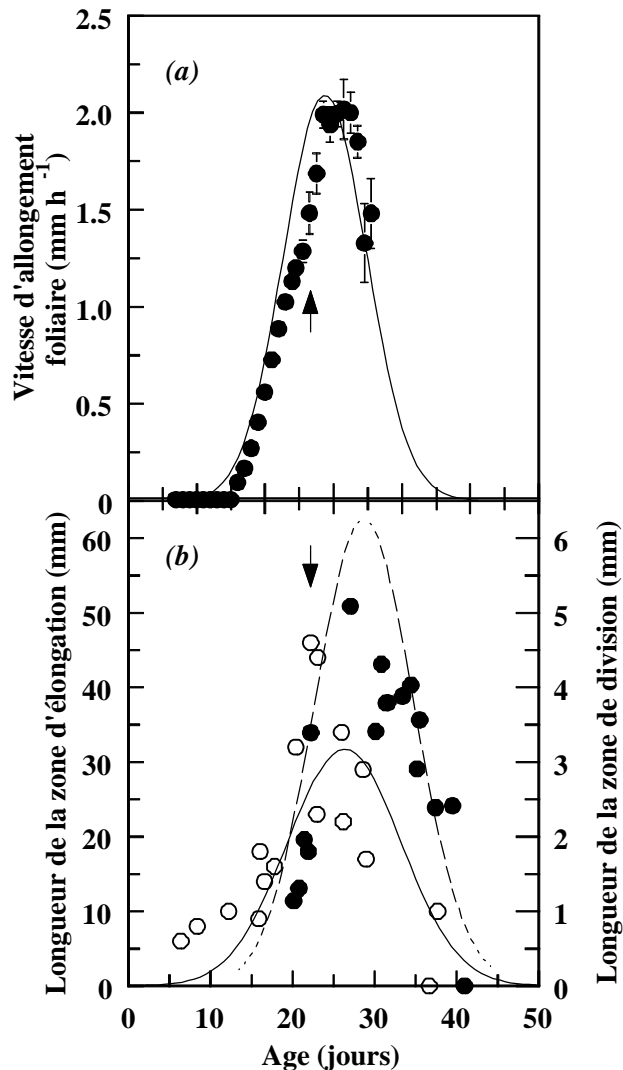
Représentation du gradient de croissance et de développement le long d'une feuille de graminée : a, zone de division et d'élongation ; b, zone d'élongation stricte ; c, zone de maturation.

### Zone de division cellulaire

Les cellules qui vont former la gaine, la ligule et le limbe sont issues de trois méristèmes distincts (Sharman, 1941 ; Skinner & Nelson, 1995). Ces méristèmes sont mis en place alors que la feuille n'est encore qu'une ébauche foliaire (Esau, 1965a). Après la mise en place des différents méristèmes foliaires, les divisions cellulaires dans les méristèmes de la gaine et du limbe s'arrêtent pendant l'allongement du limbe ; elles ne reprennent que lorsque la gaine commence à s'allonger.

La zone de division se situe à la base de la zone de croissance. Sa longueur varie au cours du développement de la feuille. Chez la fétuque élevée elle représente environ 10 % de la longueur de la zone de croissance (figure 11b; Durand *et al.*, 1999).

Une cellule doit atteindre une taille minimale pour pouvoir se diviser, la division cellulaire et donc, dans une certaine mesure, indissociable de l'expansion cellulaire (Francis, 1992). Tout facteur qui agit sur la vitesse d'expansion cellulaire, agit donc *a priori* également sur la vitesse de division cellulaire.



**Figure 11**

Évolution de la vitesse de croissance (a), de la longueur de la zone de division (—, ●) et de la zone d'élongation (---, ○) foliaire chez la fétuque élevée à 24 °C. Les flèches verticales indiquent le jour d'émergence à la lumière de la feuille (d'après Durand *et al.* 1999).

### Zone d'élongation cellulaire

Chez la fétuque élevée, une fois sortie de la zone de division les cellules s'allongent d'environ 10 fois en moins de 30 mm (Durand *et al.*, 1995). Au cours de l'ontogenèse de la feuille, la longueur de la zone d'élongation évolue parallèlement à la longueur de la zone de division (figure 11b; Durand *et al.*, 1999). La longueur de la zone de croissance est maximale durant la phase de croissance rapide de la feuille. Un profil de croissance de feuille de fétuque élevée est présenté figure II-2. Depuis la base de la feuille la vitesse relative d'élongation des cellules augmente jusqu'à environ 20 mm de la base, puis elle diminue jusqu'à la fin de la zone d'élongation. Cette répartition de la croissance se retrouve également dans les racines de dicotylédones (Triboulot, Pritchard & Tomos, 1995) et de monocotylédones (Sharp & Davies, 1979).

En résumé, l'organisation de la zone de croissance a des conséquences importantes. Premièrement, la zone de croissance est protégée de tout effet direct de la lumière, exceptée une faible quantité de rayonnement enrichie en rouge sombre qui peut diffuser à travers la gaine (Dale, 1988). Deuxièmement, les tissus en croissance sont dans une atmosphère saturée en humidité, leur transpiration est donc très faible. Troisièmement, lorsque la feuille est encore en croissance et qu'elle devient une source de carbone, les assimilats qu'elle exporte doivent également traverser la zone de croissance (Anderson & Dale, 1983 ; Brégard & Allard, 1999). Dans le sens inverse, les éléments minéraux et organiques, et surtout l'eau, à destination de la partie distale de la feuille qui transpire, doivent traverser la zone de croissance.

Maintenant que nous avons localisé la zone de croissance, et montré comment son activité évolue au cours de l'ontogénèse de la feuille, nous allons aborder les mécanismes de la croissance à l'échelle cellulaire et leur régulation. Avant de les détailler, il est peut être utile à certains lecteurs de disposer d'une présentation des principaux concepts qui régissent les mouvements d'eau dans un tissu végétal. Ces concepts sont rappelés page 44.

## *BASES BIOMECANIQUES DU GRANDISSEMENT CELLULAIRE*

La croissance en volume d'un organe dépend essentiellement de l'expansion cellulaire, qui est la résultante de trois processus simultanés, coordonnés et liés ; (i) l'extension des parois pectocellulosiques : (ii) l'absorption d'eau et (iii) l'absorption de solutés. L'absorption d'eau, sous l'effet d'une diminution de la pression de turgescence, constitue l'aspect hydraulique de l'expansion. Cette diminution de la pression de turgescence est causée par un relâchement des parois, c'est l'aspect mécanique de l'expansion. A ces deux aspects, s'ajoute une entrée de solutés nécessaire au maintien de la pression de turgescence et du flux d'eau.

Contrairement aux cellules non en croissance, l'entrée d'eau dans une cellule en croissance n'est pas auto-limitée car le gradient de potentiel hydrique reste constant tant que le relâchement des parois se produit. C'est le relâchement des parois donne à l'expansion son caractère irréversible (Cosgrove, 1993c). Ce caractère irréversible de la croissance cellulaire permet de la distinguer des variations réversibles dans les tissus matures dues aux déficits hydriques.

### *LE MODELE DE LOCKHART*

#### *Aspect mécanique*

Le relâchement et l'expansion des parois ont été modélisés par Lockhart (1965). Cet auteur travaille sur des cellules isolées très allongées et indéformables à leurs extrémités. Il observe une bonne corrélation entre la pression de turgescence et la vitesse relative d'allongement de la cellule. De plus, il observe qu'une pression de turgescence minimale est nécessaire pour qu'il y ait un allongement de la cellule. Il interprète donc le grandissement cellulaire comme un phénomène viscoplastique à seuil :

$$r = \frac{1}{l} \cdot \frac{dl}{dt} = \phi \cdot (P - Y) \quad (1)$$

où  $r$  est la vitesse relative d'allongement cellulaire ( $\text{m m}^{-1} \text{s}^{-1}$ , *i.e.*  $\text{s}^{-1}$ ),  $l$  est la longueur de la cellule (m),  $\phi$  est le coefficient d'extensibilité de la paroi, qui intègre la rhéologie et la géométrie de la paroi ( $\text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$ ),  $P$  est la pression de turgescence (MPa) et  $Y$  est la pression de turgescence seuil permettant l'allongement cellulaire (MPa). Cette équation formalise la demande en eau résultant de l'extension de la paroi par l'incrément de pression ( $P-Y$ ).

### Aspect hydraulique

Se basant sur des observations réalisées sur des cellules isolées, Lockhart (1965) considère la cellule comme un osmomètre presque parfait et décrit l'aspect hydraulique du grandissement cellulaire. L'eau entre dans la cellule de façon passive suivant un gradient de potentiel hydrique :

$$\frac{1}{V} \cdot \frac{dV}{dt} = L_p \cdot \frac{A}{V} \cdot (\Psi_o - \Psi_i) = L \cdot (\Psi_o - \Psi_i) = L \cdot [P - \sigma_m (\pi_o - \pi_i)] \quad (2)$$

où,  $L_p$  est la conductance hydraulique du plasmalemme ( $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$ ),  $L$  est la conductance hydraulique volumique du plasmalemme ( $\text{mol m}^{-3} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$ ),  $A$  est la surface du plasmalemme ( $\text{m}^2$ ),  $V$  est le volume de la cellule ( $\text{m}^3$ ), et  $\Psi_o$  et  $\Psi_i$  sont les potentiels hydriques, respectivement, du milieu extérieur et du cytosol (MPa),  $\sigma_m$  est le coefficient de réflectivité membranaire (sans dimension) et  $P$  est la pression de turgescence ( $P = P_i - P_o$ ). L'équation (2) représente l'offre en eau pour la croissance et  $(\Psi_o - \Psi_i)$  représente la différence de potentiel hydrique induit par la croissance.

### Couplage des aspects mécanique et hydraulique

L'idée principale de Lockhart fut de coupler les aspects mécaniques et hydrauliques de la croissance. Lorsque la cellule est en régime permanent de croissance, le relâchement des parois et l'absorption d'eau se produisent de manière coordonnée. Dans le cas de cellules ayant une expansion mono-dimensionnelle, l'allongement est proportionnel à l'augmentation de volume.  $P$  apparaît comme le lien qui coordonne l'offre et la demande en eau. On peut combiner les équations (1) et (2) en éliminant  $P$ , on obtient une nouvelle expression de la vitesse relative d'expansion cellulaire :

$$r = \frac{L \cdot \phi}{L + \phi} \cdot [\sigma(\pi_o - \pi_i) - Y] \quad (3)$$

On peut remarquer, que si  $P$  est central pour la croissance, il n'apparaît pas dans cette équation. Cosgrove (1983) a discuté ce paradoxe apparent en montrant que la variable de couplage  $P$  n'est pas une variable indépendante, mais est fonction du rapport  $L/\phi$ . L'équation (3) est réduite à l'équation (1) si  $L$  est très inférieur à  $\phi$ . La conductivité hydraulique est alors le principal facteur limitant de la croissance. Elle est réduite à l'équation (2) si  $\phi$  est très inférieur à  $L$ . L'extensibilité pariétale est dans ce cas le principal facteur limitant de la croissance (Ray, Green & Cleland, 1972). Dans le cas de



cellules isolées, la valeur de  $L_p$  est si grande<sup>1</sup> que la cellule est en permanence en équilibre hydrique avec son environnement local, la conductivité hydraulique membranaire ne limite donc pas la vitesse d'expansion cellulaire (Boyer, 1985 ; Cosgrove, 1993a).

L'hypothèse implicite d'un comportement purement viscoplastique de la paroi n'a jamais clairement été démontrée sur des tissus en croissance intacts et cette hypothèse est peut être trop simple (Cosgrove, 1993b ; Nolte & Schopfer, 1997). Green, Erickson & Buggy (1971) et Zhu & Boyer (1992) ont montré que  $P$  ne contrôle pas à lui seul la vitesse d'allongement des cellules géantes de *Nitella* et de *Clara*. En effet, ces auteurs ont montré que  $Y$  (et peut être  $\phi$ ) est ajusté en quelques minutes pour maintenir la vitesse d'allongement constante quelle que soit la valeur de  $P$ . Ces observations montrent que la structure de la paroi est beaucoup plus dynamique qu'elle n'apparaît dans le modèle de Lockhart. Ceci limite l'utilisation des équations de Lockhart, car les relations  $\phi(t)$  et  $Y(t)$  ne sont pas encore connues.

A ce sujet il faut signaler, que Passioura & Fry (1992) ont proposé un modèle physico-chimique, basé sur des ruptures enzymatiques de liaisons covalentes et non sur la viscosité, qui rend compte des variations de  $\phi$  et  $Y$  en fonction du temps.

### *Passage de la cellule à l'organe*

Les comportements hydraulique et biomécanique d'une cellule isolée sont différents de ceux d'une cellule dans un tissu.

D'un point de vue hydrique, dans un tissu une cellule doit extraire l'eau d'un système vasculaire qui peut être distant de plusieurs couches de cellules. Ainsi, dans le cas d'un tissu pluricellulaire, la conductivité hydraulique extravasculaire ( $L_{eq}$ ) est différente de la conductivité hydraulique membranaire ( $L_p$ ) et comme nous l'avons précédemment vu sa définition est beaucoup plus délicate.  $L_{eq}$  intègre notamment la conductivité hydraulique des voies symplastique et apoplasmique (Cosgrove, 1993c ; Steudle, 1994). La détermination de  $L$  implique de connaître le trajet suivi par l'eau, ce qui est loin d'être le cas, surtout dans les feuilles. La géométrie de la surface d'échange est également beaucoup plus délicate à décrire que dans le cas d'une cellule isolée.

D'un point de vue mécanique,  $P$  dans l'équation (1) représente en fait la contrainte exercée sur la paroi dans la direction de la déformation, dans le cas d'une cellule isolée cette contrainte peut être assimilée à la pression de turgescence. Dans le cas d'un tissu, les contraintes exercées sur la paroi peuvent être très différentes de la pression de turgescence du fait des tensions internes générées par les contacts entre les cellules (Kutschera, 1995 ; Peters & Tomos, 1996).

De plus, la pression osmotique n'est pas une variable indépendante, elle dépend de la vitesse de croissance ( $dV/dt$ ). Donc, elle doit également dépendre des résistances hydraulique et mécanique du tissu. Enfin, en appliquant l'équation (3) à des tissus complexes, nous faisons une moyenne sur des cellules différentes de part leur tailles et leurs comportements hydrauliques et mécaniques, en espérant que la moyenne ait une signification. Il en est de même pour la pression de turgescence (Steudle, 1985).

Certains auteurs ont néanmoins transposé le modèle de Lockhart à l'échelle du tissu par analogie :

<sup>1</sup> typiquement 5 à 125 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> MPa<sup>-1</sup> pour des cellules végétales (Nobel, 1999).

$$r_{eq} = \frac{L_{eq} \cdot \phi_{eq}}{L_{eq} + \phi_{eq}} \cdot [(\pi_o - \pi_i) - Y_{eq}] \quad (4)$$

où  $\phi_{eq}$ ,  $L_{eq}$ ,  $Y_{eq}$  intègrent la géométrie et l'hétérogénéité de structure et de rhéologie du tissu.

Considérant que la résistance hydraulique à l'expansion est négligeable par rapport à la résistance mécanique, la croissance est souvent analysée par l'équation simplifiée (e.g. Tomos & Pritchard, 1994) :

$$r_{eq} = \phi_{eq} \cdot [P - Y_{eq}] \quad (5)$$

Dans les situations où le transport des solutés est limitant, cette simplification est fautive. Parce que  $\pi$  est proportionnel au rapport du flux d'eau sur le flux de solutés, le critère de cette simplification n'est pas seulement  $\phi \gg L$ , i.e.  $\Psi_o = \Psi_i$  (Steudle, 1985 ; Frensch, 1997). De plus, il apparaît que dans la plupart des études sur les racines ou les feuilles, les paramètres hydriques et mécaniques co-limitent la croissance (Boyer, 1985 ; Frensch, 1997).

En résumé, si le modèle de Lockhart est conceptuellement très utile, il est insuffisant pour décrire la dynamique complexe de la croissance à l'échelle du tissu ou de l'organe.

## CONTROLE BIOPHYSIQUE DE LA CROISSANCE A L'ECHELLE TISSULAIRE

### *Variations développementales*

Le profil de vitesse relative locale de croissance (REGR) de tige, de racine ou de feuille de monocotylédone a une forme en cloche, mais la pression de turgescence (Pritchard, Jones & Tomos, 1990 ; Spollen & Sharp, 1991) et la pression osmotique (Spollen, 1989 ; Fricke, McDonald & Mattson-Djos, 1997) sont plus ou moins uniformes le long de la zone de croissance. Ces deux variables ne contrôlent donc pas l'hétérogénéité développementale du REGR lorsqu'une cellule traverse la zone de croissance. L'existence de gradients des propriétés bio-rhéologiques est donc à l'origine de la variabilité développementale du REGR. Beusmans & Silk (1988) et Pritchard, Wyn Jones & Tomos (1988) ont mesuré des variations des paramètres bio-rhéologiques le long des zones de croissance de racines de maïs et de blé, mais ses variations n'expliquent pas à elles seules les profils de REGR mesurés.

Les mécanismes biochimiques et moléculaires responsables des modifications des propriétés bio-rhéologiques des parois sont multiples et leurs implications ne sont pas encore clairement comprises (Cosgrove, 1997 ; Cosgrove, 1999). Plusieurs activités enzymatiques telles que les xyloglucanes endotransglycosylases (Spollen *et al.*, 1993), les expansines (McQueen-Mason, 1995 ; Cosgrove, 1998), ou les peroxydases (de Souza & Macadam, 1998) semblent avoir un rôle important dans les processus de relaxation pariétale. Des changements rapides du pH de l'apoplasme (croissance acide), dus à l'extrusion de protons par les pompes  $H^+$ -ATPase, interviennent également (Bogoslavsky & Neumann, 1998 ; Winch & Pritchard, 1999).

En théorie, la conductivité hydraulique du tissu peut aussi contrôler la vitesse de croissance (Boyer, 1988). La conductivité hydraulique membranaire ne limite sûrement pas la croissance à elle seule. Mais, étant donné le nombre important de membranes que l'eau doit traverser pour atteindre l'épiderme, la diffusivité des tissus peut limiter la croissance. Les difficultés météorologiques, liées aux mesures de la conductivité hydraulique et de la diffusivité des tissus à cette échelle, font que nous ne disposons pas actuellement de données sur les profils de ces paramètres hydrauliques le long des zones de croissance.

#### *Variations en fonction des conditions de croissance*

Dans de nombreux cas, la linéarité entre la vitesse relative de croissance et la pression de turgescence a été vérifiée (*e.g.* Greacen & Oh (1972) dans des racines de pois ; Bunce (1977) dans des feuilles de soja ; Matthews, Van Volkenburgh & Boyer (1984) dans des feuilles de tournesol ; Hsiao, Silk & Jing (1985) dans des racines de maïs et Pardossi, Pritchard & Tomos (1994) dans des racines de blé). Il semble donc d'après ces résultats que la croissance réponde bien aux hypothèses du modèle de Lockhart et que  $\phi_{eq}$  et  $Y_{eq}$  sont très peu sensibles aux conditions de croissance, alors que la pression de turgescence contrôle la vitesse de croissance.

Cependant, un nombre aussi important de travaux, où les paramètres bio-rhéologiques de la croissance ont été analysés en diminuant la vitesse de croissance en manipulant : le potentiel hydrique du sol (ou de la solution nutritive) (Acevedo *et al.*, 1971 ; Matsuda & Riazi, 1981 ; Michelena & Boyer, 1982 ; Frensch & Hsiao, 1994 ; Frensch & Hsiao, 1995 ; Triboulot *et al.*, 1995), la température (Thomas *et al.*, 1989 ; Pritchard, Jones & Tomos, 1991), la nutrition minérale (Fricke, 1997 ; Triboulot, Pritchard & Levy, 1997) ou la transpiration (Shackel, Matthews & Morrison, 1987 ; Pritchard *et al.*, 1991), montrent que la pression de turgescence est relativement constante, alors que les paramètres bio-rhéologiques sont très sensibles aux conditions de croissance.

La mesure en continue de  $P$  - grâce à une sonde à pression cellulaire - suite à une modification des conditions de croissance, montre que les propriétés bio-rhéologiques changent et sont ajustées en quelques minutes (Shackel *et al.*, 1987 ; Frensch & Hsiao, 1994 ; Frensch & Hsiao, 1995). Par exemple, lorsque le potentiel hydrique de la solution nutritive de jeunes plantes de maïs est rapidement abaissé de 0,3 MPa, la vitesse d'allongement racinaire chute immédiatement ainsi que la pression de turgescence (Frensch & Hsiao, 1994 ; Frensch & Hsiao, 1995). En quelques minutes, la chute de la pression de turgescence est compensée, complètement ou partiellement, par une augmentation de la pression osmotique et une diminution de  $Y_{eq}$ , alors que  $\phi_{eq}$  reste constant et la vitesse de croissance augmente et se stabilise 30 minutes après le changement de la pression osmotique de la solution nutritive (Frensch & Hsiao, 1994 ; Frensch & Hsiao, 1995).

A court terme (secondes, minutes) la croissance foliaire est généralement contrôlée par l'état hydrique de la plante (Nonami & Boyer, 1990b ; Malone, 1996 ; Nonami, Wu & Boyer, 1997). A plus long terme (heures, jours) la pression de turgescence semble être dans la plupart des situations maintenue constante grâce à une osmorégulation et à un ajustement des paramètres bio-rhéologiques (Chazen & Neumann, 1994 ; Frensch, 1997). Mais il apparaît que les modes de contrôle de la croissance ne sont pas universels. Ils peuvent dépendre de l'espèce étudiée (Lu & Neumann, 1998), de l'organe en croissance considéré (Sharp & Davies, 1979), du stade de développement (Yeo *et al.*, 1991) ou du mode de modification de la croissance. Par exemple, il apparaît

clairement dans l'étude de Pardossi *et al.* (1994) que le froid et la lumière ne modifie pas les propriétés bio-rhéologiques des parois des feuilles de haricot et que la pression de turgescence rend entièrement compte des variations de vitesse de croissance foliaire, à court terme comme à long terme.

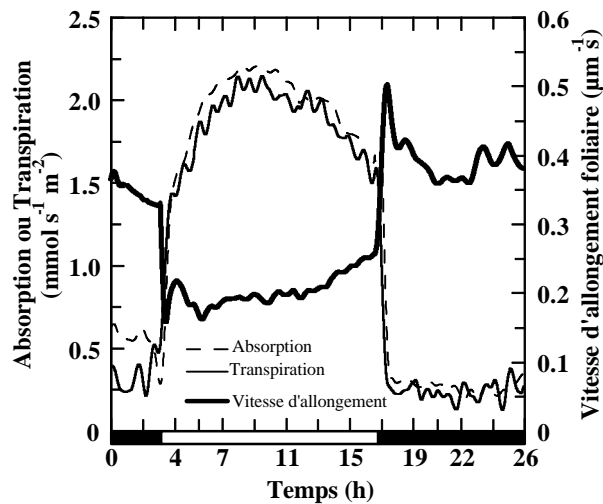
La nature (hydraulique, métabolique ou bio-rhéologique) de la régulation de la vitesse croissance semble être liée à l'état hydrique de la plante. Ainsi, dans des conditions de faible transpiration ou de potentiel hydrique du sol élevé, la limitation de la croissance semble être essentiellement bio-rhéologiques (Shackel *et al.*, 1987 ; Zhu & Boyer, 1992 ; Hsiao, Frensch & Rojas-Lara, 1998). A l'inverse, dans des conditions de forte transpiration ou de potentiel hydrique du sol faible, la différence entre  $P$  et  $Y_{eq}$  est faible et limite davantage la croissance que les propriétés bio-rhéologiques (Hsiao *et al.*, 1998).

Les résultats apparemment contradictoires dans la littérature, proviennent en partie du fait que l'on compare la pression de turgescence à la vitesse absolue de croissance et non à la vitesse relative, qui correspond à la vitesse d'allongement par unité de longueur de tissu en croissance (Hsiao *et al.*, 1998). Si la longueur de la zone de croissance diminue, la vitesse de croissance va être réduite, même si la vitesse relative de croissance reste constante (Sharp, Silk & Hsiao, 1989). Il est donc nécessaire de mesurer la longueur de la zone de croissance et de comparer les différentes situations de croissance, non pas en terme de vitesse absolue de croissance, mais de vitesse relative par rapport à la longueur de la zone de croissance.

Une autre source de confusion provient des mesures de l'état hydrique. Les techniques "globales", telles que la chambre à pression et les psychromètres, donnent une mesure moyenne du potentiel hydrique d'un organe, à l'équilibre et en l'absence de transpiration (Bayer, 1995). Or il peut exister des gradients importants au sein d'un tissu, une mesure moyenne de la pression de turgescence d'un organe peut donc masquer des variations locales (*e.g.* Nonami *et al.*, 1997). Pour la même raison, il faut interpréter les mesures réalisées avec la sonde à pression cellulaire avec précaution (*e.g.* Nonami *et al.*, 1997).

## RELATIONS ENTRE LA TRANSPIRATION ET LA CROISSANCE FOLIAIRE

Chez de nombreuses espèces de graminées, lorsque la température de la zone de croissance est maintenue constante, la vitesse d'allongement foliaire est plus importante la nuit que le jour (*e.g.* Schnyder & Nelson, 1988 ; Kozinka, 1989 ; Durand *et al.*, 1995). En conditions contrôlées, lorsque l'on éteint la lumière, la vitesse d'allongement augmente rapidement puis diminue de manière exponentielle pour se stabiliser à une vitesse supérieure à la vitesse de jour (figure 12). Lors de l'allumage des lampes, on observe le phénomène inverse : la vitesse d'allongement chute rapidement, puis se stabilise à une vitesse inférieure à la vitesse de nuit. Les variations nyctémérales de la vitesse d'allongement coïncident avec les variations de transpiration (figure 12). Ces perturbations de la vitesse d'allongement, lors des transitions jour/nuit et nuit/jour, sont supprimées par une défoliation ou un ombrage des feuilles (Christ, 1978 ; Cutler *et al.*, 1980 ; Martre, non publié) ou par application d'une substance antitranspirante sur les feuilles (Christ, 1978).



**Figure 12**

Évolution journalière de la vitesse d'allongement foliaire, de la transpiration et de l'absorption d'une talle de fétuque élevée en conditions contrôlées. L'absorption et la transpiration sont mesurées en continu par gravimétrie. L'allongement foliaire est mesuré en continu par un capteur linéaire de déplacement. La température de la zone de croissance est maintenue à 24 °C. Voir la publication 3 pour plus de détails sur les méthodes de mesure (Martre, non publié.)

Lorsque l'on augmente l'humidité de l'air le jour, la transpiration diminue et la vitesse d'allongement augmente et la différence entre les vitesses d'allongement de jour et de nuit diminuent (Parrish & Wolf, 1983 ; Waldron & Terry, 1987 ; Ben Haj Salah & Tardieu, 1996 ; Clifton-Brown & Jones, 1999). Chez la fétuque élevée, une défoliation partielle (des feuilles matures) augmente instantanément la vitesse d'allongement (Wolf & Parrish, 1982). Il semble donc bien exister une limitation hydraulique de l'expansion foliaire. La rapidité (quelques secondes) de la réponse de la vitesse d'allongement aux variations de l'humidité de l'air, supporte l'hypothèse d'une limitation de la vitesse d'allongement le jour par une disponibilité en eau réduite. L'augmentation de l'humidité de l'air la nuit augmente également la vitesse d'allongement, bien que les stomates soient fermés et que la transpiration soit faible (Wolf & Parrish, 1982 ; Waldron & Terry, 1987). La compétition pour l'eau entre les flux de transpiration et de croissance semble donc aussi exister la nuit.

Ben Haj Salah & Tardieu (1996) ont décorrélé l'effet du rayonnement, de la température et de l'humidité de l'air sur la vitesse de croissance foliaire du maïs. Ils ont ainsi montré qu'à des pas de temps supérieurs à deux heures, l'éclairement n'a pas d'effet *per se* (entre 0 et 1500  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) sur la vitesse de croissance foliaire. A température constante, l'effet du niveau d'éclairement sur la vitesse d'allongement est entièrement expliqué par les variations de l'humidité de l'air.

En conditions contrôlées, la transpiration et la photosynthèse de la fétuque élevée oscillent de manière sinusoïdale avec une période d'environ 15 minutes (Parrish & Wolf, 1983) - probablement à cause de la régulation de la température et de l'humidité de l'air dans la chambre de culture, qui suit généralement un cycle sinusoïdal. La vitesse d'allongement foliaire oscille avec la même période, mais est en déphasage avec la transpiration et la photosynthèse. La vitesse d'allongement est maximale quand la transpiration et la photosynthèse sont minimales. Seules des variations du potentiel hydrique de la plante peuvent expliquer la rapidité de ces variations et le déphasage de la croissance et de la transpiration (Parrish & Wolf, 1983). La nuit, il n'y a pas de variations cycliques de la vitesse d'allongement et des échanges gazeux (Parrish & Wolf, 1983). D'après ces auteurs, la diminution du potentiel hydrique durant la phase diurne créerait un état instable entre le potentiel hydrique du xylème et des cellules en croissance. Cette idée d'état instable est renforcée par les travaux récents de Hsiao *et al.* (1998). Ces auteurs ont analysé l'effet d'une pressurisation du système racinaire sur la

vitesse d'allongement foliaire de jeunes plants de maïs. Lorsque la transpiration est faible ou que le potentiel du sol est élevé, la vitesse de croissance foliaire est très peu sensible à une augmentation de l'état hydrique de la plante par pressurisation du système racinaire. Par contre, lorsque la transpiration est élevée ou que le potentiel du sol est faible (-0,3 MPa), la vitesse d'allongement foliaire est très sensible à la pressurisation des racines. Les faibles variations de pression appliquées par ces auteurs (0,025 MPa) illustrent la très forte sensibilité de la vitesse d'allongement foliaire à l'état hydrique de la plante lorsque la croissance et la transpiration sont en compétition.

L'analyse de ces résultats nous a permis de montrer les interactions étroites qui existent entre la transpiration et la croissance. Nous allons maintenant analyser plus en détail les flux d'eau liés à la croissance et à la transpiration.

### *CIRCULATION ET COMPARTIMENTATION DE L'EAU DANS LA PLANTE*

Les mécanismes de la circulation de l'eau induit par la transpiration ont été formulés à la fin du siècle dernier par Dixon & Joly (1895). D'après cette théorie, l'eau est "tirée" vers le haut, depuis le sol, par la transpiration. L'énergie reçue à la surface des feuilles crée une différence de pression de vapeur d'eau entre la surface foliaire et l'intérieur de la feuille qui entraîne une évaporation de l'eau (*i.e.* passage de l'état liquide à l'état vapeur). L'évaporation à l'interface air-eau augmente le rayon de courbure des ménisques d'eau dans les parois pectocellulosiques des cellules du mésophylle, ce qui génère des tensions capillaires à leurs niveaux. Ces tensions créent un gradient de potentiel hydrique dans la feuille qui se propage jusqu'aux racines par l'intermédiaire des vaisseaux du xylème. Cette théorie de l'ascension de l'eau est appelée théorie de la tension-cohésion ; tension, car c'est la "force" qui crée l'ascension de l'eau ; cohésion, car c'est la cohésion des molécules d'eau entre elles, grâce à des liaisons hydrogènes, qui permet le développement de tensions de plusieurs dizaines de bars dans les vaisseaux du xylème sans qu'il y ai rupture de la colonne d'eau (Stedle, 1995).

Nous allons ici nous limiter à la circulation de l'eau dans la plante à l'état liquide, les mouvements d'eau à l'état de vapeur dans les feuilles et la régulation stomatique de la transpiration ne seront pas spécifiquement traités ; on pourra se reporter aux synthèses de Schulze (1984 ; 1986 ; 1993) et Jones (1998).

Avant de rentrer dans les détails de la circulation et de la compartimentation de l'eau dans la plante, nous allons présenter quelques définitions et les principales bases physiques concernant les mouvements d'eau en phase liquide.

## BASES THERMODYNAMIQUES DES MOUVEMENTS D'EAU EN PHASE LIQUIDE

Les mouvements d'eau sont décrits par l'équation phénoménologique générale de transport :

$$\text{densité de flux} = \text{coefficient de proportionnalité} \times \text{force motrice} \quad (6)$$

Cette équation est analogue à la loi d'Ohm<sup>1</sup>, qui décrit les mouvements de charges électriques dans un circuit électrique.

En physiologie, le coefficient de proportionnalité est conventionnellement appelé une **conductance**. Dans certains cas, il est plus commode de considérer son inverse qui est appelé une **résistance**.

Avant de définir la **force motrice** il est utile de redéfinir la notion de **potentiel hydrique** ( $\Psi$ ).  $\Psi$  est défini comme "le travail volumique qu'il faut fournir à l'eau du système pour le ramener à un état de référence (eau dite "libre" = eau pure à même température et à pression atmosphérique), au cours d'une transformation isotherme et quasi-statique". Autrement dit,  $\Psi$  est égal au potentiel chimique de l'eau du système (énergie libre/mol) divisé par le volume molaire de l'eau liquide ( $18 \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1}$ ; généralement considéré comme constant dans la gamme des températures biologiques).  $\Psi$  est donc une variable intensive (non reliée à la quantité d'eau présente mais à son état énergétique), ayant la dimension d'une énergie par unité de volume ( $\text{J m}^{-3}$ ) et est donc homogène avec une pression (unité usuelle  $\text{MPa}^2$ ). Le potentiel hydrique est toujours comparé à un potentiel de référence qui est le potentiel hydrique de l'eau libre à pression atmosphérique. Le potentiel de référence est par convention égal à zéro.

Dans un tissu végétal le potentiel hydrique se décompose au premier ordre en deux termes<sup>3</sup> :

$$\Psi = P - \pi \quad (7)$$

où,  $P$  est la **pression hydrostatique**,  $\pi$  est la **pression osmotique**. A l'intérieur d'une cellule  $P$  est appelée **pression de turgescence**.

La force motrice des mouvements d'eau provient de différences de concentration en solutés et de pression hydrostatique. La différence de concentration en solutés de part et d'autre d'une membrane semi-perméable est équivalente à une différence de pression agissant sur l'eau adjacente à la membrane, c'est pourquoi on parle de pression osmotique. L'efficacité en tant que force motrice d'une différence de pression osmotique dépend de la sélectivité du milieu traversé vis à vis des solutés. Cette sélectivité est définie par le coefficient de réflectivité ( $\sigma^4$ , sans unité). La valeur de  $\sigma$  est

<sup>1</sup> lorsque qu'un courant électrique continu ( $I$ ) traverse un conducteur, la différence de potentiel électrique ( $V$ ) entre ces deux bornes, est proportionnelle au courant, avec une constance de proportionnalité qui est la résistance du conducteur ( $R$ ) - i.e.  $U = RI$ .

<sup>2</sup>  $10^6 \text{ Pa} = 1 \text{ MPa} = 0.1 \text{ bar} = 0.0987 \text{ atmosphères}$ .

<sup>3</sup> Il existe également une composante matricielle, liée aux fractions colloïdales de la paroi et du cytoplasme, qui peut être négligée pour des potentiels hydriques supérieurs à  $-40 \text{ MPa}$  (Passioura, 1980). Un quatrième terme, dû au potentiel gravitationnel, dont le gradient est de  $0.01 \text{ MPa m}^{-1}$ , peut être négligé chez les plantes herbacées.

<sup>4</sup>  $\sigma$  est définie par  $(dP/d\pi)_{\Psi=0}$ , c'est à dire le rapport à l'équilibre entre la différence de pression osmotique appliquée et la variation de pression de turgescence induite par le changement osmotique.  $\sigma$  dénote donc la sélectivité passive d'une membrane ou d'une barrière, c'est une mesure de l'interaction entre l'eau et les solutés dans une membrane ou une barrière.

comprise entre 0 et 1 ;  $\sigma = 1$  dans le cas d'un milieu où les solutés sont totalement exclus, le milieu est alors dit hémiperméable ;  $\sigma = 0$  lorsque les solutés ne sont pas exclus du milieu, la force motrice due à la différence de pression osmotique est alors négligeable<sup>1</sup>.

Les mouvements d'eau se font spontanément dans le sens des potentiels hydriques décroissants - *i.e.* vers les potentiels plus négatifs. Dans le cas d'une cellule délimitée par une membrane semi-perméable, la densité de flux à travers la membrane, assimilée au flux d'eau ( $J_v$ , mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) est donnée par (Dainty, 1969) :

$$J_v = L_p \cdot (\Delta P - \sigma_m \cdot \Delta \pi) \quad (8)$$

où,  $L_p$  est la conductance hydraulique membranaire (mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> MPa<sup>-1</sup>),  $\Delta P$  est la différence de pression hydrostatique de part et d'autre de la membrane (MPa),  $\Delta \pi$  est la différence de pression osmotique de part et d'autre de la membrane (MPa) et  $\sigma_m$  est le coefficient de réflectivité membranaire (sans unité). L'unité de la conductance dépend de l'unité du flux.

Dans un milieu poreux (*e.g.* les parois cellulaires) ou un capillaire (*e.g.* les conduits du xylème)  $\sigma$  est nul. La force motrice pertinente est alors la différence de pression hydrostatique :

$$J_v = L_p \cdot \Delta P \quad (9)$$

où,  $L_p$  est la conductance hydraulique du milieu traversé (mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> MPa<sup>-1</sup>).  $L_p$  dépend de la distance parcourue. Si le milieu traversé est homogène, la conductance multipliée par la distance parcourue est égale à la **conductivité hydraulique** ( $L = L_p \cdot \Delta x$ , mol m<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup> MPa<sup>-1</sup>) :

$$J_v = L \cdot \frac{\Delta P}{\Delta x} \quad (10)$$

La conductivité est une grandeur très utile car c'est une propriété du matériau à travers lequel le flux s'effectue. L'inverse de la conductivité est appelé **résistivité**.  $\Delta P/\Delta x$  est égale au gradient de pression hydrostatique. Notons que l'équation (9) est un cas particulier de l'équation (8), où  $\sigma = 0$ . Nous reviendrons en détail sur le transport d'eau dans le xylème dans la section "le trajet xylémien".

Dans un tissu pluricellulaire, l'eau peut emprunter plusieurs voies parallèles, (*i*) à travers les parois cellulaires, c'est la **voie apoplastique** ; (*ii*) de cellule à cellule *via* les plasmodesmes, c'est la **voie symplastique** ; (*iii*) de cellule à cellule en traversant le plasmalemma, c'est la **voie transcellulaire**. Il est difficile de distinguer la conductivité hydraulique des voies symplastique et transcellulaire, c'est pourquoi on parlera généralement de voie symplastique sans distinguer s'il s'agit de l'une de ces deux voies.

Dans un tissu où l'eau peut emprunter à la fois la voie symplastique et apoplastique, le trajet de l'eau dépend de la conductance de chacune des voies et de la nature de la force motrice (osmotique ou hydrostatique). On mesure habituellement la conductance

<sup>1</sup> aux effets de couche limite près ("unstirred layer" en anglais).



hydraulique équivalente ( $Lp_{eq}$ ) d'un tissu en appliquant une différence de pression osmotique ou hydrostatique connue de part et d'autre du tissu et en mesurant le flux généré par la force motrice appliquée :

$$Lp_{eq} = \frac{J_v}{(\Delta P - \sigma_{eq} \Delta \pi)} \quad (11)$$

où,  $\sigma_{eq}$  est le coefficient de réflectivité équivalent du tissu.  $Lp_{eq}$  et  $\sigma_{eq}$  intègrent les propriétés de l'apoplasme et du symplasme, et sont fonctions de la nature de la force motrice (Steudle, 1994).

On ne connaît pas le trajet exact de l'eau dans un tissu pluricellulaire, on ne peut donc pas calculer sa conductivité hydraulique. Afin de normaliser la conductance on peut l'exprimer par unité de surface de tissu ou par unité de poids. On parlera alors de **conductance spécifique**. Si par exemple la conductance du mésophylle d'une feuille est normalisée par la surface foliaire, on parlera alors de conductance spécifique foliaire du mésophylle.

La conservation de la masse d'eau d'une plante ou d'un tissu peut être écrite (Boyer, 1985) :

$$A - T = H + G \quad (12)$$

où,  $H$  est le flux de réhydratation ou de déshydratation des tissus,  $A$  est le flux d'absorption,  $T$  est le flux de transpiration et  $G$  est le flux de croissance.

Si  $(A-T) \neq 0$ , alors le flux est non conservatif. Les conditions de flux non conservatifs peuvent donc se rencontrer lorsque  $G$  ou/et  $H$  ne sont pas nulles. Notons que, les mouvements d'eau entre organes font que le flux peut être conservatif à l'échelle de la plante mais pas de l'organe (Bunce, 1978).

Dans un tissu mature, lorsque le flux d'eau n'est pas conservatif, *i.e.* dans des conditions où le volume d'eau du tissu change, les variations de volume d'eau relatives et de pression de turgescence d'un tissu mature sont reliées par le module d'élasticité global du tissu<sup>1</sup> ( $\epsilon$ , MPa) :

$$\frac{\Delta V}{V} = \frac{1}{\epsilon} \cdot \Delta P \quad (13)$$

où,  $V$  est le volume en eau du tissu.

$\epsilon$  est une mesure de la rigidité du tissu. L'inverse de  $\epsilon$  donne directement la variation relative de volume du tissu par unité de variation de pression turgescence et représente donc l'élasticité du tissu. Dans la plupart des tissus étudiés,  $\epsilon$  est fonction de la pression de turgescence du tissu<sup>2</sup> (Zimmermann & Steudle, 1978 ; Steudle, 1992).

<sup>1</sup>  $\epsilon$  est différent du module d'élasticité du matériau de la paroi (et d'une cellule), il intègre la structure et la géométrie du tissu, ainsi que la nature des interactions entre les cellules dans le tissu. La valeur de  $\epsilon$  des tissus végétaux varie de 1 à 50 MPa, les plus fortes valeurs indiquant des cellules relativement rigides (Jones, 1992).

<sup>2</sup> Le module d'élasticité d'un solide homogène est constant en fonction du volume. Les tissus végétaux ne sont ni des solides, ni homogènes et lorsqu'ils sont compressés ils perdent de l'eau (*i.e.* il n'y a pas conservation de la matière comme dans un solide). Il n'est donc pas étonnant que  $\epsilon$  d'un tissu végétal ait un comportement fortement non linéaire, augmentant généralement avec la pression de turgescence du tissu, d'une manière approximativement hyperbolique à partir d'une valeur proche de zéro pour une turgescence nulle.

Le temps d'équilibre hydrique d'un tissu est faible devant le temps nécessaire pour que  $\pi$  change significativement suite à une absorption active de solutés ou par diffusion à travers les membranes. En combinant les équations (7) et (13) on obtient :

$$\frac{\Delta V}{\Delta \Psi} = C = \frac{V}{\varepsilon + \pi} \quad (14)$$

$\Delta V/\Psi$  est égale à la **capacitance hydraulique** du tissu ( $C$ , mol MPa<sup>-1</sup>). On peut remarquer que la capacité de stockage d'eau d'un tissu n'est pas uniquement fonction de son volume, mais aussi de son extensibilité élastique ( $1/\varepsilon$ ) et de sa pression osmotique. Dans la plupart des tissus végétaux  $\varepsilon \gg \pi$ <sup>1</sup>, les variations de potentiel hydrique consistent donc essentiellement en des variations de pression de turgescence (Steudle, 1992).  $C$  est équivalent à une capacitance électrique ; lorsque le potentiel hydrique du tissu change le tissu se "décharge" ou se "charge" en eau *via* une résistance hydraulique.

La constante de temps ( $\tau$ ) d'hydratation ou de déshydratation du tissu, est définie par :

$$\tau = \frac{T_{1/2}}{\ln(2)} = C \cdot \frac{1}{Lp_{eq} \cdot A} \quad (15)$$

où,  $T_{1/2}$  est le temps de demi équilibre du tissu.  $A$  est la surface du tissu perpendiculaire au flux. Notons que,  $\tau$  est analogue à la constante de temps d'un circuit électrique ( $= R \cdot C$ ).

Les équations 13 à 15 décrivent les relations entre le volume cellulaire et les composantes du potentiel hydrique dans un tissu mature. La représentation du potentiel hydrique et de ces composantes en fonction des variations de volume d'eau est appelée diagramme de Höfler (Figure 13).

Dans les tissus en croissance, par opposition aux tissus matures, on doit considérer une extensibilité qui dépend du temps, *i.e.* l'extensibilité n'est pas simplement donnée par  $1/\varepsilon$ , mais doit également incorporer le temps et l'extensibilité viscoplastique des parois,  $\phi_{eq}$ . Si on reprend l'équation mécanique du modèle de Lockhart généralisée à un tissu (5) :

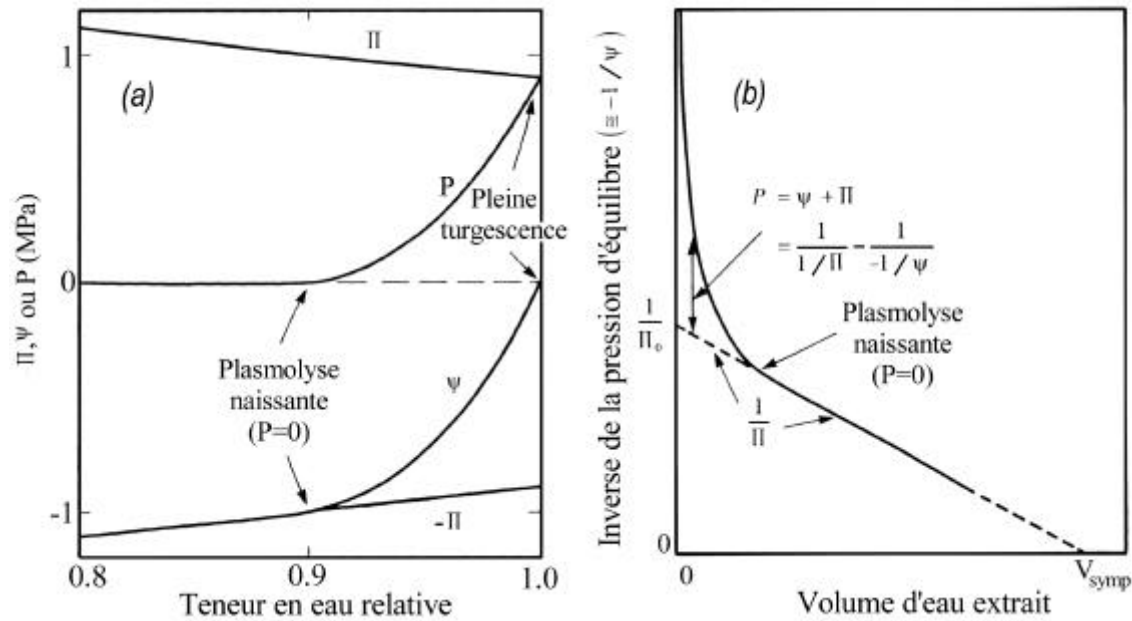
$$\frac{1}{V} \cdot \frac{dV}{dt} = \phi_{eq} \cdot (P - Y_{eq}) \quad (16)$$

On remarque que dans un tissu en croissance la pression de turgescence dépend de la vitesse de déformation des parois. La capacitance hydraulique d'un tissu en croissance ( $C_g$ ) s'écrit donc (Ortega, 1985 ; Steudle, 1994):

$$C_g = \frac{V}{\frac{1}{\phi_{eq} \cdot dt + \varepsilon} + \pi} \quad (17)$$

En analogie électrique  $C_g$  est en fait équivalent à une résistance.

<sup>1</sup> Dans les tissus des plantes supérieures  $\varepsilon$  est compris entre 0.5 et 5 MPa (Nobel, 1999).



**Figure 13**

**A** Diagramme de Höfler, montrant la relation entre le potentiel hydrique ( $\Psi$ ), la pression osmotique ( $\Pi$ ) et la pression de turgescence ( $P$ ) dans un tissu végétal pour différentes teneur en eau relative. Au fur et à mesure que  $\Psi$  diminue,  $P$  diminue, jusqu'au point de plasmolyse naissante, où  $P=0$ . La diminution de  $P$  crée une légère contraction du protoplasme, et donc une légère concentration des solutés. Ainsi,  $\Pi$  augmente légèrement lorsque  $P$  diminue [ $\Pi V = \text{constante} = \Pi(V_{\text{symplasme}} - V_{\text{extrait}})$ ]. La chute de volume d'eau du protoplasme de 10%, de la pleine turgescence à la plasmolyse naissante, est caractéristique des tissus végétaux. **B** Le diagramme de Höfler est construit à partir d'une courbe pression volume, qui montre la relation entre l'inverse de la pression d'équilibre déterminée dans une chambre à pression et le volume d'eau extrait au fur et à mesure que la pression dans la chambre est augmentée. La ligne continue montre une gamme de points expérimentaux typiques pour un tissu végétal. L'inverse de la pression osmotique ( $1/\Pi$ ), en particulier sa valeur à pleine turgescence ( $1/\Pi_0$ ), la pression de turgescence, le point de plasmolyse naissante, ainsi que le volume du symplasme, peuvent être déterminés à partir d'une telle courbe  $P$ - $V$ . Le module d'élasticité global du tissu peut également être calculé à partir d'une telle courbe [ $\epsilon = \Delta P/(\Delta V/V)$ ]. (d'après Noble, 1999).

Du fait des analogies hydraulique-électriques présentées précédemment, la théorie des circuits électriques est directement applicable à l'analyse du réseau hydraulique des plantes. Elle permet de construire une représentation électrique du système hydraulique étudié, tant à l'échelle cellulaire (Molz *et al.*, 1979 ; Molz & Ferrier, 1982) qu'à celle de la plante entière (Tyree, 1988 ; Sperry *et al.*, 1998). Ainsi, nous avons utilisé l'analogie électrique pour calculer la conductance radiale des limbes foliaires et le potentiel hydrique du xylème et du mésophylle des différentes feuilles d'une talle de fétuque élevée (voir publication 3).

L'ensemble de ces rappels étant fait, nous pouvons maintenant nous intéresser plus en détail à la circulation et à la compartimentation de l'eau dans la plante.

Le cheminement de l'eau à travers la plante depuis l'interface sol/racine jusqu'aux surfaces d'évaporation se déroule en phase liquide et comprend trois étapes. Dans la première, l'eau circule de cellule à cellule (voie symplastique) ou dans les parois cellulaires (voie apoplastique) depuis la surface des racines jusqu'aux vaisseaux du cylindre central. Elle circule ensuite dans les conduits du xylème avant un nouveau trajet extravasculaire dans les parties aériennes de la plante. L'eau peut alors avoir trois destinations, (i) elle peut être perdue par transpiration, (ii) ou bien participer aux

variations de volume d'eau des tissus matures, (iii) ou encore participer à l'expansion cellulaire dans les tissus en croissance. Les trajets extravasculaires, s'effectuent sur des distances très courtes (quelques millimètres) mais correspondent à des résistances importantes. Le trajet xylémien, au contraire, s'effectue sur des longues distances (jusqu'à plusieurs mètres), mais correspond à des résistances faibles.

Étant donné l'anisotropie des différents trajets, les flux d'eau dans le xylème sont appelés **flux axiaux**. Par opposition les flux d'eau extravasculaires, qui s'effectuent sur de faibles distances, sont appelés **flux radiaux**. Par analogie, la conductance (la conductivité) du xylème est appelée **conductance (conductivité) axiale** et la conductance (la conductance spécifique) des trajets extravasculaire est appelée **conductance (conductance spécifique) radiale**.

Cette présentation faite, nous pouvons maintenant analyser plus en détail les données que nous pouvons trouver dans la bibliographie sur chacun des trajets de l'eau dans la plante.

### *ABSORPTION RACINAIRE*

L'absorption racinaire dépend autant des interactions entre le sol et les racines que des processus qui influencent le transport de l'eau à l'intérieur des racines (Passioura, 1988b). La résistance de l'interface sol/racine peut augmenter considérablement lorsque le sol s'assèche, car la contraction des racines diminue la surface de contact entre le sol et les racines (Passioura, 1982). En solution hydroponique, la résistance de l'interface solution/racine est évidemment négligeable.

La conductance hydraulique des racines augmente au cours du développement de la plante. Si on exprime la conductance racinaire en fonction de la surface de racine ou de la surface foliaire, elle reste relativement constante au cours du développement, que ce soit chez les espèces herbacées (Fiscus & Markhart, 1979) ou ligneuses (Tyree, Velez & Dalling, 1998). Toutefois, ces travaux ont été réalisés sur des plantes relativement jeunes et ne peuvent pas être généralisés à des plantes adultes, en particulier pour les espèces ligneuses.

### *Sites d'absorption*

Il existe un gradient de développement le long des racines (McCully, 1999b), qui peut affecter les propriétés de transport. Par exemple, lorsque la bande de Caspary se différencie et interrompt le flux apoplastique de solutés (Sanderson, 1983 ; Melchior & Steudle, 1993) ou dans la zone d'élongation où la résistance axiale peut être supérieure à la résistance radiale (Frensch & Steudle, 1989).

Il est classiquement admis que chez la plupart des espèces l'absorption d'eau se situe principalement entre 10 et 100 mm de la coiffe racinaire - *i.e.* entre la fin de la zone d'élongation, où les vaisseaux de métaxylème primaire sont matures, et la zone où les lamelles de subérine se déposent dans les parois des cellules de l'endoderme - ainsi qu'aux points d'émergence des racines latérales - où l'endoderme est discontinu - (Tanton & Crowdy, 1972 ; Passioura, 1988b ; Melchior & Steudle, 1993). Mais au moins chez l'orge, il semble que l'absorption d'eau soit importante au-delà de la zone de subérisation de l'endoderme (Sanderson, 1983).

On ne dispose pas actuellement d'études détaillées de la réparation de la résistance hydraulique dans un système racinaire et de ses conséquences sur la localisation des sites d'absorption. En particulier, il n'a toujours pas été clairement montré si les parties matures subérisées sont ou non des zones d'absorption actives. Mais la faible proportion de racines non subérisées et le peu de volume de sol qu'elles occupent tendent à montrer que les racines non subérisées ne peuvent assurer à elle seules l'alimentation hydrique et minérale, au moins chez les plantes pérennes (Kramer & Boyer, 1995). Doussan, Pagès & Vercambre (1998a) et Doussan, Vercambre & Pagès (1998b) ont récemment développé un modèle d'absorption racinaire en couplant un modèle de développement racinaire et un modèle hydraulique en éléments finis. Les résultats de leur modèle mettent en évidence l'importance de l'architecture hydraulique du système racinaire, notamment, du rapport entre les conductivités hydrauliques axiale et radiale sur la localisation de l'absorption et des chutes de potentiel hydrique (Doussan, Vercambre & Pages, 1999). Le système racinaire présente une grande plasticité vis à vis des variations spatiales et temporelles de disponibilité en eau dans le sol qui sont importantes à prendre en compte (North & Nobel, 1998 ; North & Nobel, 2000).

#### *Localisation de la résistance radiale au flux d'eau*

Il n'existe que très peu d'études où à la fois les conductivités radiale et axiale ont été mesurées ensemble (*e.g.* Frensch & Steudle, 1989 ; North & Nobel, 1991 ; Melchior & Steudle, 1993). Toutefois, l'ensemble de ces études montre que la résistance axiale est négligeable par rapport à la résistance radiale. Chez l'orge (Sanderson *et al.*, 1988), le maïs (St Aubin *et al.*, 1986) ou encore le soja (Kevekordes, McCully & Canny, 1988), les vaisseaux de métaxylème secondaire ne sont matures qu'à 200 ou 300 mm de l'apex. Malgré la faible conductivité axiale dans la région immature, la conductivité radiale est encore beaucoup plus faible que la conductivité axiale et limite le flux d'eau également dans cette zone immature (Frensch & Steudle, 1989 ; Melchior & Steudle, 1993).

Classiquement on considère que la résistance majeure aux flux d'eau et de solutés à travers la racine se situe au niveau de l'endoderme, où la bande de Caspary oblige l'eau et les solutés à emprunter la voie symplastique (Weatherley, 1963 ; Tanton & Crowdy, 1972). Mais Peterson, Murrmann & Steudle (1993) ont montré que l'endoderme ne limite pas le flux d'eau dans les jeunes racines de maïs cultivées en hydroponie et que la résistance radiale au flux d'eau est répartie de manière assez homogène dans les différents tissus. Par contre, même dans le cas de jeunes racines de maïs, l'endoderme est une barrière physique au flux de solutés et permet de générer une différence de pression osmotique importante entre la stèle et le cortex (Peterson & Steudle, 1993). Dans ces mêmes racines la paroi longitudinale du xylème représente 15 à 30% de la résistance au flux radial d'eau (Peterson & Steudle, 1993).

En comparant l'anatomie et la conductivité hydraulique racinaire de plusieurs espèces, Rieger & Litvin (1999) ont montré que la conductivité hydraulique totale est négativement corrélée au diamètre des racines et surtout à l'épaisseur du cortex. Ces résultats tendent à montrer que le flux d'eau radial est davantage limité par le cortex que par l'endoderme.

#### *Couplage du flux d'eau et de solutés*

La racine est une structure composite où l'eau et les solutés suivent différents trajets parallèles (apoplasme, symplasma, transcellulaire) à travers différents tissus arrangés en série (épiderme, cortex, stèle).

Habituellement, l'absorption d'eau et de solutés par les racines est traitée par un modèle à deux compartiments (Weatherley, 1982) où le xylème et la solution du sol sont séparés par une barrière osmotique - généralement identifiée par l'endoderme - (Passioura, 1988b). Ceci résulte en une modélisation analogue à celle réalisée pour une cellule, *i.e.* les racines sont traitées comme un osmomètre (équation 5). Cette modélisation bien que correcte, n'est pas facilement utilisable car le flux n'est généralement pas relié de manière linéaire à la force motrice, ce qui implique que la conductivité hydraulique équivalente n'est pas constante (*e.g.* Weatherley, 1982 ; Sanderson, 1983 ; Passioura & Munns, 1984). De plus, la conductivité hydraulique équivalente dépend de la nature de la force motrice (hydrostatique ou osmotique) (Frensch & Steudle, 1989 ; Frensch, Hsiao & Steudle, 1996). L'eau entre dans la racine non seulement en réponse à la tension générée dans le xylème par la transpiration, mais également en réponse à la différence de pression osmotique entre le cortex et la stèle. Cette différence de pression osmotique est générée par l'absorption active et l'accumulation de solutés, en particulier dans les vaisseaux immatures du métaxylème secondaire (Meuser & Frensch, 1998).

Dainty (1985) et plus récemment Steudle (Steudle, Oren & Schulze, 1987 ; Steudle, 1994) expliquent la variabilité apparente de la résistance racinaire, par un by-pass apoplastique - dû à une discontinuité de l'endoderme - et à un coefficient de réflectivité de l'apoplasme faible. Selon le modèle de transport composite proposé par Steudle, lorsque le flux de transpiration est important, la force motrice de l'eau est essentiellement hydrostatique, l'eau emprunte alors la voie apoplastique qui a une conductivité hydraulique importante. A l'inverse, lorsque la transpiration est faible, la force motrice est essentiellement osmotique, la voie apoplastique est alors inefficace en raison de son faible coefficient de réflectivité. L'eau et les solutés empruntent alors la voie symplastique qui a une faible conductivité hydraulique (Steudle, 1993 ; Steudle & Peterson, 1998). Ce modèle explique pourquoi la conductivité hydraulique équivalente dépend de la nature de la force motrice et du flux (Steudle *et al.*, 1987 ; Frensch & Steudle, 1989 ; Frensch *et al.*, 1996). L'importance du couplage entre les flux de solutés et d'eau dépend de la transpiration (Steudle, 1994). Lorsque la transpiration est importante la composante hydrostatique domine.

Chez certaines espèces, tel que le haricot (Steudle & Brinckmann, 1989) et l'orge (Steudle & Jeschke, 1983), en raison d'une forte conductivité hydraulique membranaire, le flux d'eau est essentiellement symplastique quelles que soient les conditions de flux. Comme le prévoit le modèle de transport composite la conductivité hydraulique racinaire équivalente chez ces espèces ne dépend ni du flux, ni de la nature de la force motrice (Steudle & Jeschke, 1983 ; Steudle & Brinckmann, 1989).

Récemment, Henzler *et al.* (1999) ont montré que les variations journalières de conductivité hydraulique du système racinaire de lotus pourraient être liées, de manière totalement indépendante au modèle de transport composite, à des régulations de la synthèse ou/et de la dégradation d'aquaporines du type PIP.

Une fois dans le xylème, l'eau circule à travers les vaisseaux des racines puis des parties aériennes, jusqu'aux feuilles ou aux organes en croissance.

## LE TRAJET XYLEMIEN

La sève brute qui circule dans le xylème est une solution d'éléments minéraux très diluée, dont la pression osmotique est généralement inférieure à 0.1 MPa (Jones, 1992). C'est pourquoi, on parle souvent par abus de langage, de circulation d'eau dans le xylème.

La théorie de la tension-cohésion est aujourd'hui largement admise par la communauté scientifique et la possibilité pour la colonne d'eau dans le xylème de supporter des tensions jusqu'à -5 MPa a été démontrée sans équivoque et comparée avec succès aux mesures effectuées à la chambre à pression (Cochard, Cruiziat & Tyree, 1992 ; Holbrook, Burns & Field, 1995 ; Pockman, Sperry & O'Leary, 1995). Toutefois, le dogme de cette théorie a récemment été attaqué, sur la base de mesures directes de la pression dans le xylème, réalisées grâce à une sonde à pression cellulaire modifiée (Benckert, Balling & Zimmermann, 1991 ; Zimmermann, Meinzer & Bentrup, 1995 ; Kuchenbrod *et al.*, 1996 ; Thurmer *et al.*, 1999). Ces auteurs ont rapporté des pressions dans le xylème de plantes herbacées et d'arbres, supérieures (moins négatives) à celles mesurées à la chambre à pression. De plus, la pression dans le xylème ne semble pas affectée par des variations importantes de la transpiration. Les mesures directes chez les arbres indiquent que les gradients longitudinaux de pression sont trop faibles pour permettre la circulation de l'eau des racines jusqu'aux feuilles par un mécanisme purement hydraulique (Zimmermann *et al.*, 1994 ; Zimmermann *et al.*, 1995). S'ils sont exacts, les résultats de Zimmermann et de ses collaborateurs remettraient en cause les concepts de base des mouvements d'eau à longue distance dans le xylème. Mais ces résultats sont sujets à réserve, car la sonde à pression xylémienne est encore très limitée dans la gamme de tension qu'elle permet de mesurer (Wei, Tyree & Steudle, 1999). Les critiques émises sont actuellement rejetées (Passioura, 1991; Steudle, 1995 ; Milburn, 1996 ; Sperry *et al.*, 1996 ; Tyree, 1997).

### Conductivité hydraulique axiale

Les parois des vaisseaux exercent des forces de frottement sur les molécules d'eau en mouvement. Le xylème forme donc une résistance hydraulique au flux de sève, ce qui induit une perte de charges tout le long du trajet vasculaire.

Comme nous l'avons précédemment souligné, il n'y a pas de membrane hémiperméable dans le xylème, les mouvements d'eau se font donc uniquement en réponse à une différence de pression hydrostatique.

On mesure habituellement la conductivité hydraulique axiale sur des segments de tiges, de racines ou de feuilles excisées. La mesure consiste à faire circuler de l'eau ou une solution saline à travers un segment sous une différence de pression hydrostatique connue et à mesurer le flux qui sort ou qui entre dans le segment (Sperry, Donnelly & Tyree, 1988a).

La conductance hydraulique ( $k_h$ , mol s<sup>-1</sup> MPa<sup>-1</sup>) est égale à la différence de pression ( $\Delta P$ , MPa) entre les deux extrémités d'un segment divisée par le flux d'eau ( $Q$ , mol s<sup>-1</sup>) que traverse le segment :

$$k_h = \frac{Q}{\Delta P} \quad (18)$$

La conductivité hydraulique ( $K_h$ ) est égale à  $k_h$  multipliée par la longueur du segment ( $\Delta x$ , m) :

$$K_h = k_h \cdot \Delta x = \frac{Q \cdot \Delta x}{\Delta P} \quad (19)$$

La conductivité hydraulique est donc égale au flux d'eau qui traverse un segment divisé par le gradient de pression hydrostatique qui génère le flux d'eau.  $k_h$  dépend de la longueur du segment, alors que  $K_h$  est une propriété des vaisseaux au travers desquels le flux s'effectue et de la viscosité dynamique du fluide.

La conductivité axiale du xylème est généralement très supérieure à la conductivité des trajets extravasculaires (Tyree & Cheung, 1977 ; Tyree & Ewers, 1991). Il peut tout de même exister des zones de constriction hydraulique, par exemple dans les nœuds de graminées (Luxova, 1986 ; Aloni & Griffith, 1991) ou de ligneux (Salleo, Lo Gullo & Siracusano, 1984 ; Ewers, North & Nobel, 1992).

Le flux d'eau le long d'un vaisseau peut être analysé par analogie au flux le long d'un capillaire idéal de longueur infinie. La loi de Poiseuille décrit l'écoulement laminaire d'un fluide le long d'un capillaire et permet de calculer la conductivité axiale de ce capillaire. Le long d'un segment, les vaisseaux de xylème sont parallèles au flux, la conductivité axiale du segment est donc égale à la somme des conductivités de chacun des vaisseaux. Pour des vaisseaux parfaitement circulaires en section transversale la conductivité hydraulique théorique est égale à :

$$K_t = \frac{\Pi}{128 \cdot \eta} \cdot \sum_{i=1}^n d_i^4 \quad (20)$$

où,  $K_t$  est la conductivité hydraulique théorique ( $\text{mol m s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$ ),  $d_i$  est le diamètre interne du  $i^{\text{ème}}$  vaisseaux (m),  $\eta$  est la viscosité dynamique du fluide ( $10^{-3} \text{ Pa s}$ , à  $20^\circ\text{C}$  pour l'eau). L'écoulement d'un fluide dans un capillaire est fortement influencé par sa géométrie. Lewis & Boose (1995) ont dérivé une formule équivalente à l'équation (20) pour des vaisseaux ayant une section transversale rectangulaire, triangulaire et elliptique<sup>1</sup>.

L'équation (20) montre l'effet prépondérant des vaisseaux de grand diamètre sur la conductivité axiale. L'augmentation d'un facteur quatre du diamètre d'un vaisseau augmente sa conductivité ( $4^4$ ) de 256 fois. Les vaisseaux de petits diamètres, qui sont pourtant les plus nombreux, assurent donc une part insignifiante du flux axial (Altus, Canny & Blackman, 1985 ; Ewers & Fisher, 1989).

Par ailleurs, comme la conductivité hydraulique est inversement proportionnelle à la viscosité dynamique de l'eau, la conductivité augmente d'environ de 2.5 % par degré Celsius aux alentours de  $20^\circ\text{C}$ .

Beaucoup de travaux relatent la comparaison entre la conductivité hydraulique mesurée et son estimation par des mesures anatomiques et l'application de la loi de Poiseuille (20) (e.g. Dimond, 1966 ; Giordano *et al.*, 1977 ; Calkin, Gibson & Nobel, 1985 ; Gibson, Calkin & Nobel, 1985 ; Schulte *et al.*, 1989 ; Hargrave *et al.*, 1994). Il apparaît que les résultats sont très variables, la conductivité mesurée représentant entre

<sup>1</sup> Si le vaisseau a une section transversale elliptique, avec, a et b la longueur du grand et du petit axe de l'ellipse, alors  $d^4$  doit être remplacé par  $2(a^3b^3)/(a^2 + b^2)$ .



20 et 100 % de la conductivité calculée. En général la différence entre la conductivité mesurée et calculée augmente avec la diminution du diamètre des vaisseaux (Petty, 1978 ; Zimmermann, 1983). Si l'on considère la longueur relativement faible des vaisseaux, la rugosité des parois, la géométrie non parfaite en section transversale, il n'est alors pas étonnant d'observer une telle différence. Zimmermann (1983) souligne également le fait que le diamètre de chaque vaisseau soit élevé à la puissance quatre ; ainsi de faibles erreurs de mesures du diamètre conduisent à de grandes erreurs d'estimation de la conductivité hydraulique. Par exemple, une erreur de 10 % dans la mesure du diamètre d'un vaisseau conduit à une surestimation de 46 % ( $1.1^4=1.46$ ) ou à une sous-estimation de 34 % ( $0.9^4=0.66$ ) de sa conductivité.

Chez les fougères, qui ne possèdent que des trachéides, Calkin, Gibson & Nobel (1986) ont montré que l'on améliore considérablement l'estimation de la conductivité hydraulique axiale du xylème en prenant en compte l'effilement des trachéides, leur géométrie en section transversale et la conductivité des perforations. De telles améliorations n'ont pas encore été appliquées à des espèces possédant des vaisseaux. Du fait de l'hétérogénéité de la longueur des vaisseaux dans un même organe, la structure et la géométrie des vaisseaux sont beaucoup plus difficiles à intégrer.

Malgré toutes ces limitations la loi de Poiseuille reste très utile, et utilisée. Elle permet de relier la structure du xylème à sa capacité de transport dans des organes où les mesures restent délicates.

### *Cavitation et Embolie*

La sève est la plupart du temps sous tension et en dessous de la valeur de tension de vapeur saturante correspondant à la température de la sève. Autrement dit, la sève dans les vaisseaux est dans un état métastable. En ce sens, peut apparaître une phase gazeuse stable, à la pression atmosphérique, dans la phase liquide. C'est le phénomène de cavitation<sup>1</sup>. Lorsqu'il a lieu, de la vapeur d'eau d'abord, puis de l'air ensuite, envahissent tout le vaisseau qui est alors cavité. Une fois que l'air dans le vaisseau est à la pression atmosphérique, il n'y a plus aucun flux dans le vaisseau. Il est alors embolisé (Tyree & Sperry, 1989 ; Cochard, 1991). L'embolie ne se développe dans les conduits du xylème que lorsque le potentiel hydrique de la sève devient inférieur à une valeur seuil - comprise entre - 0.5 et -8 MPa -, qui est très variable selon les espèces étudiées et au sein d'une même espèce suivant les organes (Tyree & Sperry, 1989 ; Tyree, Davis & Cochard, 1994).

En conditions naturelles, même en situation hydrique non limitante, le potentiel hydrique au cours de la journée peut être inférieur au potentiel hydrique seuil de cavitation. Ainsi, chez la canne à sucre par exemple, la perte de conductivité par embolie peut atteindre 60 % en fin de journée, alors même que la disponibilité en eau du sol n'est pas limitante (Neufeld *et al.*, 1992). Le même phénomène a été observé sur des cultures de maïs non irriguées, où la cavitation commence lorsque le potentiel hydrique chute en dessous de -1 MPa et à -1.8 MPa tous les vaisseaux sont embolisés (Tyree *et al.*, 1986). Dans ces deux expériences, durant la nuit les vaisseaux sont remis en eau, probablement grâce à la pression racinaire qui se développe au court de la nuit. Mais les mécanismes de restauration de la fonctionnalité des vaisseaux restent très incertains (Holbrook & Zwieniecki, 1999 ; Tyree *et al.*, 1999a).

---

<sup>1</sup> Selon l'hypothèse du germe d'air ('air seeding'), actuellement retenu (initialement formulé par Zimmermann, 1983), l'air entrerait dans les vaisseaux du xylème lorsque la différence de pression de part et d'autre de la membrane des ponctuations est telle que le rayon du ménisque air-eau est inférieur au diamètre du pore de la ponctuation.

L'embolie diminue le nombre de vaisseaux fonctionnels et conduit donc à une perte de conductivité hydraulique. Si le flux de transpiration reste constant, l'embolie d'une partie des vaisseaux augmente la tension dans le xylème, entraînant la cavitation de nouveaux vaisseaux. On peut ainsi aboutir à un emballement de la cavitation et à une perte totale de conductivité (Tyree & Sperry, 1988). L'embolie est très fréquente en tant que phénomène résiduel, sans effet sur la conduction de la sève. Mais, l'embolie induite par les contraintes hydriques estivales est somme toute assez rare en conditions naturelles car les plantes ont su adapter leurs structures (segmentation hydraulique et segmentation à la vulnérabilité) (Tyree *et al.*, 1991). La régulation stomatique semble également participer à l'évitement de l'embolie chez un certain nombre d'espèces (Jones & Sutherland, 1991 ; Cochard, Bréda & Granier, 1996)<sup>1</sup>.

Il faut tout de même signaler que des résultats récents, provenant essentiellement du laboratoire de Canny (Canny, 1997 ; McCully, Huang & Ling, 1998 ; Buchard, McCully & Canny, 1999 ; McCully, 1999a ; Pate & Canny, 1999 ; Shane & McCully, 1999) indiquent que la cavitation, chez les espèces herbacées, pourrait être beaucoup plus fréquente qu'on ne l'avait supposé jusqu'à présent. Ces résultats sont à mettre au conditionnel, car ils sont basés sur une technique nouvelle, d'observation des vaisseaux embolisés en microscopie électronique à congélation, qui n'a pas encore été sérieusement critiquée.

## TRAJETS EXTRAVASCULAIRES DE L'EAU DANS LES FEUILLES

### *Flux de transpiration*

La conductance des feuilles est si faible que la chute de potentiel hydrique entre la base du pétiole et la surface d'évaporation peut atteindre 2 à 3 MPa (Tyree *et al.*, 1993 ; Tyree *et al.*, 1999b). Chez l'érable la résistance foliaire est égale à la résistance totale du flux d'eau du sol jusqu'à la base des pétioles d'un arbre adulte (Yang & Tyree, 1994).

De la localisation des résistances hydrauliques dans la feuille va dépendre la distribution des potentiels hydriques dans la feuille. Il est généralement admis que la résistance au flux d'eau liquide dans les feuilles est essentiellement localisée dans le trajet extravasculaire (*e.g.* Tyree & Cheung, 1977). Il est crucial de connaître (i) le chemin de l'eau dans la feuille, (ii) si la résistance extravasculaire est localisée ou bien répartie de manière homogène. La signification du potentiel hydrique foliaire moyen mesuré avec la chambre à pression ou par psychrométrie dépend notamment de cette dernière question (Melcher *et al.*, 1998 ; Tyree *et al.*, 1999b).

La plupart des études sur le trajet extravasculaire de l'eau dans la feuille reposent soit sur l'utilisation de colorants fluorescents apoplastiques, soit sur l'analyse de cinétiques de réhydratation de feuilles. Le premier type d'expérience est basé sur l'hypothèse que les colorants apoplastiques ne franchissent pas les membranes et permettent de repérer les sites de passage de l'eau de l'apoplasme vers le symplasme. Mais aucun colorant n'a

<sup>1</sup> L'hiver, le gel peut entraîner des pertes de conductivité très importantes (Cochard & Tyree, 1990, Cochard *et al.*, 1992). Le mécanisme de cavitation hivernale est différent de celui de la cavitation estivale. Il provient de la faible solubilité des gaz dans la glace. Lors du dégel, les bulles d'air emprisonnées dans la glace peuvent se développer et caviter les vaisseaux, ou bien se dissoudre dans la sève. Ceci principalement en fonction de la différence entre la pression de la sève et la pression capillaire dans la bulle et du rayon du vaisseau (Davis, Sperry & Hacke, 1999). Au printemps, les vaisseaux sont remis en eau, vraisemblablement grâce à la poussée racinaire où chez certaines espèces comme le noyer et l'érable grâce à la pression caulinaire (Sperry, Donnelly & Tyree, 1988b).

les mêmes propriétés physico-chimiques que l'eau. Ils ne vont donc pas avoir la même mobilité que l'eau dans les parois et les membranes ; là où le colorant passe, l'eau passe, mais l'inverse n'est pas forcément vrai. La littérature sur ce sujet a été synthétisée par Canny (1990).

L'utilisation de tels marqueurs a tout de même permis de montrer, sur les feuilles de blé et de maïs, qu'en quittant le xylème l'eau entre dans le symplasme au niveau de la gaine fasciculaire (Evert *et al.*, 1985 ; Canny, 1988). Ce résultat est confirmé par les expériences d'efflux réalisées par Tyree & Cheung (1977) sur des feuilles de hêtre. Ces auteurs ont montré qu'au niveau des cellules de la gaine vasculaire la conductance membranaire est supérieure à la conductance des parois. L'existence d'une barrière physique à la circulation de l'eau au niveau de la gaine vasculaire est également confirmée par les résultats de Koroleva, Tomos & Farrar (1998). Ces auteurs ont mesuré le gradient radial de potentiel hydrique dans des feuilles matures d'orge. Lorsque la transpiration est faible, il n'y a pas de gradient radial de potentiel hydrique. Lorsque la feuille transpire, le potentiel hydrique des cellules de la gaine vasculaire interne est inférieur de 1 MPa à celui des cellules du mésophylle, alors que le potentiel hydrique des cellules de l'épiderme est supérieur de 0.15 MPa à celui des cellules du mésophylle.

Une fois la barrière de la gaine vasculaire franchie, l'eau peut soit rester dans le symplasme soit circuler dans l'apoplasme jusqu'aux surfaces d'évaporation ou encore emprunter simultanément ces deux voies. Cette question a donné lieu à beaucoup de travaux, dont les conclusions ne sont pas unanimes. La controverse provient à la fois de la difficulté à réaliser des expériences dont les conclusions sont sans équivoque sur la nature du trajet de l'eau et des résultats très différents obtenus par différentes techniques expérimentales.

Lorsque la transpiration des feuilles de géranium est stoppée instantanément, la cinétique de réhydratation montre une première phase de réhydratation courte, insensible à la température, pendant laquelle le flux de réhydratation diminue rapidement. Cette première phase est suivie par une seconde phase, sensible à la température, pendant laquelle le flux de réhydratation diminue beaucoup moins rapidement (Weatherley, 1963). Weatherley (1963) conclue de cette étude que le flux de transpiration emprunte essentiellement la voie apoplastique. Dans cette expérience, le symplasme répond à une variation de potentiel hydrique avec une vitesse 50 fois plus faible que l'apoplasme, ceci pourrait conduire à un isolement hydraulique du symplasme vis à vis des variations rapides de transpiration (Weatherley, 1963).

Les expériences de cinétique de réhydratation et d'efflux à la chambre à pression, entreprises pour répondre à cette question n'ont pas permis de trancher entre ces deux voies (*e.g.*, Tyree *et al.*, 1981). L'hétérogénéité et les variations en fonction de la teneur en eau relative de la feuille des modules d'élasticité volumique et de la conductivité hydraulique rendent l'interprétation de ces cinétiques de réhydratation difficile (Cruziat, 1978 ; Cruziat & Tyree, 1980).

La faible chute de potentiel hydrique mesurée par Koroleva *et al.* (1998) indique que l'eau circule de l'extérieur de la gaine vasculaire jusqu'aux surfaces d'évaporation par une voie à très faible résistance, ce qui confirme les conclusions de Weatherley (1963) et Boyer (1977) d'une circulation apoplastique du flux de transpiration dans le mésophylle.

Westgate & Steudle (1985) ont étudié cette question sur des segments de limbe de maïs, où ils ont comparé la diffusivité et la conductivité hydraulique du tissu et des cellules. Ils ont ainsi montré, comme pour les racines, que le trajet de l'eau dépend de la nature de la force motrice qui génère le flux. Si la force motrice est osmotique, l'eau

emprunte essentiellement la voie symplastique (transcellulaire ou par les plasmodesmes). A l'inverse, si la force motrice est hydrostatique l'eau emprunte essentiellement la voie apoplastique. La structure composite de la feuille, entraîne une "circulation composite" de l'eau, comme dans les racines.

L'eau circule de la gaine vasculaire jusqu'aux stomates soit à travers les parois des cellules de sclérenchyme qui relie la gaine vasculaire à l'épiderme, voie proposée par Sheriff & Meidner (1974) pour les feuilles mésomorphiques, soit directement *via* le mésophylle. Les sites d'évaporations dépendent essentiellement des caractéristiques géométriques des espaces poreux intrafoliaires et des propriétés de surfaces des cellules bordant les espaces intercellulaires.

Une théorie est que l'eau circule par l'une de ces deux voies jusqu'aux stomates à l'état liquide et que l'évaporation s'effectue à proximité des cellules de garde ou dans la chambre sous stomatique (*e.g.* Meidner, 1975 ; Byott & Sheriff, 1976 ; Sheriff, 1982). Selon des calculs théoriques effectués par Tyree & Yianoulis (1980) et Yianoulis & Tyree (1984), environ 85 % de l'évaporation se produirait à proximité des cavités sous-stomatiques ; mais ils font l'hypothèse dans leurs calculs que l'eau s'évapore avec la même facilité partout dans la feuille, ce qui n'est pas le cas (Sheriff, 1984). La surface interne des cellules de garde et de la chambre sous-stomatique est recouverte de cire (Esau, 1965a), ce qui limite sûrement l'évaporation à la surface de la paroi de ces cellules. De plus, dans des feuilles de *Tradescantia virginiana* (Nonami & Schulze, 1989) et de blé (Koroleva *et al.*, 1998) qui transpirent, le potentiel hydrique des cellules du mésophylle est plus négatif que celui des cellules de l'épiderme. Il semble donc que l'évaporation de l'eau se produise beaucoup plus en profondeur dans la feuille.

Une autre théorie est que l'eau s'évapore à la surface des cellules du mésophylle près de la gaine périvasculaire (Boyer, 1974 ; Boyer, 1977 ; Boyer, 1985) et donc contourne la plupart des cellules du mésophylle. Il semble aujourd'hui que cette deuxième hypothèse soit la plus vraisemblable (Nonami, Schulze & Ziegler, 1990 ; Kramer & Boyer, 1995). Selon cette hypothèse la transpiration au niveau de l'épiderme et des cellules de garde est limitée à la régulation de l'ouverture stomatique. La majeure partie de l'eau s'évapore dans le mésophylle, le plus près possible de la gaine vasculaire, puis diffuse à l'état de vapeur d'eau, jusqu'à l'extérieur de la feuille, par les espaces intercellulaires et les stomates (Schulze, 1994).

### **Flux de réhydratation**

Les réserves hydriques de la plante peuvent également participer aux flux de transpiration. Lors d'un nyctémère, lorsque la transpiration augmente progressivement au lever du jour, on observe un décalage dans le temps entre les flux de transpiration et d'absorption (figure 12 et III-1). Durant cette période, l'eau des tissus matures participe au flux de transpiration, et les tissus se déshydratent. En fin de journée, on observe le phénomène inverse, la transpiration diminue plus rapidement que l'absorption et les tissus matures se réhydratent. De même, en conditions climatiques fluctuantes, il existe des échanges permanents au cours de la journée entre ces flux de déshydratation ou de réhydratation et le flux de transpiration.

Si lors de ces variations de teneur en eau du végétal, les quantités d'eau mises en jeu, par rapport au flux de transpiration, restent relativement faibles, leur rôle physiologique est prépondérant. En particulier pour les processus de croissance, qui sont touchés en premier, même pour un déficit modéré (Hsiao & Acevedo, 1974). Chez les arbres, ce flux peut être plus important en quantité que le flux de croissance (Améglio, 1991).

Chez les plantes herbacées, les racines peuvent constituer le réservoir principal (Cruiziat, 1974). Chez les arbres, c'est le tronc qui constitue le réservoir principal (Améglio, 1991). Les feuilles sont également une réserve d'eau à prendre en compte. Selon Jarvis (1975) leur teneur en eau relative peut varier de 98% à 80% au cours d'une journée. De plus, c'est en partie au niveau des feuilles que s'effectue la régulation des pertes en eau de la plante via la régulation de l'ouverture stomatique (Jones, 1998). L'importance relative des flux provenant des différents réservoirs de la plante, à chaque instant, et leur mode de fonctionnement dépend d'au moins trois facteurs : (i) leur capacité maximale, (ii) la relation liant leur potentiel et leur état hydrique et (iii) la résistance les séparant du flux de transpiration. La "disponibilité" de l'eau d'un réservoir ne dépend donc pas directement de sa position par rapport aux sites d'évaporations, ni même de la teneur en eau de l'organe (Cruiziat, 1972).

Il est difficile de distinguer expérimentalement ces flux de réhydratation et de déshydratation des flux de croissance. En effet il faut pouvoir distinguer un flux d'absorption comblant un déficit hydrique d'un flux d'absorption correspondant à une expansion des parois et du volume cellulaire. Ce qui a dans le passé posé des problèmes dans l'interprétation des courbes de réhydratation (*e.g.*, Cruiziat, 1972) et dans la détermination du flux de croissance (*e.g.*, Boyer, 1974). Afin de distinguer ces deux types de flux les auteurs ont parfois supprimé le flux de croissance, en travaillant à basses températures ou à des potentiels hydriques suffisamment négatifs pour empêcher toute croissance. Ou bien, s'ils s'intéressaient aux flux d'eau de la croissance ; ils ont supprimé les flux de réhydratation et de déshydratation dans les tissus matures, en travaillant dans des conditions de flux de transpiration stationnaires et conservatifs. Il faut noter que dans les feuilles de monocotylédones (de même que dans les racines de monocotylédones ou de dicotylédones) les tissus en croissance et matures sont séparés dans l'espace, ce qui permet de distinguer ces deux types de flux plus facilement.

### ***Flux de croissance***

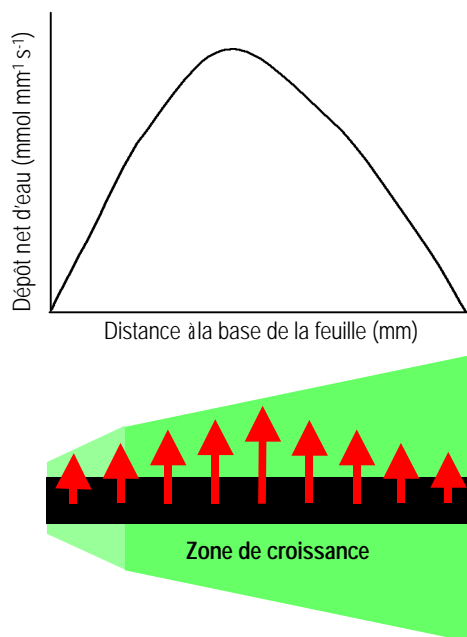
Chez la fétuque élevée, dans nos conditions de culture durant la phase diurne, le flux de croissance de la feuille en croissance rapide ( $L_3$ ) représente 2 % du flux de transpiration de cette feuille, environ 0.6 % du flux de transpiration de chacune des feuilles matures ( $L_1$  et  $L_2$ ) et seulement 0.4 % du flux de transpiration totale de la talle (tableau 1). Durant la phase nocturne le flux de croissance représente 4.4 % du flux de transpiration.

Il est donc très difficile de mesurer le flux de croissance directement à partir des mesures d'absorption et de transpiration. Pour calculer ce dépôt d'eau le long de la zone de croissance où, tant la teneur en eau que la vitesse de déplacement des éléments de tissu changent en fonction de la position et du temps, Silk (1984) a montré que l'on pouvait utiliser l'équation de continuité de mécanique des fluides (*cf.* publication 2). Le profil de dépôt d'eau le long de la feuille suit le taux relatif d'allongement élémentaire (figure II-2, Schnyder & Nelson, 1988). Ceci provient du fait que la croissance des feuilles de monocotylédones est essentiellement unidirectionnelle. L'intégrale du dépôt locale le long de la zone de croissance est égale au flux d'eau radial de la source d'eau vers les cellules en expansion (figure 14).

**Tableau 1.** Comparaison des flux de transpiration et de croissance durant les phases diurne (Jour) et nocturne (Nuit) chez la fêtuque élevée en conditions contrôlées en hydroponie. Les talles étaient réduites à trois feuilles  $L_1$ ,  $L_2$  et  $L_3$ , la transpiration de  $L_1 + L_2 + L_3$  était donc égale à la transpiration de la talle. Le flux de croissance ( $G$ ) a été calculé à partir de mesure en continu de la vitesse d'allongement de  $L_3$  ( $LER$ ,  $\text{mm s}^{-1}$ ) et de la teneur en eau par millimètre entre 35 et 40 mm de la base de la feuille (*i.e.* à la sortie de la zone d'allongement ;  $Q$ ,  $\mu\text{mol mm}^{-1}$ ). Pour plus de détail sur les méthodes de mesure voir la publication 3. (Martre, non publié.)

		Transpiration		Flux de croissance ( $G = LER \times Q$ ) ( $\mu\text{mol s}^{-1}$ )	F/G (%)
		Flux ( $T$ ) ( $\mu\text{mol s}^{-1}$ )	Densité de flux ( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )		
Jour	$L_1$	$8.71 \pm 0.9$	$2.67 \pm 0.17$	-	0.6
	$L_2$	$8.06 \pm 0.73$	$2.31 \pm 0.32$	-	0.7
	$L_3$	$2.64 \pm 0.22$	$2.21 \pm 0.22$	0.054	2.0
	$L_1 + L_2 + L_3$	$14.15 \pm 1.23$	$2.04 \pm 0.10$	-	0.4
Nuit	$L_1 + L_2 + L_3$	$1.71 \pm 0.14$	$0.25 \pm 0.01$	0.076	4.4

Nous avons également calculé le flux d'eau lié à la croissance à partir des mesures de vitesse d'allongement et de teneur en eau par millimètre à la sortie de la zone de croissance (tableau 1). Les mesures de flux de croissance que nous avons effectuées par ces deux méthodes sont en parfait accord.



**Figure 14**

Le dépôt net d'eau le long de la zone de croissance est égal au flux d'eau radial de la source en eau – xylème ou phloème – vers les cellules en expansion.

**Origine de l'eau de la croissance.** Pour beaucoup de fruits, le phloème est la source principale d'eau (*e.g.* Ho, Grange & Picken, 1987 ; Lang, 1990). Pour les organes végétatifs, au contraire, il est généralement admis que le xylème est la source principale d'eau pour la croissance. Cette supposition s'appuie notamment sur la rapidité (quelques secondes) de la réponse de la vitesse de croissance lors de brusques variations du potentiel hydrique du sol ou de l'air. Pourtant, de telles cinétiques de réponse de la vitesse de croissance n'excluent pas que l'eau de la croissance provienne du phloème. En effet, selon la théorie Münch (1930) la circulation de la sève élaborée dans le phloème impliquent des échanges d'eau entre les flux xylémien et phloémien. De plus, un certain nombre d'études cytologiques, réalisées sur des feuilles en croissance de

graminées, montrent que les vaisseaux du protoxylème étaient déchirés en traversant la zone de croissance (voir la section 'vascularisation des graminées'). Selon Sharman (1942), l'interruption de la continuité du xylème dans la zone de croissance pourrait diminuer la résistance au transfert d'eau entre le xylème et les cellules en croissance et, ainsi faciliter l'alimentation hydrique des cellules en expansion.

Chez la fétuque élevée les taux de dépôt net local d'eau et de saccharose évoluent parallèlement le long de la zone de croissance (Schnyder & Nelson, 1987). De plus, le flux net de saccharose représente 15 % à 25 % du flux net d'eau (Schnyder & Nelson, 1987). Ces pourcentages correspondent aux teneurs en saccharose de la sève phloémienne rapportées dans la littérature chez les graminées. Ces résultats suggèrent donc que l'eau de la croissance puisse provenir du phloème.

Lors d'un déficit hydrique dans le sol, la diminution de la vitesse de croissance des racines (Sharp, Hsiao & Silk, 1990) et des feuilles (Ben Haj Salah, 1996) de maïs est accompagnée d'une augmentation de la teneur en saccharose dans la zone de croissance. Cette augmentation de la teneur en sucre s'opère généralement sans augmentation de la vitesse de dépôt local et, est donc le résultat d'une moindre dilution des solutés par la croissance (Schnyder, Nelson & Spollen, 1988 ; Sharp *et al.*, 1990). Il est donc possible de décorrélérer le flux net d'eau et de saccharose dans la zone de croissance. Ainsi, il est peu probable, si la teneur en saccharose de la sève phloémienne ne change pas, que l'eau de la croissance provienne du phloème.

Dans les zones de croissance foliaire des graminées, le xylème et le phloème ne sont séparés que par quelques cellules, lorsqu'ils ne sont pas en contact direct (figure 7). Les variations de potentiel hydrique dans le xylème doivent donc être transmises très rapidement au phloème, et ainsi, comme le prévoit le modèle de Lang (1978), les variations de potentiel hydrique dans le xylème doivent affecter le déchargement phloémien. Lang & Torpe (1986) ont montré que dans les fruits le transport phloémien est sous la dépendance des gradients de potentiels hydriques dans la plante.

**Trajet extravasculaire de l'eau dans les zones de croissance.** Se basant sur le temps de demi-équilibre hydrique des cellules corticales en croissance d'épicytyle de pois, Cosgrove & Steudle (1981) concluent qu'une part considérable du transport extravasculaire de l'eau s'effectue de cellule à cellule. Steudle & Boyer (1985) ont comparé dans des épicytyle de soja, d'une part la conductivité hydraulique de la zone de croissance et la conductivité hydraulique du plasmalemma, d'autre part la diffusivité de la zone de croissance et la diffusivité de la voie symplastique. De même, ces auteurs concluent de leurs observations, que l'eau de la croissance circule essentiellement de cellule à cellule. A notre connaissance il n'existe pas de travaux concernant le trajet extravasculaire de l'eau dans les zones de croissance foliaire.

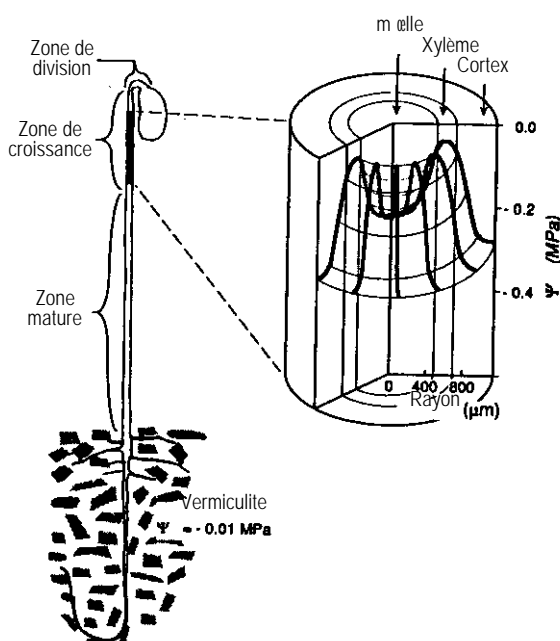
Ces deux études montrent que même si la valeur de conductance hydraulique membranaire est grande ( $Lp = 22$  à  $500 \times 10^{-6} \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$ ) et le temps de demi-équilibre d'une cellule avec son environnement local est court ( $T_{1/2} = 0,3$  à  $1 \text{ s}$ ), une différence radiale de potentiel hydrique (d'environ  $0.1 \text{ MPa}$  pour un taux de croissance de  $5 \% \text{ h}^{-1}$ ) peut être maintenue dans le cortex, car l'eau doit traverser un nombre important de couches cellulaires.

**Potentiel hydrique induit par la croissance.** A l'équilibre, en l'absence de croissance et de transpiration, le potentiel hydrique d'une plante doit en tout point être égal à celui du sol (définition du potentiel de base). Mais Ray & Ruesink (1963) calculent un potentiel hydrique dans la zone de croissance de coléoptile d'avoine, en l'absence de

transpiration, inférieur de 0,25 MPa à celui des tissus matures voisins. Plus tard, de telles différences de potentiels hydriques entre tissus matures et tissus en croissance ont été mesurées, dans les feuilles (Boyer, 1968 ; Michelena & Boyer, 1982 ; Westgate & Boyer, 1984 ; Onillon, 1993 ; Fricke *et al.*, 1997), les hypocotyles (Boyer & Wu, 1978 ; Cavaliere & Boyer, 1982) et les racines (Sharp & Davies, 1979). Et Westgate & Boyer (1985) ont montré que cette différence de potentiel hydrique existe dans toutes les zones de croissance du maïs.

Ce déséquilibre hydrique est dû, d'une part au relâchement des parois qui empêche la pression de turgescence de s'équilibrer avec la pression osmotique, d'autre part à la faible conductivité hydraulique des tissus en croissance (Boyer, 1968 ; Molz & Boyer, 1978). La diminution de la pression de turgescence, causée par le relâchement des parois, crée une différence de potentiel hydrique de part et d'autre du plasmalemme qui favorise l'entrée d'eau dans la cellule. Cette différence de potentiel est transmise à l'apoplasme sous la forme d'une tension qui crée un mouvement d'eau du xylème vers l'apoplasme, d'où elle entre dans la cellule (Kramer & Boyer, 1995). Des tensions, compatibles avec le potentiel hydrique induit par la croissance, ont été mesurées dans l'apoplasme d'épicotyles de soja en croissance, mais pas dans les tissus matures adjacents où la tension dans l'apoplasme est presque nulle (Nonami & Boyer, 1987). Ces tensions permettent de mobiliser l'eau des tissus matures adjacents pour alimenter les cellules en croissance lorsque l'absorption d'eau par les racines est bloquée (Matyssek, Maruyama & Boyer, 1991a ; Matyssek, Tang & Boyer, 1991b). Les zones de croissance peuvent donc entrer en compétition pour l'eau avec les tissus matures.

Alors que dans les feuilles matures de blé la distance maximale entre une cellule et un vaisseau de xylème est de 200  $\mu\text{m}$ , cette distance peut atteindre 450  $\mu\text{m}$  dans la zone de croissance (Barlow, 1986). Des forces importantes sont donc nécessaires pour assurer les flux d'eau et de solutés requis par la croissance. Silk & Wagner (1980) ont formalisé ce champ de potentiel en deux dimensions dans la zone de croissance racinaire du maïs. Les solutions de ce modèle montrent que dans la zone de croissance les potentiels les plus négatifs correspondent aux zones de plus fortes vitesses locales d'allongement (Silk & Wagner, 1980). Ceci concorde avec l'hypothèse de Molz & Boyer (1978), selon laquelle le champ de potentiel hydrique est induit par la croissance *per se*.



**Figure 15**

Représentation en trois dimensions du gradient de potentiel hydrique induit par la croissance dans une épicotyle de soja (d'après, Nonami & Boyer, 1993).



L'eau provenant du xylème doit traverser les cellules internes pour atteindre les cellules de l'épiderme, le gradient de potentiel hydrique est donc plus important dans les cellules proches du xylème où le flux d'eau est plus important (figure 15, Molz & Boyer, 1978 ; Nonami & Boyer, 1993).

La compréhension de l'origine et du rôle du gradient de potentiel hydrique induit par la croissance permet d'expliquer comment l'expansion cellulaire diminue sans chute de pression de turgescence dans la zone de croissance lorsque la disponibilité en eau du sol est réduite ou lorsque l'eau est plus rapidement perdue par transpiration (Nonami, 1998).

Lors de variations lentes de la transpiration, le potentiel hydrique dans la zone de croissance foliaire du maïs suit les variations du potentiel hydrique du xylème (Westgate & Boyer, 1984). Le potentiel hydrique induit par la croissance est maintenu constant par une accumulation de solutés qui permet d'augmenter la pression osmotique. Cet ajustement osmotique permet également aux cellules en croissance de maintenir leur pression de turgescence constante le jour et la nuit (Westgate & Boyer, 1984). Ceci a également été observé au cours de cycles de dessèchement du sol (Matsuda & Riazi, 1981 ; Michelena & Boyer, 1982 ; Barlow, 1986 ; Nonami & Boyer, 1990a) et peut expliquer pourquoi la vitesse de croissance est souvent mieux corrélée à l'état hydrique des tissus matures qu'à celui des zones de croissance (Boyer, 1970 ; Acevedo *et al.*, 1971 ; Cutler *et al.*, 1980 ; Volenec & Nelson, 1982 ; Barlow, 1986 ; Onillon, 1993).

Mais, la faible conductivité hydraulique des tissus en croissance isole les zones de croissance des fluctuations rapides de potentiel hydrique du xylème au cours de la journée (Cutler *et al.*, 1980 ; Westgate & Boyer, 1984). Lors de variations rapides de la transpiration le potentiel hydrique du xylème répond de manière quasi instantanée (Wei *et al.*, 1999). Par contre, les variations de potentiel hydrique dans la zone de croissance sont limitées aux cellules qui entourent le xylème (Nonami *et al.*, 1997). Ainsi à court terme, la pression de turgescence et le potentiel hydrique moyen de la zone de croissance ne sont pas affectés, mais le gradient de potentiel hydrique entre le xylème et les cellules en expansion diminue (Matsuda & Riazi, 1981 ; Westgate & Boyer, 1985 ; Nonami, 1998). Ceci implique que la pression de turgescence des cellules en croissance ne soit pas forcément corrélée à la vitesse de croissance, même à des pas de temps très courts. Les travaux de Malone (Malone, 1992 ; Malone, 1993a ; Malone, 1993b ; Malone, 1996) sur l'effet de chocs thermiques racinaires ou de blessures, sur la croissance foliaire du blé, supportent l'hypothèse qu'un signal hydraulique, provenant de faibles mais rapides variations de l'état hydrique des feuilles matures, peut être rapidement transmis aux feuilles en croissance.

Tomos & Pritchard (1994) expliquent cet apparent isolement de l'état hydrique des zones de croissance foliaire de blé par une pression osmotique élevée dans l'apoplasme et réfutent l'existence d'un potentiel hydrique induit par la croissance significatif. La sensibilité de l'expansion foliaire à l'état hydrique de la plante pourrait également provenir de la faible pression de turgescence effective pour la croissance, *i.e.* ( $P - Y_{eq}$ ) (comprise entre 0.1 et 0.2 MPa ; Boyer, 1985 ; Pardossi *et al.*, 1994 ; Frensch, 1997).

Cosgrove et ses collègues réfutent également l'existence d'un gradient de potentiel aussi élevé entre tissus en croissance et tissus matures (Cosgrove & Cleland, 1983a ; Cosgrove & Cleland, 1983b ; Cosgrove, Van Volkenburgh & Cleland, 1984 ; Cosgrove, 1985 ; Cosgrove, 1987). Cosgrove, Van Volkenburgh & Cleland (1984) montrent par des mesures *in situ* que lorsque l'on supprime la source d'eau (par excision) d'une zone de croissance, le relâchement des parois entraîne une chute de la pression de turgescence de 0,25 MPa en deux heures. Cette chute de pression rend entièrement

compte du gradient de potentiel mesuré par Boyer et ses collègues. Ils concluent que le potentiel induit par la croissance résulte d'un artefact de mesure dû à l'excision et au temps d'équilibrage nécessaire avec la méthode psychrométrique. Par ailleurs, Cosgrove (1985) calcule d'après ses résultats que dans les épicotyles de pois la conductivité hydraulique est au moins 8 fois supérieure à l'extensibilité et que le gradient de potentiel hydrique induit par la croissance n'est que de 0,05 MPa. Finalement, il conclut que la conductivité hydraulique ne limite la croissance que de 10%.

L'existence ou non d'un gradient de potentiel hydrique induit par la croissance est important à déterminer, car s'il existe, il signifie que l'expansion des cellules dans un tissu peut être limitée, par conséquent contrôlée, par la conductivité hydraulique.

## CONCLUSION DE LA SYNTHÈSE ET STRATÉGIE D'ÉTUDE

L'étude bibliographique nous a permis de mettre en évidence le caractère général de l'effet dépressif de la transpiration sur la croissance foliaire. On a aussi pu constater que l'on a rarement étudié les bases mécanistes de cet effet en explicitant le flux de transpiration et l'état hydrique et le fonctionnement de la zone de croissance. L'étude empirique la plus détaillée, réalisée par Ben Haj Salah & Tardieu (1996 ; 1997), a démontré l'effet de variations du déficit de pression de vapeur sur la croissance foliaire. Mais la traduction de ces variations en terme d'état hydrique interne de la plante n'a pas été abordée.

D'après le modèle de Lockhart, la croissance peut être décrite par des **variables bio-rhéologiques** (la pression de turgescence seuil et l'extensibilité pariétale) et des **variables hydriques** (la différence de potentiel hydrique entre les cellules en expansion et leur source en eau - différence de potentiel hydrique induit par la croissance - et la conductivité hydraulique des tissus en croissance). Le lien *a priori* le plus évident entre la transpiration et la croissance est un lien hydraulique, *via* une réduction de la **disponibilité de la source en eau**. Mais nous avons vu que dans de nombreuses situations les propriétés bio-rhéologiques de la zone de croissance peuvent aussi être modifiées en quelques minutes. Toutefois, dans le cas de variations de la transpiration, les études sont peut nombreuses et l'on ne sait pas qu'elle peut être la nature du signal impliqué dans cette régulation bio-rhéologique, ni quels sont les mécanismes de modulation de la vitesse de croissance. Les quelques travaux disponibles (Shackel *et al.*, 1987 ; Pritchard *et al.* 1991 ; Pardossi *et al.*, 1994) portent sur des feuilles de dicotylédones et ne permettent pas de distinguer l'effet de la transpiration d'autres effets de la lumière ou de la température (étude de transition jour nuit).

L'activité dans la zone de croissance est spatialement très hétérogène, ce qui nous oblige à ne pas considérer la zone de croissance comme un compartiment homogène. Dans le but d'étudier les mécanismes de couplage entre les flux de croissance et de transpiration, il est important d'évaluer le champ de ces variables, le long d'une feuille en croissance, et de caractériser leur évolution en fonction du flux de transpiration. Les micro-techniques de la **sonde à pression cellulaire** et du **picolitre osmomètre** permettent d'effectuer des mesures *in vivo* à l'échelle cellulaire des pressions de turgescence et osmotique. En combinant ces mesures avec des mesures de champ de vitesse relative d'allongement, nous pouvons avoir accès aux variables bio-rhéologiques et hydriques locales. Cette approche nous semble être la plus pertinente pour démarrer cette étude. C'est donc par, (i) la **caractérisation de l'hétérogénéité spatiale de l'état hydrique le long de la feuille en croissance**, (ii) **sa modulation par la transpiration**, que nous avons commencé. C'est l'objet de la première publication.

Le fonctionnement des zones de croissance foliaire est **intégré** au fonctionnement hydrique de la plante. La disponibilité de l'eau pour la croissance dépend (entre autres choses) de l'état de tension de l'eau dans le xylème de la zone de croissance, qui lui-même dépend, (i) de la **structure du xylème** dans la zone de croissance, (ii) des **connexions vasculaires** entre les feuilles matures et en croissance et (iii) du **flux de transpiration** des différentes feuilles. La feuille est une **structure hétérogène** et une mesure globale du potentiel hydrique foliaire ne donne pas nécessairement des indications pertinentes sur l'état de tension de l'eau dans le xylème. L'**anisotropie des**

**conductances des trajets vasculaires et extravasculaires** nous oblige à considérer de manière explicite ces deux trajets le long de la feuille ainsi que leur variabilité spatiale. C'est pourquoi une étude expérimentale de **l'architecture hydraulique** d'une talle, prenant en compte de manière explicite la **zone de croissance**, apparaît être un préalable indispensable à une analyse mécaniste des relations entre la transpiration et la croissance, en vue d'une modélisation future. Cette étude doit être réalisée à **l'échelle de la tige feuillée** qui est l'unité, structurale et fonctionnelle, à laquelle les flux hydriques liés à la transpiration et à la croissance sont intégrés. C'est ce à quoi s'attachent les publications 2 et 3, en commençant par l'échelle de la feuille en croissance, puis en étudiant son intégration dans la talle.

Une graminée, la fétuque élevée, a été choisie pour cette étude pour des raisons liées à la particularité de sa structure et de son fonctionnement. Pour toutes les graminées, les zones de transpiration et de croissance sont séparées au sein de la plante, ce qui permet de distinguer facilement les deux types de flux. Les graminées sont un modèle d'étude intéressant, car au cours de l'ontogenèse d'une feuille, la part de l'eau destinée à la croissance et à la transpiration change. Il y a donc, en sus des variations journalières de la transpiration, des variations développementale à plus long terme. De plus, dans le cas des graminées fourragères, les défoliations fréquentes, par la fauche ou le pâturage, suppriment une grande partie de la surface foliaire, imposant la remise en place de la surface foliaire. Enfin la croissance foliaire des graminées est essentiellement longitudinale, ce qui en facilite l'étude et la fétuque élevée est une plante particulièrement bien étudiée pour sa croissance foliaire.

Étant donnée la complexité des processus biophysiques et biochimiques en jeu et l'hétérogénéité de structure que présentent les graminées, nous avons travaillé sur des talles isolées, cultivées en conditions contrôlées sur vermiculite ou en hydroponie. La talle est l'unité structurale et fonctionnelle des graminées, nous pensons qu'une étude à l'échelle de la talle nous permettra d'intégrer, à terme, nos résultats à l'échelle de la "touffe herbacée" et du peuplement. Dans cette démarche, le fonctionnement du peuplement pourra être analysé comme une population d'individus en interactions les uns avec les autres à travers leur environnement.

Un effort particulier a été apporté à l'homogénéisation des conditions de croissance des plantes et au stade de développement des talles. Nous avons travaillé sur des talles bouturées, cultivées en conditions contrôlées en hydroponie. Nous avons choisi de travailler, dans cette phase préliminaire, sur des plantes dont la feuille en croissance rapide mesure environ la moitié de sa longueur finale. A ce stade, le fonctionnement de la zone de croissance est relativement stable pendant plusieurs jours, et la partie apicale de la feuille, exposée au rayonnement, participe au flux de transpiration.

Les résultats de ce travail sont présentés sous la forme de trois publications en langue anglaise. Notre approche a été d'intégrer les mécanismes physiques des transferts d'eau dans la talle - en considérant la croissance comme un flux d'eau au même titre que la transpiration - et la structure des milieux dans lesquels s'effectuent ces transferts. L'ordre de présentation des publications matérialise cette approche intégrative, allant de la cellule à la zone de croissance (publication 1), puis de la zone de croissance à la feuille en croissance (publication 2) et enfin de la feuille en croissance à la talle (publication 3).

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Acevedo E, Hsiao TC, Henderson DW. 1971.** Immediate and subsequent growth responses of maize leaves to changes in water status. *Plant Physiology* **48**: 631-636.
- Agnusdei M. 1999.** *Analyse de la dynamique de la morphogenèse foliaire et de la défoliation de plusieurs espèces de graminées soumises à un pâturage continu dans une communauté végétale de la pampa humide (Argentine)*. Ph. D. Thesis. Université de Nancy, France.
- Aloni R, Griffith M. 1991.** Functional xylem anatomy in root-shoot junctions of six cereal species. *Planta* **184**: 123-129.
- Altus DP, Canny M. 1982.** Loading of assimilates in wheat leaves. I. The specialization of vein types for separate activities. *Australian Journal of Plant Physiology* **9**: 571-581.
- Altus DP, Canny MJ, Blackman DR. 1985.** Water pathways in wheat leaves. II. Water-conducting capacities and vessel diameters of different vein types, and the behaviour of the integrated vein network. *Australian Journal of Plant Physiology* **12**: 183-199.
- Améglio T. 1991.** *Relations hydriques chez le jeune noyer, de l'échelle de la journée à celle de l'année, en liaison avec quelques aspects de la physiologie de l'arbre*. Ph. D. Thesis. Université de Clermont-Ferrand, France.
- Anderson LS, Dale JE. 1983.** The sources of carbon for developing leaves of barley. *Journal of Experimental Botany* **34**: 405-414.
- André JP. 1998.** A study of the vascular organization of bamboos (*Poaceae-Bambuseae*) using a microcasting method. *IAWA Journal* **19**: 265-278.
- André JP, Catesson AM, Liberman M. 1999.** Characters and origin of vessels with heterogeneous structure in leaf and flower abscission zones. *Canadian Journal of Botany* **77**: 253-261.
- Artschwager E. 1925.** Anatomy of the vegetative organs of sugarcane. *Journal of Agricultural Research* **XXX**: 197-221.
- Bacon MA. 1999.** The biochemical control of leaf expansion during drought. *Plant Growth Regulation* **29**: 101-112.
- Barlow EWR. 1986.** Water relations of expanding leaves. *Australian Journal of Plant Physiology* **13**: 45-58.
- Barlow EWR, Boersma L, Young JL. 1977.** Photosynthesis, transpiration, and leaf elongation in corn seedlings at suboptimal soil temperatures. *Agronomy Journal* **69**: 95-100.
- Bell AD. 1976a.** The vascular pattern of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) 2. Development of the seedling axis to maturity. *Annals of Botany* **40**: 233-240.
- Bell AD. 1976b.** The vascular pattern of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) 3. The leaf trace system, and tiller insertion, in the the adult. *Annals of Botany* **40**: 241-250.
- Bell AD. 1976c.** The vascular pattern of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) 4. The peripheral plexus, and nodal root insertion. *Annals of Botany* **40**: 251-259.
- Ben Haj Salah H. 1996.** *Analyse de la vitesse de croissance foliaire du maïs (Zea mays L.) en conditions climatiques fluctuantes. Conséquences de déficits hydriques dans le sol*. Ph. D. Thesis. Institut National Agronomique Paris-Grignon, France.
- 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.
- Benckert R, Balling A, Zimmermann U. 1991.** Direct measurements of the pressure and flow in the xylem vessels of *Nicotiana tabacum* and their dependence on flow resistance and transpiration rate. *Acta Biotheoretica* **104**: 423-432.
- Beusmans JMH, Silk WK. 1988.** Mechanical properties within the growth zone of corn roots investigated by bending experiments. II. Distributions of modulus and compliance in bending. *American Journal of Botany* **75**: 996-1002.
- Blackman E. 1971.** The morphology and development of cross veins in the leaves of bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Annals of Botany* **35**: 653-665.
- Bogoslavsky L, Neumann PM. 1998.** Rapid regulation by acid pH of cell wall adjustment and leaf growth in maize plants responding to reversal of water stress. *Plant Physiology* **118**: 701-709.
- Boyer JS. 1968.** Relationship of water potential to growth of leaves. *Plant Physiology* **43**: 1056-1062.
- Boyer JS. 1970.** Leaf enlargement and metabolic rates in corn, soybean, and sunflower at various leaf water potentials. *Plant Physiology* **46**: 233-235.
- Boyer JS. 1974.** Water transport in plants: mechanism of apparent changes in resistance during absorption. *Planta* **117**: 187-207.
- Boyer JS. 1977.** Regulation of water movement in whole plants. In: Jennings HD, ed. *Integration of activity in the higher plant*. Symposia of the society for experimental biology. **31**: 455-470.
- Boyer JS. 1982.** Plant productivity and environment. *Science* **218**: 473-516.
- Boyer JS. 1985.** Water transport. *Annual Review of Plant Physiology* **36**: 473-516.
- Boyer JS. 1988.** Cell enlargement and growth-induced water potential. *Physiologia Plantarum* **73**: 311-316.
- Boyer JS. 1995.** *Measuring the water status of plants and soils*. San Diego: Academic press.
- Boyer JS, Johnson RR, Saupe SG. 1980.** Afternoon water deficits and grain yields in old and new soybean cultivars. *Agronomy Journal* **72**: 981-986.
- Boyer JS, Wu G. 1978.** Auxin increases the hydraulic conductivity of auxin-sensitive hypocotyl tissue. *Planta* **227**: 227-237.
- Brégard A, Allard G. 1999.** Sink to source transition in developing leaf blades of tall fescue. *New Phytologist* **141**: 45-50.
- Buchard C, McCully ME, Canny M. 1999.** Daily embolism and refilling of root xylem vessels in three dicotyledonous crop plants. *Agronomie* **19**: 97-106.
- Bugnon P. 1924.** L'appareil conducteur chez les graminées. *Mémoire de la Société Linnéenne de Normandie* **XXVI. 24.**: 23-38.
- Bunce JA. 1977.** Leaf elongation in relation to leaf water potential. *Journal of Experimental Botany* **28**: 156-161.
- Bunce JA. 1978.** Effects of shoot environment on apparent root resistance to water flow in whole soybean and cotton plants. *Journal of Experimental Botany* **29**: 595-601.
- Busby CH, O'Brien TP. 1979.** Aspects of vascular anatomy and differentiation of vascular tissues and transfer cells in vegetative nodes of wheat. *Australian Journal of Botany* **27**: 703-711.

- Byott GS, Sheriff DW. 1976.** Water movement into and through *Tradescantia virginiana* (L.) leaves. II. Liquid flow pathways and evaporative sites. *Journal of Experimental Botany* **27**: 634-639.
- Calkin HW, Gibson AC, Nobel PS. 1985.** Xylem water potentials and hydraulic conductances in eight species of ferns. *Canadian Journal of Botany* **63**: 632-637.
- Calkin HW, Gibson AC, Nobel PS. 1986.** Biophysical model of xylem conductance in tracheids of the fern *Pteris vittata*. *Journal of Experimental Botany* **37**: 1054-1064.
- Canny MJ. 1986.** Water pathways in wheat leaves. III. The passage of the mestone sheath and the function of the suberised lamellae. *Physiologia Plantarum* **66**: 637-647.
- Canny MJ. 1988.** Water pathways in wheat leaves. IV. The interpretation of images of a fluorescent apoplastic tracer. *Australian Journal of Plant Physiology* **15**: 541-555.
- Canny MJ. 1990.** What becomes of the transpiration stream? *The New Phytologist* **114**: 341-368.
- Canny MJ. 1997.** Vessel contents during transpiration - embolisms and refilling. *American Journal of Botany* **84**: 1223-1230.
- Cavaliere AJ, Boyer JS. 1982.** Water potentials induced by growth in soybean hypocotyls. *Plant Physiology* **69**: 492-496.
- Chazen O, Neumann PM. 1994.** Hydraulic signals from the root and rapid cell-wall hardening in growing maize (*Zea mays* L.) leaves are primary responses to polyethylene glycol-induced water deficits. *Plant Physiology* **104**: 1385-1392.
- Cheadle VI. 1942.** The occurrence and types of vessels in the various organs of the plant in the *monocotyledoneae*. *American Journal of Botany* **29**: 441-450.
- Christ RA. 1978.** The elongation rate of wheat leaves. II. Effect of sudden light change on the elongation rate. *Journal of Experimental Botany* **29**: 611-618.
- Clifton-Brown JC, Jones MB. 1999.** Alteration of transpiration rate, by changing air vapor pressure deficit, influences leaf extension rate transiently in *Miscanthus*. *Journal of Experimental Botany* **50**: 1393-1401.
- Cochard H. 1991.** *Vulnérabilité à la cavitation de quelques espèces forestières feuillues et résineuses : Aspects méthodologiques, importance écophysiological*. Ph D Thesis. Université Paris Sud Orsay, France.
- Cochard H, Bréda N, Granier A. 1996.** Whole tree hydraulic conductance and water loss regulation in *Quercus* during drought: evidence for stomatal control of embolism? *Annales des Sciences Forestières* **53**: 197-206.
- Cochard H, Bréda N, Granier A, Aussenac G. 1992.** Vulnerability to air embolism of three European oak species (*Quercus petraea* (Matt) Liebl., *Q. pubescens* Willd, *Q. robur* L.). *Annales des Sciences Forestières* **49**: 225-233.
- Cochard H, Cruiziat P, Tyree MT. 1992.** Use of positive pressures to establish vulnerability curves: Further support for the air-seeding hypothesis and possible problems for pressure-volume analysis. *Plant Physiology* **100**: 205-209.
- Cochard H, Tyree MT. 1990.** Xylem dysfunction in *Quercus*: vessel sizes, tyloses, cavitation and seasonal changes in embolism. *Tree Physiology* **6**: 393-407.
- Cohen CJ, Chilcote DO, Frake RV. 1982.** Leaf anatomy and stomatal characteristics of four tall fescue selections differing in forage yield. *Crop Science* **22**: 704-708.
- Colbert JT, Evert RF. 1982.** Leaf vasculature in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *Planta* **156**: 136-151.
- Cosgrove DJ. 1983.** Photocontrol of extension growth: a biophysical approach. *Philosophical Transaction of the Royal Society of London - Serie B Biological Sciences* **303**: 453-465.

- Cosgrove DJ. 1985.** Cell wall yield properties of growing tissues. Evaluation by *in vivo* stress relaxation. *Plant Physiology* **78**: 347-356.
- Cosgrove DJ. 1987.** Wall relaxation in growing stems: comparison of four species and assessment of measurement techniques. *Planta* **171**: 266-278.
- Cosgrove DJ. 1993a.** How do plant cells extend? *Plant Physiology* **102**: 1-6.
- Cosgrove DJ. 1993b.** Wall extensibility: its nature, measurement and relationship to plant cell growth. *The New Phytologist* **124**: 1-23.
- Cosgrove DJ. 1993c.** Water uptake by growing cells: an assessment of the controlling roles of wall relaxation, solute uptake, and hydraulic conductance. *International Journal of Plant Science* **154**: 10-21.
- Cosgrove DJ. 1997.** Assembly and enlargement of the primary cell wall in plants. *Annual Review of Cell Development and Biology* **13**: 171-201.
- Cosgrove DJ. 1998.** Cell wall loosening by expansins. *Plant Physiology* **118**: 333-339.
- Cosgrove DJ. 1999.** Enzymes and other agents that enhance cell wall extensibility. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **50**: 391-417.
- Cosgrove DJ, Cleland RE. 1983a.** Osmotic properties of pea internodes in relation to growth and auxin action. *Plant Physiology* **72**: 332-338.
- Cosgrove DJ, Cleland RE. 1983b.** Solutes in the free space of growing stem tissues. *Plant Physiology* **72**: 326-331.
- Cosgrove DJ, Steudle E. 1981.** Water relations of growing pea epicotyl segments. *Planta* **153**: 343-350.
- Cosgrove DJ, Van Volkenburgh E, Cleland RE. 1984.** Stress relaxation of cell walls and the yield threshold for growth. Demonstration and measurement by micro-pressure probe and psychrometer techniques. *Planta* **162**: 46-54.
- Cowan IR. 1986.** Economics of carbon fixation in higher plants. In: Givnish TJ, ed. *On the economy of plant form and function*. Cambridge, New York, Port Chester, Melbourne, Sydney: Cambridge university press. 133-170.
- Cruziat P. 1972.** *Contribution à l'étude des réserves en eau de la plante*. Ph. D. Thesis. University of Paris.
- Cruziat P. 1974.** Détermination des pertes en eau subies par les différents organes d'une plante soumise au dessèchement. *Annals of Agronomy* **25**: 539-554.
- Cruziat P. 1978.** La circulation de l'eau dans la plante en flux non conservatif: quelques faits et problèmes. *La Houille Blanche* **3/4**: 243-253.
- Cruziat P, Tyree MT. 1980.** The kinetics of rehydration of detached sunflower leaves following substantial water loss. *The New Phytologist* **84**: 293-306.
- Cutler JM, Steponkus PL, Wach MJ, Shahn KW. 1980.** Dynamic aspects and enhancement of leaf elongation in rice. *Plant Physiology* **66**: 147-152.
- Dainty J. 1969.** The water relations of plants. In: Wilkins MB, ed. *The physiology of plant growth and development*. London: McGraw Hill. 421-452.
- Dainty J. 1985.** Water transport through the root. *Acta Horticulturae* **171**: 21-31.
- Dale JE. 1988.** The control of leaf expansion. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **39**: 267-295.
- Dannenhoffer JM, Evert RF. 1994.** Development of the vascular system in the leaf of barley (*Hordeum vulgare* L.). *International Journal of Plant Science* **155**: 143-157.
- Dannenhoffer JM, Evert W, Evert RF. 1990.** Leaf vasculature in barley, *Hordeum vulgare* (Poaceae). *American Journal of Botany* **77**: 636-652.
- Davis SD, Sperry JS, Hacke UG. 1999.** The relationship between xylem conduit diameter and cavitation caused by freezing. *American Journal of Botany* **86**: 1367-1372.



- Davies WJ, Zhang J. 1991.** Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **42**: 55-76.
- de Souza IRP, Macadam JW. 1998.** A transient increase in apoplastic peroxidase activity precedes decrease in elongation rate of B73 maize (*Zea mays*) leaf blades. *Physiologia Plantarum* **104**: 556-562.
- Dengler NG, Dengler RE, Hattersley PW. 1985.** Differing ontogenetic origins of PCR ("kranz") sheaths in leaf blades of C<sub>4</sub> grasses (*Poaceae*). *American Journal of Botany* **72**: 284-302.
- Dengler NG, Woodvine MA, Donnelly PM, Dengler RE. 1997.** Formation of vascular pattern in developing leaves of the C<sub>4</sub> grass *Arundinella hirta*. *International Journal of Plant Sciences* **158**: 1-12.
- Dengler RE, Dengler NG. 1990.** Leaf vascular architecture in a typical C<sub>4</sub> NADP-malic enzyme grass *Arundinella hirta*. *Canadian Journal of Botany* **68**: 1208-1221.
- Dimond AE. 1966.** Pressure and flow relations in vascular bundles of the tomato plant. *Plant Physiology* **441**: 119-131.
- Dixon HH, Joly J. 1895.** On the ascent of sap. *Philosophical Transaction of the Royal Society of London - Serie B Biological Sciences* **186**: 563-576.
- Dong Z, McCully ME, Canny MJ. 1997.** Does *Acetobacter diazotrophicus* live and move in the xylem of sugarcane stems? Anatomical and physiological data. *Annals of Botany* **80**: 147-158.
- Doussan C, Pagès L, Vercambre G. 1998a.** Modeling of the hydraulic architecture of root systems: an integrated approach to water absorption - Model description. *Annals of Botany* **81**: 213-223.
- Doussan C, Vercambre G, Pagès L. 1998b.** Modeling of the hydraulic architecture of root systems: an integrated approach to water absorption - Distribution of axial and radial conductances in maize. *Annals of Botany* **81**: 225-232.
- Doussan C, Vercambre G, Pagès L. 1999.** Water uptake by two contrasting root systems (Maize, peach tree): results from a model of hydraulic architecture. *Agronomie* **19**: 255-263.
- Durand JL, Onillon B, Schnyder H, Rademacher I. 1995.** Drought effects on cellular and spatial parameters of leaf growth in tall fescue. *Journal of Experimental Botany* **46**: 1147-1155.
- Durand JL, Schäufele R, Gastal F. 1999.** Grass leaf elongation rate as a function of developmental stage and temperature: Morphological analysis and modelling. *Annals of Botany* **83**: 577-588.
- Eastman PAK, Dengler NG, Peterson CA. 1988.** Suberized bundle sheaths in grasses (*Poaceae*) of different photosynthetic types I. Anatomy, ultrastructure and histochemistry. *Protoplasma* 92-111.
- Ellerby DJ, Ennos AR. 1998.** Resistance to fluid flow of model xylem vessels with simple and scariform perforation plates. *Journal of Experimental Botany* **49**: 979-985.
- Erickson RO. 1976.** Modeling of plant growth. *Annual Review of Plant Physiology* **27**: 407-434.
- Erickson RO, Sax KB. 1956a.** Elemental growth rate of the primary root of *Zea mays* L. *Proceedings of the American Philosophical Society* **100**: 487-498.
- Erickson RO, Sax KB. 1956b.** Rates of cell division and cell elongation in the growth of the primary root of *Zea mays*. *Proceedings of the American Philosophical Society* **100**: 499-514.
- Erickson RO, Silk WK. 1980.** La cinématique de la croissance. *Pour la Science* **33**: 18-29.

- Esau K. 1943.** Ontogeny of the vascular bundle in *Zea mays*. *Hilgardia* **15**: 327-368.
- Esau K. 1965a.** *Plant anatomy*. 2 edn. New York.
- Esau K. 1965b.** *Vascular differentiation in plants*. New York: Holt, Rinehart, and Winston.
- Evert RF, Botha CEJ, Mierzwa RJ. 1985.** Free-space marker studies on the leaf of *Zea mays* L. *Protoplasma* **126**: 62-73.
- Evert RF, Russin WA, Bosabalidis AM. 1996.** Anatomical and ultrastructural changes associated with sink-to-source transition in developing maize leaves. *International Journal of Plant Sciences* **157**: 247-261.
- Ewers FW, Cruiziat P. 1991.** Measuring water transport and storage. In: Lassoie JP, Hinckley TM, eds. *Techniques and approaches in forest tree physiology*. Boca Raton, Ann Arbor, Boston: CRC Press. 91-114.
- Ewers FW, Fisher JB. 1989.** Techniques for measuring vessel lengths and diameters in stems of woody plants. *American Journal of Botany* **76**: 645-656.
- Ewers FW, North GB, Nobel PS. 1992.** Root-stem junctions of a desert monocotyledon and a dicotyledon: hydraulic consequences under wet conditions and during drought. *The New Phytologist* **121**: 377-385.
- Fahn A. 1954.** Metaxylem elements in some families of the monocotyledoneae. *The New Phytologist* **53**: 530-540.
- Fiscus EL, Markhart AH. 1979.** Relationships between root system water transport properties and plant size in *Phaseolus*. *Plant Physiology* **64**: 770-773.
- Forde BJ. 1965.** Differentiation and continuity of the phloem in the leaf intercalary meristem of *Lolium perenne*. *American Journal of Botany* **52**: 953-961.
- Francis D. 1992.** The cell cycle in plant development. *The New Phytologist* **122**: 1-20.
- Frensch J. 1997.** Primary responses of root and leaf elongation to water deficits in the atmosphere and soil solution. *Journal of Experimental Botany* **48**: 985-999.
- Frensch J, Hsiao TC. 1993.** Hydraulic propagation of pressure along immature and mature xylem vessels of root of *Zea mays* measured by pressure-probe techniques. *Planta* **190**: 263-270.
- Frensch J, Hsiao TC. 1994.** Transient responses of cell turgor and growth of maize roots as affects by changes in water potential. *Plant Physiology* **104**: 247-254.
- Frensch J, Hsiao TC. 1995.** Rapid response of the yield threshold and turgor regulation during adjustment of root growth to water stress in *Zea mays*. *Plant Physiology* **108**: 303-312.
- Frensch J, Hsiao TC, Steudle E. 1996.** Water solute transport along developing maize roots. *Planta* **198**: 348-355.
- Frensch J, Steudle E. 1989.** Axial and radial hydraulic resistance to roots of maize (*Zea mays* L.). *Plant Physiology* **91**: 719-726.
- Fricke W. 1997.** Cell turgor, osmotic pressure and water potential in the upper epidermis of barley leaves in relation to cell location and in response to NaCl and air humidity. *Journal of Experimental Botany* **48**: 45-58.
- Fricke W, McDonald AJ, Mattson-Djos L. 1997.** Why do leaves and leaf cells of N-limited barley elongate at reduce rate? *Planta* **202**: 522-530.
- Fujino T, Itoh T. 1998.** Changes in the three dimensional architecture of the cell wall during lignification of xylem cells in *Eucalyptus tereticornis*. *Holzforchung* **52**: 111-116.
- Fukuda H. 1996.** Xylogenesis: initiation, progression, and cell death. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **47**: 299-325.
- Gandar PW. 1980.** The analysis of growth and cell production in root apices. *Botanical Gazette* **141**: 131-138.

- Gibson AC, Calkin HW, Nobel PS. 1985.** Hydraulic conductance and xylem structure in tracheid-bearing plants. *International Association of Wood Anatomists Bulletin* **6**: 293-302.
- Giordano R, Salleo A, Salleo S, Wanderlingh F. 1977.** Flow in xylem vessels and Poiseuille's law. *Canadian Journal of Botany* **56**: 333-338.
- Goodwin RH. 1942.** On the development of xylary elements in the first internode of avena in dark and light. *American Journal of Botany* **29**: 818-828.
- Gowing DJG, Davies WJ, Jones HG. 1990.** A positive root-source signal as an indicator of soil drying in apple, *Malus x domestica* Borkh. *Journal of Experimental Botany* **41**: 1535-1540.
- Granier C, Tardieu F. 1998.** Spatial and temporal analyses of expansion and cell cycle in sunflower leaves. *Plant Physiology* **116**: 991-1001.
- Greacen E, Oh J. 1972.** Physics of root growth. *Nature* **235**: 24-25.
- Green PB, Erickson RO, Buggy J. 1971.** Metabolic and physical control of cell elongation rate. *In vivo* studies in *Nitella*. *Plant Physiology* **47**: 423-430.
- Hargrave KR, Kolb KJ, Ewers FW, Davis SD. 1994.** Conduit diameter and drought-induced embolism in *Salvia mellifera* Greene. *The New Phytologist* **126**: 695-705.
- Hitch PA, Sharman BC. 1971.** The vascular pattern of festucoid grass axes, with particular reference to nodal plexi. *Botanical Gazette* **132**: 38-56.
- Ho LC, Grange RI, Picken AJ. 1987.** An analysis of the accumulation of water and dry matter in tomato fruit. *Plant, Cell and Environment* **10**: 157-162.
- Holbrook NM, Burns MJ, Field CB. 1995.** Negative xylem pressure in plants: a test of the balancing pressure technique. *Science* **270**: 1193-1194.
- Holbrook NM, Zwieniecki MA. 1999.** Embolism repair and xylem tension: do we need a miracle? *Plant Physiology* **120**: 7-10.
- Horst GL, Nelson CJ, Asay KH. 1978.** Relationship of leaf elongation to forage yield of tall fescue genotypes. *Crop Science* **18**: 715-719.
- Hsiao TC, Acevedo E. 1974.** Plant responses to water deficits, water-use efficiency, and drought resistance. *Agricultural Meteorology* **14**: 59-84.
- Hsiao TC, Frensch J, Rojas-Lara BA. 1998.** The pressure-jump technique shows leaf growth to be enhanced by increases in turgor only when water status is not too high. *Plant, Cell and Environment* **21**: 33-42.
- Hsiao TC, Silk WK, Jing J. 1985.** Leaf growth and water deficits: biophysical effects. In: Baker NR, Davies WJ, Ong CK, eds. *Control of leaf growth*. Cambridge: Cambridge University Press. **Ser. 27**: 239-266.
- Jarvis PG. 1975.** Water transfer in plants. In: de Vries A, Afgan NH, eds. Heat and mass transfer in the biosphere. Par. I. Transfer processes in the plant environment. Seminar, Intern. Centr. Heat and mass transfer. Dubrovnik: John Wiley, Scripta Book Co, Washington D.C. 369-394.
- Jones HG. 1992.** *Plants and microclimate. A quantitative approach to environmental plant physiology. 2 edn.* Cambridge: Cambridge University Press.
- Jones HG. 1998.** Stomatal control of photosynthesis and transpiration. *Journal of Experimental Botany* **49**: 387-398.
- Jones HG, Sutherland RA. 1991.** Stomatal control of xylem embolism. *Plant, Cell and Environment* **14**: 607-612.
- Kemp DR. 1980.** The location and size of the extension zone of emerging wheat leaves. *The New Phytologist* **84**: 729-737.
- Kevekordes KG, McCully ME, Canny MJ. 1988.** Late maturation of large metaxylem vessels in soybean roots: significance for water and nutrient supply to the shoot. *Annals of Botany* **62**: 105-117.

- Koroleva OA, Tomos AD, Farrar JF. 1998.** Water relations of individual cells of barley source leaves. *Journal of Experimental Botany* **49s**: 6.
- Kozinka V. 1989.** Water uptake in the root system of Gramineae. In: Loughman BC, Gasparikova O, Kolek J, eds. *Structural and functional aspects of transport in roots, III International Symposium on structure and function of roots*. Nitra Czechoslovakia: Kluwer Academic. **36**: 169-173.
- Kramer PJ. 1988.** Changing concepts regarding plant water relations. *Plant, Cell and Environment* **11**: 565-568.
- Kramer PJ, Boyer JS. 1995.** *Water relations of plants and soils*. San Diego, California: Academic Press.
- Kuchenbrod E, Landeck M, Thürmer F, Haase A, Zimmermann U. 1996.** Measurement of water flow in the Xylem vessels of intact maize plants using flow-sensitive NMR imaging. *Botanica Acta* **109**: 184-186.
- Kuo J, O'Brien TP, Zee SY. 1972.** The transverse veins of the wheat leaf. *Australian Journal of Biological Sciences* **25**: 721-737.
- Kutschera U. 1995.** Tissue pressure and cell turgor in axial plant organs: implications for the organismal theory of multicellularity. *Journal of Plant Physiology* **146**: 126-132.
- Lang A. 1978.** A mode of mass flow in the phloem. *Australian Journal of Plant Physiology* **5**: 535-546.
- Lang A, Thorpe MR. 1986.** Water potential, translocation and assimilate partitioning. *Journal of Experimental Botany* **37**: 495-503.
- Lang A. 1990.** Xylem, phloem and transpiration flows in developing apple fruits. *Journal of Experimental Botany* **41**: 645-651.
- Lewis AM, Boose ER. 1995.** Estimating volume flow rates through xylem conduits. *American Journal of Botany* **82**: 1112-1116.
- Lockhart JA. 1965.** An analysis of irreversible plant cell elongation. *Journal of Theoretical Biology* **8**: 264-276.
- Lu ZJ, Neumann PM. 1998.** Water-stressed maize, barley and rice seedlings show species diversity in mechanisms of leaf growth inhibition. *Journal of Experimental Botany* **49**: 1945-1952.
- Luxova M. 1986.** The hydraulic safety zone at the base of the barley roots. *Planta* **169**: 465-470.
- MacAdam JCW. 1988.** *Cellular dynamics, peroxidase activity, and secondary cell wall deposition during tall fescue leaf blade development*. Ph. D. Thesis. University of Missouri, Columbia.
- Malone M. 1992.** Kinetics of wound-induced hydraulic signals and variation potentials in wheat seedlings. *Planta* **187**: 505-510.
- Malone M. 1993a.** Hydraulic signals. *Philosophical Transaction of the Royal Society of London - Serie B Biological Sciences* **341**: 33-39.
- Malone M. 1993b.** Rapid inhibition of leaf growth by root cooling in wheat: kinetics and mechanism. *Journal of Experimental Botany* **44**: 1663-1669.
- Malone M. 1996.** Rapid, Long-distance signal transmission in higher plants. *Advances in Agronomy* **22**: 163-228.
- Marshall DC, Penny D. 1976.** High-resolution measurements of transient changes in the growth rate of intact lupin seedlings. *Australian Journal of Plant Physiology* **3**: 237-246.
- Matsuda K, Riazi A. 1981.** Stress-induced osmotic adjustment in growing regions of barley leaves. *Plant Physiology* **68**: 571-576.

- Matthews MA, Van Volkenburgh E, Boyer JS. 1984.** Acclimation of leaf growth to low water potentials in sunflower. *Plant, Cell and Environment* **7**: 199-206.
- Matyssek R, Maruyama S, Boyer JS. 1991a.** Growth-induced potentials may mobilize internal water for growth. *Plant, Cell and Environment* **14**: 917-923.
- Matyssek R, Tang AC, Boyer JS. 1991b.** Plants can grow on internal water. *Plant, Cell and Environment* **14**: 925-930.
- McCully ME. 1999a.** Root xylem embolisms and refilling. Relation to water potentials of soil, roots, and leaves, and osmotic potentials of root xylem sap. *Plant Physiology* **119**: 1001-1008.
- McCully ME. 1999b.** Roots in soil: Unearthing the complexities of roots and their rhizospheres. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **50**: 695-718.
- McCully ME, Huang CX, Ling LE. 1998.** Daily embolism and refilling of xylem vessels in the roots of field-grown maize. *The New Phytologist* **138**: 327-342.
- McIntyre GI. 1987.** The role of water in the regulation of plant development. *Canadian Journal of Botany* **65**: 1287-1298.
- McQueen-Mason SJ. 1995.** Expansins and cell wall expansion. *Journal of Experimental Botany* **46**: 1639-1650.
- Meidner H. 1975.** Water supply, evaporation, and vapour diffusion in leaves. *Journal of Experimental Botany* **26**: 666-673.
- Melcher PJ, Meinzer FC, Yount DE, Goldstein G, Zimmermann U. 1998.** Comparative measurements of xylem pressure in transpiring and non-transpiring leaves by means of the pressure chamber and the xylem pressure probe. *Journal of Experimental Botany* **49**: 1757-1760.
- Melchior W, Steudle E. 1993.** Water transport in onion (*Allium cepa* L.) roots. Changes in axial and radial hydraulic conductivities during root development. *Plant Physiology* **101**: 1305-1315.
- Meuser J, Frensch J. 1998.** Hydraulic properties of living late metaxylem and interactions between transpiration and xylem pressure in maize. *Journal of Experimental Botany* **49**: 69-77.
- Michelena VA, Boyer JS. 1982.** Complete turgor maintenance at low water potentials in the elongating region of maize leaves. *Plant Physiology* **69**: 1145-1149.
- Milburn JA. 1996.** Sap ascent in vascular plants: challengers to the cohesion theory ignore the significance of immature xylem and the recycling of Münch water. *Annals of Botany* **78**: 399-407.
- Molz F, Ferrier J. 1982.** Mathematical treatment of water movement in plant cells and tissue: a review. *Plant, Cell and Environment* **5**: 191-206.
- Molz FJ, Boyer JS. 1978.** Growth-induced water potentials in plants cells and tissues. *Plant Physiology* **62**: 423-429.
- Molz FJ, Kerns Jr DV, Peterson CM, Dane JH. 1979.** A circuit analog model for studying quantitative water relations of plant tissues. *Plant Physiology* **64**: 712-716.
- Münch E. 1930.** *Die Stoffbewegungen in der Pflanze* Jena: Fischer.
- Nelson CJ, Asay KH, Sleper DA. 1977.** Mechanisms of canopy development of tall fescue genotypes. *Crop Science* **17**: 449-452.
- Nelson CJ, MacAdam JW. 1989.** Cellular dynamics in the leaf growth zone. *Current Topics in Plant Biochemistry and Physiology* **8**: 207-223.
- Nelson T, Dengler N. 1997.** Leaf vascular pattern formation. *The Plant Cell* **9**: 1221-1135.

- Neufeld HS, Grantz DA, Meinzer FC, Goldstein G, Crisosto GM, Crisosto C. 1992.** Genotypic variability in vulnerability of leaf xylem to cavitation in water-stressed and well-irrigated sugarcane. *Plant Physiology* **100**: 1020-1028.
- Nobel PS. 1999.** *Physicochemical and environmental plant physiology*. 2 edn. San Diego: Academic Press.
- Nolte T, Schopfer P. 1997.** Viscoelastic versus plastic cell wall extensibility in growing seedling organs: a contribution to avoid some misconceptions. *Journal of Experimental Botany* **48**: 2103-2107.
- Nonami H. 1998.** Plant water relations and control of cell elongation at low water potentials. *Journal of Plant Research* **111**: 373-382.
- Nonami H, Boyer JS. 1987.** Origin of growth-induced water potential. Solute concentration is low in apoplast of enlarging tissues. *Plant Physiology* **83**: 596-601.
- Nonami H, Boyer JS. 1990a.** Primary events regulating stem growth at low water potentials. *Plant Physiology* **94**: 1601-1609.
- Nonami H, Boyer JS. 1990b.** Wall extensibility and cell hydraulic conductivity decrease in enlarging stem tissues at low water potentials. *Plant Physiology* **93**: 1610-1619.
- Nonami H, Boyer JS. 1993.** Direct demonstration of growth-induced water potential gradient. *Plant Physiology* **102**: 12-19.
- Nonami H, Schulze ED. 1989.** Cell water potential, osmotic potential, and turgor in the epidermis and mesophyll of transpiring leaves: Combined measurements with the cell pressure probe and nanoliter osmometer. *Planta* **177**: 57-64.
- Nonami H, Schulze ED, Ziegler H. 1990.** Mechanisms of stomatal movement in response to air humidity, irradiance and xylem water potential. *Planta* **183**: 57-64.
- Nonami H, Wu Y, Boyer JS. 1997.** Decreased growth-induced water potential. A primary cause of growth inhibition at low water potentials. *Plant Physiology* **114**: 501-509.
- North GB, Nobel PS. 1991.** Changes in hydraulic conductivity and anatomy caused by drying and rewetting roots of *Agave deserti* (Agavaceae). *American Journal of Botany* **78**: 906-915.
- North GB, Nobel PS. 1998.** Water uptake and structural plasticity along roots of a desert succulent during prolonged drought. *Plant Cell and Environment* **21**: 705-713.
- North GG, Nobel PS. 2000.** Heterogeneity in water availability alters cellular development and hydraulic conductivity along roots of a desert succulent. *Annals of Botany* **In Press**.
- O'Brien TP. 1981.** The primary xylem. In: Barnett JR, ed. *Xylem cell development*. Turnbridge Wells, Kent: Castle House Publication Ltd. 14-46.
- O'Brien TP, Zee SY. 1971.** Vascular transfer cells in the vegetative nodes of wheat. *Australian Journal of Biological Sciences* **24**: 207-217.
- Onillon B. 1993.** *Effet d'une contrainte hydrique édaphique sur la croissance de la fétuque élevée soumise à différents niveaux de nutrition azotée. Étude à l'échelle foliaire et à celle du couvert végétal*. Ph. D. Thesis. Université de Poitiers, France.
- Ortega JKE. 1985.** Augmented growth for cell wall expansion. *Plant Physiology* **79**: 318-320.
- Paolillo DJ. 1995.** Protoxylem maturation in the seedling of wheat. *American Journal of Botany* **82**: 337-355.
- Pardossi A, Pritchard J, Tomos AD. 1994.** Leaf illumination and root cooling inhibits bean leaf expansion by decreasing turgor pressure. *Journal of Experimental Botany* **45**: 415-422.

- Parrish DJ, Wolf DD. 1983.** Kinetics of tall fescue leaf elongation: responses to changes in illumination and vapor pressure. *Crop Science* **23**: 659-663.
- Passioura JB. 1979.** Accountability, philosophy and plant physiology. *Search* **10**: 347-350.
- Passioura JB. 1980.** The meaning of matric potential. *Journal of Experimental Botany* **31**: 11161-11169.
- Passioura JB. 1982.** Water in the soil-plant-continuum. In: Lange OL, Nobel PS, Osmond CB, Ziegler H, eds. *Physiological plant ecology II, water relations and carbon assimilation*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag. 5-33.
- Passioura JB. 1988a.** Root signals control leaf expansion in wheat seedlings growing in drying soil. *Australian Journal of Plant Physiology* **15**: 687-693.
- Passioura JB. 1988b.** Water transport in and to roots. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **39**: 245-265.
- Passioura JB. 1991.** An impasse in plant water relations? *Botanica Acta* **104**: 405-411.
- Passioura JB. 1996.** Simulation models: science, snake, oil, education, or engineering? *Agronomy Journal* **88**: 690-694.
- Passioura JB, Munns R. 1984.** Hydraulic resistance of plants. II. Effects of rooting medium, and time of day, in barley and lupin. *Australian Journal of Plant Physiology* **11**: 341-350.
- Pate JS, Canny MJ. 1999.** Quantification of vessel embolisms by direct observation: a comparison of two methods. *New Phytologist* **141**: 33-43.
- Patrick JW. 1972a.** Vascular system of the stem of the wheat plant. I. Mature state. *Australian Journal of Plant Physiology* **20**: 49-63.
- Patrick JW. 1972b.** Vascular system of the stem of the wheat plant. II. Development. *Australian Journal of Botany* **20**: 65-78.
- Peters WS, Tomos AD. 1996.** The history of tissue tension. *Annals of Botany* **77**: 657-665.
- Peterson CA, Murrmann M, Steudle E. 1993.** Location of major barriers to water and ion movement in young root of *Zea mays* L. *Planta* **190**: 127-136.
- Peterson CA, Steudle E. 1993.** Lateral hydraulic conductivity of early metaxylem vessels in *Zea mays* L. roots. *Planta* **189**: 288-297.
- Petty JA. 1978.** Fluid flow through the vessels of birch wood. *Journal of Experimental Botany* **29**: 1463-1469.
- Pockman WT, Sperry JS, O'Leary JW. 1995.** Sustained and significant negative water pressure in xylem. *Nature* **378**: 715-716.
- Pritchard J, Jones RGW, Tomos AD. 1988.** Control of wheat root growth. The effects of excision on growth, wall rheology and root anatomy. *Planta* **176**: 399-405.
- Pritchard J, Wyn Jones RG, Tomos AD. 1990.** Measurement of yield threshold and cell wall extensibility of intact wheat roots under different ionic, osmotic and temperature treatments. *Journal of Experimental Botany* **41**: 699-675.
- Pritchard J, Jones RGW, Tomos AD. 1991.** Turgor, growth and rheological gradients of wheat roots following osmotic stress. *Journal of Experimental Botany* **42**: 1043-1049.
- Ray MR, Ruesink AW. 1963.** Osmotic behavior of oat coleoptile tissue in relation to growth. *Journal of General Physiology* **47**: 83-101.
- Ray PM, Green PB, Cleland R. 1972.** Role of turgor in plant cell growth. *Nature* **15**: 163-164.
- Rieger M, Litvin P. 1999.** Root system hydraulic conductivity in species with contrasting root anatomy. *Journal of Experimental Botany* **50**: 201-209.

- Robert D, Catesson AM. 1990.** Les tissus conducteurs : une clé pour la vie en milieu terrestre. *Biologie végétale Tome 2. Organisation végétative*. Paris: Doin. 181-230.
- Roth A. 1996.** Water transport in xylem conduits with ring thickenings. *Plant, Cell and Environment* **19**: 622-629.
- Russell SH, Evert RF. 1985.** Leaf vasculature in maize (*Zea mays* L.). *Planta* **164**: 448-458.
- Saab IN, Sharp RE, Pritchard J, Voetberg GS. 1990.** Increased endogenous abscisic acid maintains primary root growth and inhibits shoot growth of maize seedlings at low water potentials. *Plant Physiology* **93**: 1329-1336.
- Salleo S, Lo Gullo MA, Siracusano L. 1984.** Distribution of vessel ends in stems of some diffuse- and ring-porous trees: the nodal regions as 'safety zones' of the water conducting system. *Annals of Botany* **54**: 543-552.
- Sanderson J. 1983.** Water uptake by different regions of the barley root. Pathways of radial flow in relation to development of the endodermis. *Journal of Experimental Botany* **34**: 240-253.
- Sanderson J, Whitbread FC, Clarkson DT. 1988.** Persistent xylem cross-walls reduce the axial hydraulic conductivity in the apical 20 cm of barley seminal root axes: implications for the driving force for water movement. *Plant, Cell and Environment* **11**: 247-256.
- Schmid R. 1977.** Tracheary element secondary wall patterns and the definition of protoxylem and metaxylem. *International Association of Wood Anatomists Bulletin* **1**: 7-9.
- Schnyder H, Nelson CJ. 1987.** Growth rates and carbohydrate fluxes within the elongation zone of tall fescue leaf blades. *Plant Physiology* **85**: 548-553.
- Schnyder H, Nelson CJ. 1988.** Diurnal growth of tall fescue leaf blades. I. Spatial distribution of growth, deposition of water, and assimilate import in the elongation zone. *Plant Physiology* **86**: 1070-1076.
- Schnyder H, Nelson CJ, Spollen WG. 1988.** Diurnal growth of tall fescue leaf blades. II. Dry matter partitioning and carbohydrate metabolism in the elongation zone and adjacent expanded tissue. *Plant Physiology* **86**: 1077-1083.
- Schnyder H, Seo S, Rademacher IF, Kühbauch W. 1990.** Leaf growth in *Lolium perenne* L. I. Spatial distribution of growth rates and epidermal cell lengths in the elongation zone during development. *Planta* **181**: 423-431.
- Schulte PJ. 1999.** Water flow through a 20-pore perforation plate in vessels of *Liquidambar styraciflua*. *Journal of Experimental Botany* **50**: 1179-1187.
- Schulte PJ, Gibson AC, Nobel PS. 1989.** Water flow in vessels with simple or compound perforation plates. *Annals of Botany* **64**: 171-178.
- Schulze ED. 1984.** The regulation of plant transpiration: interactions of feedforward, feedback, and futile cycles. In: Schulze ED, ed. *Flux control in biological systems: From the enzyme to the population and ecosystem level*. San Diego: Academic press. 203-235.
- Schulze ED. 1986.** Carbon dioxide and water vapor exchange in response to drought in the atmosphere and in the soil. *Annual Review of Plant Physiology* **37**: 247-274.
- Schulze ED. 1993.** Soil water deficits and atmospheric humidity as environmental signals. In: Smith JAC, Griffiths C, eds. *Water deficits, plant responses from cell to community*. Bios Scientific Publishers. 129-145.
- Schulze ED. 1994.** The regulation of plant transpiration: interactions of feedforward, feedback, and futile cycles. In: Schulze ED, ed. *Flux control in biological systems. From the enzymes to populations and ecosystems*. San Diego: Academic Press. 203-235.



- Shackel KA, Matthews MA, Morrison JC. 1987.** Dynamic relation between expansion and cellular turgor in growing grape (*Vitis vinifera* L.) leaves. *Plant Physiology* **84**..
- Shane MW, McCully ME. 1999.** Root xylem embolisms: implications for water flow to the shoot in single-rooted maize plants. *Australian Journal of Plant Physiology* **26**: 107-114.
- Sharman BC. 1941.** Development of the ligule in *Zea mays* L. *Nature* **147**: 641.
- Sharman BC. 1942.** Developmental anatomy of the shoot of *Zea mays* L. *Annals of Botany* **6**: 245-282.
- Sharman BC. 1945.** Leaf and bud initiation in the gramineae. *Botanical Gazette* **166**: 269-289.
- Sharp RE, Davies WJ. 1979.** Solute regulation and growth by roots and shoots of water-stressed maize plants. *Planta* **147**: 43-49.
- Sharp RE, Hsiao TC, Silk WK. 1990.** Growth of the maize primary root at low water potentials. II. Role of growth and deposition of hexose and potassium in osmotic adjustment. *Plant Physiology* **93**: 1337-1346.
- Sharp RE, Silk WK, Hsiao TC. 1989.** Growth of the maize primary root at low water potentials. I. Spatial distribution of expansive growth. *Plant Physiology* **87**: 50-57.
- Sheehy JE, Mitchell PL, Beerling DJ, Tsukaguchi T, Woodward FI. 1998.** Temperature of rice spikelets: thermal damage and the concept of a thermal burden. *Agronomie* **18**: 449-460.
- Sheriff DW. 1982.** The hydraulic pathways in *Nicotiana glauca* (Grah.) and *Tradescantia virginiana* (L.) leaves, and water potentials in leaf epidermis. *Annals of Botany* **50**: 535-548.
- Sheriff DW. 1984.** Epidermal transpiration and stomatal responses to humidity: some hypotheses explored. *Plant, Cell and Environment* **7**: 669-677.
- Sheriff DW, Meidner H. 1974.** Water pathways in leaves of *Hedera helix* L. and *Tradescantia virginiana* L. *Journal of Experimental Botany* **25**: 1147-1156.
- Siau JF. 1984.** *Transport process in wood*. Berlin: Springer-Verlag.
- Silk WK. 1984.** Quantitative descriptions of development. *Annual Review of Plant Physiology* **35**: 479-518.
- Silk WK, Erickson RO. 1979.** Kinematics of plant growth. *Journal of Theoretical Biology* **76**: 481-501.
- Silk WK, Wagner KK. 1980.** Growth-sustaining water potential distributions in the primary corn root. *Plant Physiology* **66**: 859-863.
- Skinner RH, Nelson CJ. 1994.** Epidermal cell division and the coordination of leaf and tiller development. *Annals of Botany* **74**: 9-15.
- Skinner RH, Nelson CJ. 1995.** Elongation of the grass and its relationship to the phyllochron. *Crop Science* **35**: 4-10.
- Sperry JS, Adler FR, Campbell GS, Comstock JP. 1998.** Limitation of plant water use by rhizosphere and xylem conductance: results from a model. *Plant Cell and Environment* **21**: 347-359.
- Sperry JS, Donnelly JR, Tyree MT. 1988a.** A method for measuring hydraulic conductivity and embolism in xylem. *Plant, Cell and Environment* **11**: 35-40.
- Sperry JS, Donnelly JR, Tyree MT. 1988.** Seasonal occurrence of xylem embolism in sugar maple (*Acer saccharum*). *American Journal of Botany* **75**: 1212-1218
- Sperry JS, Saliendra NZ, Pockman WT, Cochard H, Cruiziat P, Davis SD, Ewers FW, Tyree MT. 1996.** New evidence for large negative xylem pressure and their measurement by the pressure chamber method. *Plant, Cell and Environment* **19**: 427-436.

- Sperry JS, Tyree MT. 1988.** Mechanism of water stress-induced xylem embolism. *Plant Physiology* **88**: 581-587.
- Spollen WG. 1989.** *Fructan composition and physiological roles in wheat, tall fescue and timothy*. Ph D Thesis. University of Missouri, Columbia.
- Spollen WG, Sharp RE. 1991.** Spatial distribution of turgor and root growth at low water potentials. *Plant Physiology* **96**: 438-443.
- Spollen WG, Sharp RE, Saab IN, Wu Y. 1993.** Regulation of cell expansion in roots and shoots at low water potentials. In: Smith JAC, Griffiths C, eds. *Water deficits, plant responses from cell to community*. Bios Scientific Publishers. 37-52.
- St Aubin G, Canny MJ, Mc Cully ME. 1986.** Living vessel elements in the late metaxylem of sheathed maize roots. *Annals of Botany* **58**: 577-588.
- Stedle E. 1985.** Water transport as a limiting factor in extension growth. In: Baker N, Davies W, Ong C, eds. *Control of leaf growth*. Cambridge: Cambridge University Press. 35-55.
- Stedle E. 1989.** Water flow in plants and its coupling to other processes: an overview. In: Fleischer S, Fleischer R, eds. *Biomembranes, Part U: cellular and subcellular transport: eukaryotic (nonepithelial) cells*. London, New York: Academic press. **174**: 183-225.
- Stedle E. 1992.** The biophysics of water: compartmentation, coupling with metabolic processes, and flow of water in plant roots. In: Somero GN, Osmond CB, Bolis CL, eds. *Water and life: comparative analysis of water relationships at the organismic, cellular, and molecular level*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag. 173-204.
- Stedle E. 1993.** Pressure probe: basic principals and application to studies of water and solutes relations at the cell, tissue and organ level. In: Smith JAC, Griffiths C, eds. *Water deficits, plant responses from cell to community*. bios Scientific Publishers. 5-36.
- Stedle E. 1994.** The regulation of plant water at the cell, tissue, and organ level: role of active processes and of compartmentation. In: Schulze ED, ed. *Flux control in biological systems. From the enzymes to populations and ecosystems*. San Diego: Academic Press. 237-299.
- Stedle E. 1995.** Trees under tension. *Nature* **378**: 663-664.
- Stedle E, Boyer JS. 1985.** Hydraulic resistance to radial water flow in growing hypocotyl of soybean measured by a new pressure-perfusion technique. *Planta* **164**: 189-200.
- Stedle E, Brinckmann E. 1989.** The osmometer model of the root: water and solute relations of *Phaseolus coccineus*. *Botanica Acta* **102**: 85-95.
- Stedle E, Jeschke WD. 1983.** Water transport in barley root. *Planta* **158**: 237-248.
- Stedle E, Oren R, Schulze ED. 1987.** Water transport in maize roots. Measurement of hydraulic conductivity, solute permeability and of reflection coefficients of excised roots using the root pressure probe. *Plant Physiology* **84**: 1220-1232.
- Stedle E, Peterson CA. 1998.** How does water get through roots? *Journal of Experimental Botany* **49**: 775-788.
- Tanton TW, Crowdy SH. 1972.** Water pathways in higher plants. II. Water pathways in roots. *Journal of Experimental Botany* **23**: 600-618.
- Tardieu F, Davies WJ. 1993.** Root shoot communication and whole plant regulation of water flux. In: Smith JAC, Griffiths C, eds. *Water deficits, plant responses from cell to community*. Bios Scientific Publishers. 147-176.
- Thomas A, Tomos AD, Stoddart JL, Thomas H, Pollock CJ. 1989.** Cell expansion rate, temperature and turgor pressure in growing leaves of *Lolium temulentum* L. *The New Phytologist* **112**: 1-5.

- Thurmer F, Zhu JJ, Gierlinger N, Schneider H, Benkert R, Gessner P, Herrmann B, Bentrup FW, Zimmermann U. 1999.** Diurnal changes in xylem pressure and mesophyll cell turgor pressure of the liana *Tetrastigma voinierianum*: the role of cell turgor in long-distance water transport. *Protoplasma* **206**: 152-162.
- Tomos D, Pritchard J. 1994.** Biophysical and biochemical control of cell expansion in roots and leaves. *Journal of Experimental Botany* **45**: 1721-1731.
- Triboulot MB, Pritchard J, Levy G. 1997.** Effects of potassium deficiency on cell water relations and elongation of tap and lateral roots of maritime pine seedlings. *The New Phytologist* **135**: 183-190.
- Triboulot MB, Pritchard J, Tomos D. 1995.** Stimulation and inhibition of pine root growth by osmotic stress. *The New Phytologist* **130**: 169-175.
- Trivett CL, Evert RF. 1998.** Ontogeny of the vascular bundles and contiguous tissues in the barley leaf blade. *International Journal of Plant Sciences* **159**: 716-723.
- Turner NC. 1997.** Further progress in crop water relations. *Advances in Agronomy* **58**: 293-338.
- Tyree MT. 1988.** A dynamic model for water flow in a single tree: evidence that models must account for hydraulic architecture. *Tree Physiology* **4**: 195-217.
- Tyree MT. 1997.** The cohesion-tension theory of sap ascent: current controversies. *Journal of Experimental Botany* **48**: 1733-1753.
- Tyree MT, Cheung YNS. 1977.** Resistance to water flow in *Fagus grandifolia* leaves. *Canadian Journal of Botany* **55**: 2591-2599.
- Tyree MT, Cruziat P, Benis M, LoGullo MA, Salleo S. 1981.** The kinetics of rehydration of detached sunflower leaves from different initial water deficits. *Plant, Cell and Environment* **4**: 309-317.
- Tyree MT, Ewers FW. 1991.** The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *The New Phytologist* **119**: 345-360.
- Tyree MT, Ewers FW. 1996.** Hydraulic architecture of woody tropical plants. In: Huckley SS, Chazdon RL, eds. *Tropical forest plant ecophysiology*. New York: Chapman and Hall. **8**: 217.
- Tyree MT, Fiscus EL, Wullschlegel SD, Dixon MA. 1986.** Detection of xylem cavitation in corn under field conditions. *Plant Physiology* **82**: 597-599.
- Tyree MT, Salleo S, Nardini A, Logullo MA, Mosca R. 1999a.** Refilling of embolized vessels in young stems of laurel. Do we need a new paradigm? *Plant Physiology* **120**: 11-21.
- Tyree MT, Sinclair B, Lu P, Granier A. 1993.** Whole shoot hydraulic resistance in *Quercus* species measured with a new high-pressure flowmeter. *Annales des Sciences Forestières* **50**: 417-423.
- Tyree MT, Snyderman DA, Wilmot TR, Machado JL. 1991.** Water relations and hydraulic architecture of a tropical tree (*Schefflera morototoni*). Data, models, and a comparison with two temperate species (*Acer saccharum* and *Thuja occidentalis*). *Plant Physiology* **96**: 1105-1113.
- Tyree MT, Sobrado MA, Stratton LJ, Becker P. 1999b.** Diversity of hydraulic conductance in leaves of temperate and tropical species: possible causes and consequences. *Journal of Tropical Forest Science* **11**: 47-60.
- Tyree MT, Sperry JS. 1988.** Do woody plants operate near the point of catastrophic xylem dysfunction caused by dynamic water stress? *Plant Physiology* **88**: 574-588.
- Tyree MT, Sperry JS. 1989.** Vulnerability of xylem to cavitation and embolism. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **40**: 19-38.

- Tyree MT, Velez V, Dalling JW. 1998.** Growth dynamics of root and shoot hydraulic conductance in seedlings of five neotropical tree species: scaling to show possible adaptation to differing light regimes. *Oecologia* **114**: 293-298.
- Tyree MT, Yianoulis P. 1984.** A model to investigate the effect of evaporative cooling on the pattern of evaporation in sub-stomatal cavities. *Annals of Botany* **53**: 189-206.
- Tyree TM, Davis SD, Cochard H. 1994.** Biophysical perspectives of xylem evolution: is there a tradeoff of hydraulic efficiency for vulnerability to dysfunction? *IAWA Journal* **15**: 335-360.
- Volenc JJ, Nelson CJ. 1981.** Cell dynamics in leaf meristems of contrasting tall fescue genotypes. *Crop Science* **21**: 381-385.
- Volenc JJ, Nelson CJ. 1982.** Diurnal leaf elongation of contrasting tall fescue genotypes. *Crop Science* **22**: 531-535.
- Waldron LJ, Terry N. 1987.** The influence of atmospheric humidity on leaf expansion in *Beet vulgaris* L. *Planta* **170**: 336-342.
- Weatherley PE. 1963.** The pathway of water movement across the root cortex and leaf mesophyll of transpiring plants. In: Rutter AJ, Whitehead FH, eds. *The water relations of plants*. New York: John Wiley and sons. 85-100.
- Weatherley PE. 1982.** Water uptake and flow in roots. In: Lange OL, Nobel PS, Osmond CB, Ziegler H, eds. *Physiological plant ecology II, water relations and carbon assimilation*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag. 35-78.
- Wei C, Tyree MT, Steudle E. 1999.** Direct measurement of xylem pressure in leaves of intact maize plants: a test of the cohesion-tension theory taken account of hydraulic architecture. *Plant Physiology* submitted.
- Westgate ME, Boyer JS. 1984.** Transpiration- and growth-induced water potentials in maize. *Plant Physiology* **74**: 882-889.
- 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, Steudle E. 1985.** Water transport in the midrib tissue of maize leaves. Direct measurement of the propagation of changes in cell turgor across a plant tissue. *Plant Physiology* **78**: 183-191.
- Williams RF. 1975.** *The shoot apex and leaf growth*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Winch S, Pritchard J. 1999.** Acid-induced wall loosening is confined to the accelerating region of the root growing zone. *Journal of Experimental Botany* **50**: 1481-1487.
- Wolf DD, Parrish DJ. 1982.** Short-term growth responses of tall fescue to change in soil water potential and to defoliation. *Crop Science* **22**: 996-999.
- Yang SY, Tyree MT. 1994.** Hydraulic architecture of *Acer saccharum* and *A. rubrum*: comparison of branches to whole trees and the contribution of leaves to hydraulic resistance. *Journal of Experimental Botany* **45**: 179-186.
- Yianoulis P, Tyree MT. 1980.** The site of water evaporation from sub-stomatal cavities, liquid path resistances and hydroactive stomatal closure. *Annals of Botany* **46**: 175-193.
- Yeo AR, Lee KS, Izard P, Boursier PJ, Flowers TJ. 1991.** Short- and long-term effects of salinity on leaf growth in rice (*Oryza Sativa* L.). *Journal of Experimental Botany* **42**: 881-889.
- Zhang J, Davies WJ. 1989.** Abscisic acid produced in dehydrating roots may enable the plant to measure the water status of the soil. *Plant, Cell and Environment* **12**: 73-81.

- Zhu GL, Boyer JS. 1992.** Enlargement in *Chara* studied with a turgor clamp. Growth rate is not determined by turgor. *Plant Physiology* **100**: 2071-2080.
- Zimmermann MH. 1983.** *Xylem structure and the ascent of sap*. Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo: Springer-Verlag.
- Zimmermann MH, Jeje AA. 1981.** Vessel-length distribution in stems of some American woody plants. *Canadian Journal of Botany* **59**: 1882-1892.
- Zimmermann U, Meinzer F, Bentrup FW. 1995.** How does water ascend in tall trees and other vascular plants? *Annals of Botany* **76**: 545-551.
- Zimmermann U, Meinzer FC, Benckert R, Zhu JJ, Schneider H, Goldstein G, Kuchenbrod E, Haase A. 1994.** Xylem water transport: is the available evidence consistent with the cohesion theory? *Plant, Cell and Environment* **17**: 1169-1181.
- Zimmermann U, Steudle E. 1978.** Physical aspects of water relations of plants cells. *Advances in Botanical Research* **6**: 45-117.

## *PUBLICATION 1*

---

**Martre P, Bogeat-Triboulot MB, Durand JL. 1999**  
Measurement of a growth-induced water potential gradient in tall fescue leaves  
New Phytologist **142** : 435-439

# Measurement of a growth-induced water potential gradient in tall fescue leaves

PIERRE MARTRE<sup>1</sup>, MARIE-BEATRICE BOGEAT-TRIBOULOT<sup>2</sup>  
AND JEAN-LOUIS DURAND<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> *Unité d'Ecophysiologie des Plantes Fourragères, Institut National de la Recherche Agronomique, 86600 Lusignan, France*

<sup>2</sup> *Unité d'Ecophysiologie Forestière, Équipe Sol et Nutrition, Institut National de la Recherche Agronomique, 54280 Champenoux, France*

Received 9 December 1998; accepted 23 February 1999

## SUMMARY

Spatial distribution of cell turgor pressure, cell osmotic pressure and relative elemental growth rate were measured in growing tall fescue leaves (*Festuca arundinacea*). Cell turgor pressure (measured with a pressure probe) was c. 0.55 MPa in expanding cells but increased steeply (+0.3 MPa) in cells where elongation had stopped. However, cell osmotic pressure (measured with a picolitre osmometer) was almost constant at 0.85 MPa throughout the leaf. The water potential difference between the growth zone and the mature zone (0.3 MPa) was interpreted as a growth-induced water potential gradient. This and further implications for the mechanism of growth control are discussed.

Key words: cell osmotic pressure, cell turgor pressure, *Festuca arundinacea* (tall fescue), leaf growth (elongation zone), water potential gradient, relative elemental growth rate.

## INTRODUCTION

Expansive growth is very sensitive to water shortage (Hsiao, 1973). Part of this sensitivity is due to the need to draw water and solutes from a distant vascular system into expanding cells (Boyer, 1988). However, the extent to which cell expansion is limited by the hydraulic conductivity of tissues versus mechanical properties of cell walls or solute accumulation remains unclear (Ray *et al.*, 1972; Boyer, 1988; Cosgrove, 1993; Frensch & Hsiao, 1995). One reason for this uncertainty is the difficulty of obtaining clearly defined data on the water status of the source (xylem) and the sink (growing cells) in growing tissues. When leaves do not transpire, mature tissues exhibit a water potential that is close to soil water potential throughout their length. Since a water flow is required for cell expansion, water potential should be lower in the growing cells. The importance of this growth-induced water potential difference has been a matter of debate for many years (Cosgrove, 1987; Malone & Tomos, 1992; Nonami

& Boyer, 1993). Much of the discussion was focused on research on growing hypocotyls and roots (Pritchard *et al.*, 1996), the leaf receiving less attention (Fricke *et al.*, 1997; Fricke & Flowers, 1998).

The aim of this article is to establish whether a difference in cell turgor pressure and water potential exists between growing and non-growing tissues in a non-transpiring tall fescue leaf, and if so whether such a difference is related to cell elongation.

## MATERIAL AND METHODS

### *Plant material and growth conditions*

Individual tillers from tall fescue plants (*Festuca arundinacea* Schreb. cv. Clarine) were vegetatively propagated, grown in a glasshouse in 250 ml pots filled with vermiculite and irrigated with the nutrient solution described by Maurice *et al.* (1997).

One wk before the experiments all tillers, except one which had three mature leaves, were removed. Pots were then transferred to a controlled environment cabinet. The PPFD was  $380 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (provided by HQI-T 400 W/D lamps, Osram, Germany) during the 14 h photoperiod. Relative

Abbreviations:  $\pi$ , cell osmotic pressure; P, cell turgor pressure; REGR, relative elemental growth rate;  $\psi$ , water potential.

\*Author for correspondence (fax: 33 5 49 55 60 94; e-mail jldurand@lusignan.inra.fr).

humidity was controlled at  $68 \pm 5\%$  throughout the 24 h period, and air temperature was maintained at  $16 : 22^\circ\text{C}$  (light:dark) in order to provide a constant temperature ( $21 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ) within the leaf growth zone. The predawn leaf water potential, measured with a pressure chamber, was  $-0.28 \pm 0.05$  MPa. Measurements were taken on the fifth leaf when it was  $20 \pm 1$  cm long (i.e.  $< 50\%$  of its final length). At this developmental stage the ligule was approx. 1 mm from the leaf base. The average daily elongation rate was  $1.4 \pm 0.3$  mm  $\text{h}^{-1}$ .

One set of plants (Set 1) was used to compare the growth zone of expanding leaves with the lamina of mature leaves. In this case, turgor pressure (P; see Abbreviations), osmotic pressure ( $\pi$ ) and relative elemental growth rate (REGR) were measured on different batches of plants. A second set of plants (Set 2) was used to study the variations of P and REGR along the same growing leaf.

#### *Relative elemental growth rate (REGR)*

In the Set 1 plants, REGR was determined using the pricking method described by Schnyder *et al.* (1987). Briefly, holes were pricked every 2.5 mm through the basal part, 60 mm in length, on 11 tillers. Pricking was performed at the beginning of the dark period and tillers were sampled *c.* 9 h later. The elongation of leaves between pricking and sampling never exceeded 20% of growth zone length. The REGR was calculated using the method of Durand *et al.* (1995).

In the Set 2 plants both REGR and P were determined on the same leaves. At the beginning of a dark period, a 'window' (2 mm wide) was carefully cut through the mature sheaths overlying the growing leaf, between 10 and 70 mm from the leaf base. After deposition of fine pigment ink points (0.1 mm diameter) every 2.5 mm, the window was rapidly covered with vaseline to avoid transpiration. The exact distance between the marks was measured with a magnifying glass scale (accuracy  $\pm 0.1$  mm). The window was then closed by replacing the pieces of sheaths previously removed and recovered with tin foil, and the plant was returned to the growth cabinet. The distance between marks was measured again 9 h later and REGR was calculated in the same way as for the pricking method. Plants with an elongation rate which had reduced by  $> 20\%$  were discarded.

#### *Cell turgor and osmotic pressure*

Cell turgor pressure (P) was determined using a pressure probe (Hüsken *et al.*, 1978). The plant was placed in low-transpiration conditions (darkness, ambient temperature and humidity), and the probing zone was illuminated with a green fibre optic. Measurements were completed within 4 h after the

installation of the plant at the probing stage. No change in P was detected during that period.

In growing leaves measurements were taken on the first four layers of mesophyll cells. As no difference was observed, data from all the layers were combined.

In the Set 1 plants P was measured between 10–20 mm from the leaf base of 7 tillers. Two nights before P probing, the leaf elongation rate was calculated from length differences. Before P probing took place, a piece of sheath ( $2 \times 10$  mm) was removed from the outer leaves in order to expose the growth zone, which had been spread with vaseline. Leaf elongation was assessed again during the night and only those plants whose elongation was  $> 80\%$  of the original rate were used in the experiment. P was also measured on the abaxial epidermal cells of mature leaves, midway between the ligule and the tip.

In Set 2 plants P was measured along the leaf base, on the tillers where the spatial distribution of growth was calculated using pigment ink points deposition (see 'Relative elemental growth rate (REGR)' in the Materials and Methods section). The distance between marks was measured again at the end of the probing session; increase in length of the segments where P had been measured indicated that the cells were still expanding. It was checked that the length of the growth zone was not affected by P measurements.

The  $\pi$  of extracted vacuolar sap of mesophyll cells was measured by freezing-point depression (Malone *et al.*, 1989; Malone & Tomos, 1992) at different positions along three growing leaves.

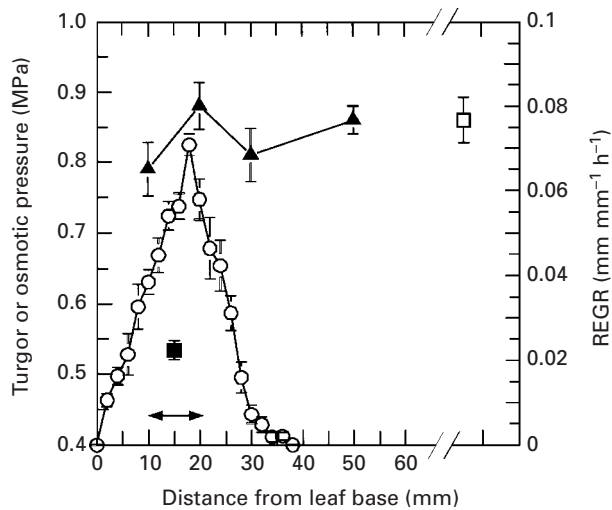
## RESULTS

At the developmental stage at which leaves were sampled, the length of the growth zone was  $32 \pm 1$  mm (Fig. 1) and the spatial variation of REGR appeared to be slightly asymmetrical with a maximum of  $0.071 \pm 0.0026$  mm  $\text{mm}^{-1}$   $\text{h}^{-1}$  at 18 mm from leaf base. This was consistent with previous results obtained from the same species (Spollen & Nelson, 1994; Durand *et al.*, 1995; Maurice *et al.*, 1997). Although measurements were made during the light period, but under non-transpiring conditions, the length of the growth zone during P measurements was not changed. This was consistent with the findings of Schnyder & Nelson (1988).

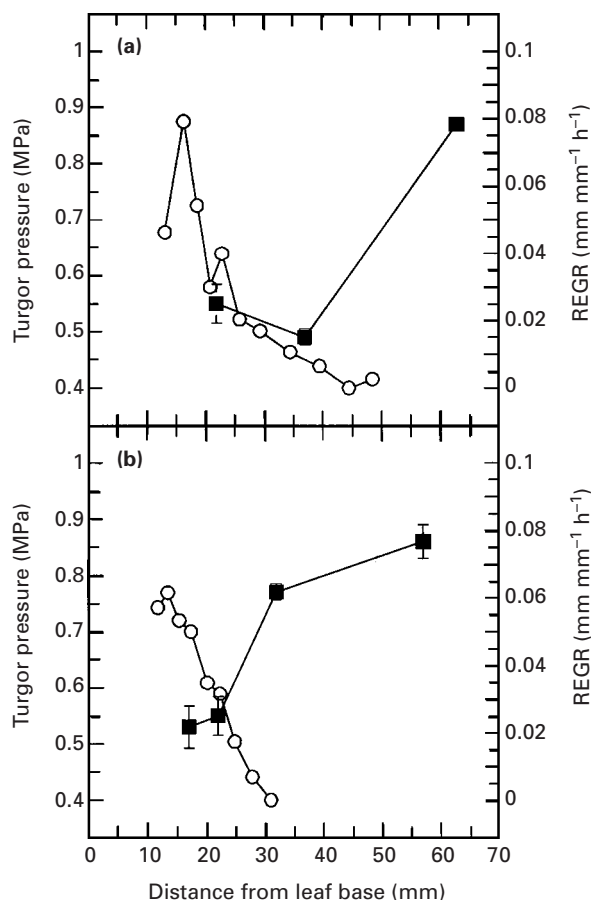
Low variability was shown in P measured between 10 and 20 mm from the leaf base, the mean value being  $0.53 \pm 0.01$  MPa (Fig. 1). At approx. 250 mm from the base, in the lamina of mature leaves, P was  $0.87 \pm 0.03$  MPa.

The REGR and P of two non-transpiring individual tillers were measured simultaneously. In the first case (Fig. 2a), P was almost identical at 22 and 37 mm from the leaf base (*c.* 0.55 MPa), although REGR decreased in the same interval from





**Fig. 1.** Cell turgor pressure (filled squares;  $n = 14$  cells from 7 tillers), cell osmotic pressure (filled triangles;  $n = 9$  cells from 3 tillers), relative elemental growth rate (REGR) in the growth zone of tall fescue leaves as a function of the distance from the leaf base (open circles;  $n = 11$  tillers) and cell turgor pressure of lamina of mature leaves (open squares;  $n = 17$  cells from 8 leaves). Cell turgor pressure was measured in the segment in the growth zone indicated (arrow). Data are means  $\pm$  SE (represented by vertical bars, except when smaller than the symbol). Each type of measurement was obtained from the same experiment but from different batches of plants.



**Fig. 2.** Cell turgor pressure (filled squares; mean  $\pm$  SE,  $n = 2-3$ ) and relative elemental growth rate (REGR) (open circles) as a function of the distance from the leaf base of tall fescue. (a) and (b) each represent one distinct tiller.

0.04 to 0.01  $\text{mm mm}^{-1} \text{h}^{-1}$ . However, at 63 mm (i.e. *c.* 15 mm beyond the end of the growth zone) P was  $0.86 \pm 0.01$  MPa. In the second tiller (Fig. 2b), the P value was close to 0.55 MPa in the growth zone at 17 and 22 mm, as found in the previous cases (Figs 1, 2a). However, at 32 mm, where REGR reached zero, the P value was  $0.78 \pm 0.01$  MPa, and increased to  $0.87 \pm 0.03$  MPa at 57 mm. Therefore, in this case, at the end of the elongation zone P had increased by *c.* 0.3 MPa within a maximum distance of 10 mm. For both tillers, P was very similar in the maturation zone (just at the end of the growth zone) and in the mature lamina leaves (Figs 1, 2).

Measuring  $\pi$  at 10, 20, 30 and 50 mm from the leaf base (Fig. 1) gave a mean value of  $0.83 \pm 0.02$  MPa. Variation of  $\pi$  along the first 50 mm of the tillers was *c.* 0.1 MPa, with a maximum in the region where REGR was highest.

#### DISCUSSION

In monocot. leaves, the growth zone is located at the base of the leaf and attached to the tiller base. Thus, water feeding the mature part of the growing leaf must be transported through the growth zone. Using data determined from both sets of plants, it was estimated that the water potential ( $\psi$ ) in mesophyll cells was close to  $-0.01$  MPa at 50 mm from leaf base (in the mature zone). This indicates that this compartment was in equilibrium with the soil  $\psi$ , transpiration being negligible under our experimental conditions. However,  $\psi$  of mesophyll cells was  $-0.3$  MPa in the growth zone. Such  $\psi$  distribution can only be explained by a high conductivity bypass, through the growth zone, for water to be transported from the tiller base to the mature zone of the leaf, which implies a hydraulic continuity of the xylem throughout the leaf. Using heat pulse transport, Rayan & Matsuda (1988) have drawn the same conclusion in the barley leaf. By contrast, in maize, Evert *et al.* (1996) concluded that there is no overlap between functional proto- and meta-xylem at the end of the growth zone. Thus, the distal part of the leaf would have no direct connection with the stem by means of differentiated tracheary elements.

Assuming an equilibrium in the whole tissue of the non-transpiring mature part, it can be concluded that the xylem  $\psi$  was close to  $-0.01$  MPa all along the leaf. So a radial  $\psi$  difference of approx. 0.3 MPa is likely to exist between the protoxylem vessels and growing mesophyll cells. Molz & Boyer (1978) referred to this difference as the growth-induced water-potential gradient. In the same species, using the psychrometric method on leaf segments, Onillon (1993) found a  $\psi$  difference of 0.25 MPa in non-transpiring leaves. Using isopiestic measurements, Michelena & Boyer (1982) and Westgate & Boyer (1984) found a  $\psi$  difference of 0.3–0.5 MPa between the growth and mature zones in non-transpiring

maize leaves. More recently, employing the method used in the current work, Fricke *et al.* (1997) found a growth-induced water potential of 0.15 MPa in barley leaves. This lower value could have been due to a leaf transpiration which was not zero under their conditions (Westgate & Boyer, 1984). These data suggest that the hydraulic conductivity of the extra-vascular pathway is low in the growth zone. It may be partly for this reason that the growth process is so responsive to environmental conditions, as pointed out by Barlow (1986) and Boyer (1988).

Although at the whole leaf level, P was systematically lower in expanding cells than in mature cells, P was not correlated with the local growth rate along the growth zone. This had previously been reported on roots (Triboulot *et al.*, 1995; Pritchard *et al.*, 1996) and leaves (Thomas, 1990, cited by Tomos & Pritchard, 1994; Fricke *et al.*, 1997). Variations of the cell strain rate at constant turgor suggest parallel changes in wall extensibility. As shown by Schnyder & Nelson (1987), the REGR profile paralleled the distribution of radial water flow from the xylem towards growing cells. Hence, the variations of water flow associated with a constant  $\psi$  difference suggested proportional changes in hydraulic conductance of the radial pathway along the growth zone, as contemplated by Silk & Wagner (1980).

The pressure jump associated with the cessation of cell expansion was striking. The cell displacement velocity out of the growth zone was equivalent to the leaf elongation rate (i.e. 1.4 mm h<sup>-1</sup>). Hence, it took approx. 7 h for a cell to be displaced by 10 mm at the end of the growth zone. As the osmotic pressure remained high at the end of the growth zone, the new water potential equilibrium of non-growing cells induced a dramatic change in P. The model of Silk & Wagner (1980) predicted such a rapid change in  $\psi$ . In fact, data from Volenec & Nelson (1981) and MacAdam *et al.* (1992) show that secondary cell wall and lignin accumulation occur rather suddenly at the end of cell elongation. This could increase the stiffness of the cell wall, this contributing by itself to prevent further expansion. Such an increase in P is not the norm in plant tissues. In roots, P is usually 0.5 MPa in the growth zone, but it remains constant or decreases slightly as cells move away from the growth zone (Frensch & Hsiao, 1993; Pritchard, 1994; Triboulot *et al.*, 1997). It would be interesting to assess whether this higher turgor in mature leaves compared with mature roots could depend on the structural requirements for self support in mature leaves.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

This research was partially funded by a grant donated to P.M. from the Région Poitou-Charentes. We are grateful to G. Millet for cultivating the plants, to Dr B. Mouliat

(Lusignan, France) and Pr W. K. Silk (Davis, USA) for their helpful comments on the discussion. P.M. is very thankful for the hospitality shown to him while a visitor at the INRA Nancy during this work.

#### REFERENCES

- Barlow EWR.** 1986. Water relations of expanding leaves. *Australian Journal of Plant Physiology* **13**: 45–58.
- Boyer JS.** 1988. Cell enlargement and growth-induced water potential. *Physiologia Plantarum* **73**: 311–316.
- Cosgrove DJ.** 1987. Wall relaxation in growing stems: comparison of four species and assessment of measurement techniques. *Planta* **171**: 266–278.
- Cosgrove DJ.** 1993. Water uptake by growing cells: an assessment of the controlling roles of wall relaxation, solute uptake, and hydraulic conductance. *International Journal of Plant Science* **154**: 10–21.
- Durand JL, Onillon B, Schnyder H, Rademacher I.** 1995. Drought effects on cellular and spatial parameters of leaf growth in tall fescue. *Journal of Experimental Botany* **46**: 1147–1155.
- Evert RF, Russin WA, Bosabalidis AM.** 1996. Anatomical and ultrastructural changes associated with sink-to-source transition in developing maize leaves. *International Journal of Plant Sciences* **157**: 247–261.
- Frensch J, Hsiao TC.** 1993. Hydraulic propagation of pressure along immature and mature xylem vessels of root of *Zea mays* measured by pressure-probe techniques. *Planta* **190**: 263–270.
- Frensch J, Hsiao TC.** 1995. Rapid response of the yield threshold and turgor regulation during adjustment of root growth to water stress in *Zea mays*. *Plant Physiology* **108**: 303–312.
- Fricke W, Flowers TJ.** 1998. Control of leaf cell elongation in barley. Generation rates of osmotic pressure and turgor, and growth-associated water potential gradients. *Planta* **206**: 53–65.
- Fricke W, McDonald AJ, Mattson-Djos L.** 1997. Why do leaves and leaf cells of N-limited barley elongate at reduce rate? *Planta* **202**: 522–530.
- Hsiao TC.** 1973. Plant responses to water stress. *Annual Review of Plant Physiology* **24**: 519–570.
- Hüsken D, Steudle E, Zimmermann U.** 1978. Pressure probe technique for measuring water relations of cells in higher plants. *Plant Physiology* **61**: 158–163.
- MacAdam JW, Sharp RE, Nelson CJ.** 1992. Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue. II. Spatial distribution of apoplastic peroxidase activity in genotypes differing in length of the elongation zone. *Plant Physiology* **99**: 879–885.
- Malone M, Leigh RA, Tomos AD.** 1989. Extraction and analysis of sap from individual wheat leaf cells: the effect of sampling speed on the osmotic pressure of extracted sap. *Plant, Cell and Environment* **12**: 919–926.
- Malone M, Tomos AD.** 1992. Measurements of gradients of water potential in elongating stem by pressure probe and picolitre osmometry. *Journal of Experimental Botany* **43**: 1325–1331.
- Maurice I, Gastal F, Durand JL.** 1997. Generation of form and associated mass deposition during leaf development in grasses: a kinematics approach for non-steady growth. *Annals of Botany* **80**: 673–683.
- Michelena VA, Boyer JS.** 1982. Complete turgor maintenance at low water potentials in the elongating region of maize leaves. *Plant Physiology* **69**: 1145–1149.
- Molz FJ, Boyer JS.** 1978. Growth-induced water potentials in plants cells and tissues. *Plant Physiology* **62**: 423–429.
- Nonami H, Boyer JS.** 1993. Direct demonstration of growth-induced water potential gradient. *Plant Physiology* **102**: 12–19.
- Onillon B.** 1993. *Effet d'une contrainte hydrique édaphique sur la croissance de la fétuque élevée soumise à différents niveaux de nutrition azotée. Etude à l'échelle foliaire et à celle du couvert végétal.* PhD thesis, Université de Poitiers, France.
- Pritchard J.** 1994. The control of cell expansion in roots. *New Phytologist* **127**: 3–26.
- Pritchard J, Tomos D, Fricke W.** 1996. Turgor-regulation during extension growth and osmotic stress of maize roots. An example of single-cell mapping. *Plant and Soil* **187**: 11–21.

- Ray PM, Green PB, Cleland R. 1972.** Role of turgor in plant cell growth. *Nature* **15**: 163–164.
- Rayan A, Matsuda K. 1988.** The relation of the anatomy to water movement and cellular response in young barley leaves. *Plant Physiology* **87**: 853–858.
- Schnyder H, Nelson CJ. 1987.** Growth rates and carbohydrate fluxes within the elongation zone of tall fescue leaf blades. *Plant Physiology* **85**: 548–553.
- Schnyder H, Nelson CJ, Coutts H. 1987.** Assessment of spatial distribution of growth in the elongation zone of grass leaf blades. *Plant Physiology* **85**: 290–293.
- Schnyder H, Nelson CJ. 1988.** Diurnal growth of tall fescue leaf blades. I. Spatial distribution of growth, deposition of water, and assimilate import in the elongation zone. *Plant Physiology* **86**: 1070–1076.
- Silk WK, Wagner KK. 1980.** Growth-sustaining water potential distributions in the primary corn root. *Plant Physiology* **66**: 859–863.
- Spollen WJ, Nelson CJ. 1994.** Response of fructan to water deficit in growing leaves of tall fescue. *Plant Physiology* **106**: 329–336.
- Thomas A. 1990.** *Low temperature growth in forage grasses and cereals*. PhD thesis, University of Wales, UK.
- Tomos D, Pritchard J. 1994.** Biophysical and biochemical control of cell expansion in roots and leaves. *Journal of Experimental Botany* **45**: 1721–1731.
- Triboulot MB, Pritchard J, Levy G. 1997.** Effects of potassium deficiency on cell water relations and elongation of tap and lateral roots of maritime pine seedlings. *New Phytologist* **135**: 183–190.
- Triboulot MB, Pritchard J, Tomos D. 1995.** Stimulation and inhibition of pine root growth by osmotic stress. *New Phytologist* **130**: 169–175.
- Volenc JJ, Nelson CJ. 1981.** Cell dynamics in leaf meristems of contrasting tall fescue genotypes. *Crop Science* **21**: 381–385.
- Westgate ME, Boyer JS. 1984.** Transpiration- and growth-induced water potentials in maize. *Plant Physiology* **74**: 882–889.

## *Conclusion de la Publication 1*

Cette première partie de notre étude a mis en évidence, dans les conditions de faible transpiration, une différence de pression de turgescence de 0.3 MPa entre les cellules en croissance et les cellules matures. Le potentiel osmotique le long de la feuille étant peu variable, cette différence de pression de turgescence se traduit en une différence de potentiel hydrique de même ordre. Cette différence de potentiel hydrique, induite par la croissance, indique que la conductivité hydraulique (radiale) des tissus en croissance est faible et pourrait limiter la croissance.

Le fait que la pression de turgescence soit peu variable le long de la zone de croissance, en comparaison des vitesses relatives d'allongement, indique que les propriétés bio-rhéologiques doivent évoluer conjointement aux vitesses relatives locales d'allongement.

Malgré tous les essais de forme de capillaire et d'angle de pénétration du capillaire dans les cellules sondées que nous avons effectués, il est difficile de mesurer la pression de turgescence d'une cellule en croissance pendant plusieurs heures. De plus le taux de réussite de la mesure, sur ce matériel végétal, est très faible. Il n'est donc pas envisageable, en l'état actuel - tout du moins chez la fétuque élevée - de suivre l'évolution du champ de pression de turgescence le long de la feuille lors de variations du régime de transpiration, où dans différentes conditions de transpiration sur une même plante. Mais, l'étude détaillée de l'architecture hydraulique, permettant d'intégrer la structure hétérogène de la feuille en croissance, peut apporter des éléments de réponse sur les relations hydriques de la feuille en croissance.

Dans les conditions de cette expérience, où la transpiration était très faible, le flux d'eau lié à la croissance a généré une chute de potentiel hydrique très faible entre la surface des racines et la partie mature de la feuille en croissance ( $< 0.01$  MPa). La conductivité hydraulique du xylème est donc suffisante pour maintenir, en l'absence de transpiration, un potentiel hydrique de la source en eau de la croissance élevée (proche de zéro). Mais, le flux d'eau lié à la croissance ne représente que quelques pour-cent du flux d'eau lié à la transpiration. Il est donc possible que dans des conditions de fortes demandes évaporatoires le potentiel hydrique de la source en eau de la croissance chute de manière non négligeable et limite la disponibilité en eau pour la croissance.

Dans la zone de croissance, les vaisseaux de protoxylème doivent assurer leur fonction de conduction en même temps qu'ils sont étirés du fait de l'allongement des cellules du mésophylle. Un certain nombre d'études histologiques ont montré que la maturation de nouveaux éléments le long de la zone de croissance n'est pas suffisante pour assurer une continuité hydraulique le long de la zone de croissance (voir page 30-31). Or cette continuité du xylème dans la zone de croissance est très importante car elle doit permettre aux cellules en expansion de prélever l'eau nécessaire à la croissance sur le flux de transpiration à un potentiel relativement élevé. Nous avons donc étudié la maturation du xylème de la feuille croissance. Ceci constitue la première partie de la publication 2.

Au cours de l'ontogenèse de la feuille, la situation de la zone de croissance évolue. Elle passe progressivement de la position de puits net (avant qu'elle n'émerge des gaines des feuilles précédentes), à une position de zone de transit sur le trajet du flux de transpiration de la partie apicale de la feuille. Dans ces conditions, nous nous sommes particulièrement attachés à quantifier la résistance axiale qu'oppose la zone de croissance au flux de transpiration de la feuille en croissance dont une partie est exposée au rayonnement. Ceci constitue la deuxième partie de la publication 2.

## *PUBLICATION 2*

---

**Martre P, Durand JL, Cochard H. 2000**  
Changes in axial hydraulic conductivity along elongating  
leaf blades in relation to xylem maturation in tall fescue.  
New Phytologist, **146(2)**: 235-247

# Changes in axial hydraulic conductivity along elongating leaf blades in relation to xylem maturation in tall fescue

PIERRE MARTRE<sup>1</sup>, JEAN-LOUIS DURAND<sup>1\*</sup>  
AND HERVE COCHARD<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Unité d'Ecophysiologie des Plantes Fourragères, Institut National de la Recherche Agronomique, F-86 600 Lusignan, France*

<sup>2</sup> *Unité de Physiologie Intégrée des Arbres Fruitières, Institut National de la Recherche Agronomique, F-63 039 Clermont-Ferrand, France*

Received 26 July 1999; accepted 5 January 2000

## SUMMARY

Xylem maturation in elongating leaf blades of tall fescue (*Festuca arundinacea*) was studied using staining and microcasting. Three distinctive regions were identified in the blade: (1) a basal region, in which elongation was occurring and protoxylem (PX) vessels were functioning throughout; (2) a maturation region, in which elongation had stopped and narrow (NMX) and large (LMX) metaxylem vessels were beginning to function; (3) a distal, mature region in which most of the longitudinal water movements occurred in the LMX. The axial hydraulic conductivity ( $K_h$ ) was measured in leaf sections from all these regions and compared with the theoretical axial hydraulic conductivity ( $K_t$ ) computed from the diameter of individual inner vessels.  $K_t$  was proportional to  $K_h$  throughout the leaf, but  $K_t$  was about three times  $K_h$ . The changes in  $K_h$  and  $K_t$  along the leaf reflected the different stages of xylem maturation. In the basal 60 mm region,  $K_h$  was about  $0.30 \pm 0.07$  mmol s<sup>-1</sup> mm MPa<sup>-1</sup>. Beyond that region,  $K_h$  rapidly increased with metaxylem element maturation to a maximum value of  $5.0 \pm 0.3$  mmol s<sup>-1</sup> mm MPa<sup>-1</sup>, 105 mm from the leaf base. It then decreased to  $3.5 \pm 0.2$  mmol s<sup>-1</sup> mm MPa<sup>-1</sup> near the leaf tip. The basal expanding region was observed to restrict longitudinal water movement. There was a close relationship between the water deposition rate in the elongation zone and the sum of the perimeters of PX vessels. The implications of this longitudinal vasculature on the partitioning of water between growth and transpiration is discussed.

Key words: elongating leaf (elongation zone), hydraulic conductivity (xylem conductivity, radial conductivity), protoxylem-metaxylem transition, tall fescue (*Festuca arundinacea*), water transport, xylem maturation, xylem microcasting.

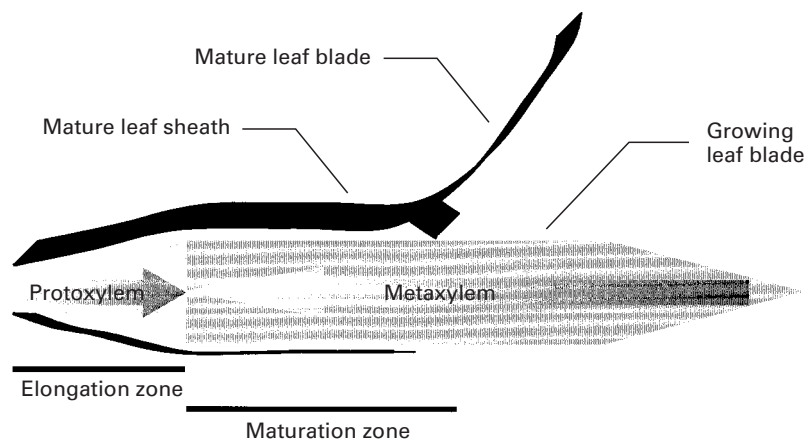
## INTRODUCTION

In grasses, growth occurs at the base of the expanding leaves. Areas of undifferentiated and maturing cells (growth zone) are therefore found

Abbreviations:  $d_{\text{water}}$ , local net water deposition rate (mmol s<sup>-1</sup> mm<sup>-1</sup>);  $K_h$ , measured axial hydraulic conductivity of the xylem (mmol s<sup>-1</sup> mm MPa<sup>-1</sup>);  $k$ , theoretical axial hydraulic conductivity of an individual vessel (mmol s<sup>-1</sup> mm MPa<sup>-1</sup>);  $K_p$ , theoretical axial hydraulic conductivity of all functioning vessels in parallel (mmol s<sup>-1</sup> mm MPa<sup>-1</sup>);  $K_t^*$ , theoretical axial hydraulic conductivity of all functioning vessels (in parallel), corrected on the basis of the  $K_h:K_t$  ratio (mmol s<sup>-1</sup> mm MPa<sup>-1</sup>);  $Lp_{\text{px}}$ , radial hydraulic conductance of vessel cell wall for water flow from the protoxylem in the elongation zone to the surrounding expanding mesophyll (mmol s<sup>-1</sup> mm<sup>-2</sup> MPa<sup>-1</sup>); LMX, large metaxylem; MX, metaxylem; NMX, narrow metaxylem; REGR, relative elemental growth rate (h<sup>-1</sup>); PX, protoxylem.

\*Author for correspondence (fax +33 5 49556068; e-mail: jldurand@lusignan.inra.fr).

between fully functional tissues, located below in the stem and above in the mature part of the leaf. This structure raises many questions about the efficiency of water transfer within growing leaves. Indeed, water flow in an elongating leaf is important for two reasons. First, a small amount of water must flow from the roots to the growth zone itself to sustain tissue expansion. The spatial arrangement and surface area as well as the properties of the cell wall of the protoxylem (PX) hence play a role in the growth-related radial water flow. Second, once the growing leaf emerges from the whorl of the older leaf, a more substantial amount of water needs to flow through the growth zone to compensate for water losses by transpiration. That situation lasts for half the duration of leaf elongation (Durand *et al.*, 1999). There is evidence from the literature that the



**Fig. 1.** Diagrammatic representation of the dynamics of xylem maturation within a growing grass leaf. Protoxylem (PX) matures acropetally in the basal elongating region of the leaf blade. Metaxylem (MX) matures basipetally in the maturation zone of the blade.

leaf elongation rate might decline within seconds in response to atmospheric or edaphic water deficits (Frensch, 1997). Cells in the growth zone have significantly lower water potential values than expanded cells of the maturation zone (Matsuda & Riazi, 1981; Michelena & Boyer, 1982; Barlow, 1986; Fricke & Flowers, 1998; Martre *et al.*, 1999). A water potential difference between the water source (xylem) and sink (expanding mesophyll cells) is a prerequisite for growth. A reduction in water availability or an increase in transpiration might then induce an immediate reduction in the water potential difference and impair cell growth (Westgate & Boyer, 1984). In order to understand the causal relationships between leaf growth and leaf water supply, it is necessary to understand the mechanism and structure of the water-transfer efficiency within a growing leaf.

The vascular arrangement of the elongating grass leaf was documented some time ago (Esau, 1965). First to differentiate are PX vessels; they are usually mature (i.e. able to conduct sap) before the leaf undergoes intensive elongation. New PX vessels continue to differentiate and mature in the growth zone (Fig. 1). Metaxylem vessels which appear after the PX differentiate in the growth zone, but in contrast with the PX, mature only beyond the elongation zone (i.e. once they have stopped elongating). Although the anatomy of the elongating grass leaf is known, the real function of its different xylem vessels and water-transport capacity remains unclear. Within the growth zone, xylem vessels have to be sufficiently longitudinally extensible to increase in length, but also sufficiently radially rigid to hold water columns under tension. Because PX elements mature within the growth zone, they can be stretched so much that their modified primary walls can be disrupted, which might eventually impair their function, and the PX could be replaced by a lacuna. Are the protoxylem lacunae immediately replaced by new xylem vessels or is the growth zone devoid of

intact conducting elements for a given period? Recently, Evert *et al.*, (1996) and Trivett & Evert (1998) in studies of maize and barley leaves, respectively, supported the conclusion of Sharman (1942): 'the protoxylem collapses completely during the last extension of the surrounding tissues and before the basipetally differentiating metaxylem elements reach maturity in that region. Hence, until mature xylem elements are present there, the distal portion of the leaf would have no direct connection with the stem by means of differentiated tracheary elements'. However, Rayan & Matsuda (1988) have shown that in young barley leaves functional vessels extend from the intercalary meristem to the mature part of the elongating blade and that water moves through the growth zone in vessels and not intercellularly. Similarly, in the first leaf of the wheat seedling, Paolillo (1995) has shown that the dynamics of vessel maturation and vessel collapse allow the xylem as a whole to remain functional across the growth zone. The fully elongated metaxylem (MX) vessels develop basipetally above the elongation zone and spatially overlap the PX elements, which should ensure vascular continuity throughout the leaf.

However, no measurement of axial hydraulic conductivity of the xylem ( $K_n$ ) has ever been made in these regions of the leaf. The objective of our study was to assess the changes in xylem functionality along the elongating leaf of tall fescue (*Festuca arundinacea*). The hypothesis of xylem continuity throughout the immature part of the blade was tested. Unlike previous studies, our analysis was both qualitative and quantitative. The patterns of xylem maturation and the spatial overlap of PX vessels with MX vessels were described. To determine whether a vessel was cytoplasm-free and actually conducted water, both staining and micro-casting were performed. Xylem vessel diameter was measured at different levels of the growing leaf in order to compute a theoretical axial hydraulic conductivity ( $K_t^*$ ) along the growing lamina.

Finally, the axial hydraulic conductivity ( $K_h$ ) was measured in leaf sections to validate the computation of  $K_t^*$  and to determine whether the elongation zone restricts hydraulic conductivity, producing a bottleneck in longitudinal water transport.

#### MATERIAL AND METHODS

##### Plant material and growth conditions

All experiments were carried out using the same clone of tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb. cv. Clarine). A single parent plant was vegetatively propagated in a controlled-environment cabinet. Tillers were separated, roots removed, shoots cut into 70-mm-long stubbles, and the tiller bases were placed in sand for 21 d. Rooted tillers were then transferred to hydroponic culture on the solution described by Maurice *et al.* (1997). Tillers were harvested from days 14–21 after the plants were transferred to hydroponic solution when the third uncut leaf ( $L_3$ ) was  $200 \pm 10$  mm long (i.e. approx. 50% of final length). At this stage, the ligule of  $L_3$  was  $< 1$  mm from the leaf base.  $L_3$  was the last leaf to emerge from the enclosing older leaf sheath. The leaves which were one and two plastochrons older are referred to as  $L_2$  and  $L_1$  respectively. To further homogenize the leaf population, only tillers whose  $L_1$  sheath lengths were similar ( $100 \pm 5$  mm) were selected.

Conditions in the controlled-environment cabinet were the same throughout the experiment. The PPFD was  $530 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (provided by an HQI-400 W/D lamp, Osram, München, Germany) during the 14 h of photoperiod. Relative humidity was controlled at  $85 \pm 2\%$  throughout the 24-h period, and air temperature was set at 18/24°C (light/dark) in order to ensure a constant temperature ( $24 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ) in the leaf elongation zone (Durand *et al.*, 1999).

##### Relative elemental growth rate

The relative elemental growth rate (REGR) was determined by the pricking method described by Schnyder *et al.* (1987): holes were pricked every 5 mm through the 60-mm-long basal part of the tiller with a fine entomologist's needle (0.2 mm diameter). Pricking was performed at 4 h and sampling at 10 h into the 10-h dark period. The elongation of  $L_3$  between pricking and sampling was 8–15% of the length of the elongation zone. REGR at any distance  $x$  from the leaf base ( $r(x)$ ,  $\text{h}^{-1}$ ) was calculated as:

$$r(x) = \frac{\delta(x)}{I(x)\Sigma\delta(x)} v_{\max} \quad \text{Eqn 1}$$

( $x$  is the distance from the line of attachment of the leaf to the node,  $\delta(x)$  is the elongation of a segment

delimited by two neighbouring pinholes and whose midpoint is initially at  $x$ ,  $l(x)$  is the initial length (mm) of the section at initial position  $x$ , and  $v_{\max}$  is the leaf elongation rate.) To calculate  $v_{\max}$ , the distance between the tip of  $L_3$  and the ligule of  $L_1$  was measured at the pricking and sampling times on matched unpricked leaves (Schnyder *et al.*, 1987).

##### Net water deposition rate

At the end of the dark period, nine tillers were sampled.  $L_3$  was removed from each of the surrounding sheaths in a humid saturated box, and starting from the leaf base (i.e. at the point of insertion on the stem), 10 5-mm-long sections were sampled. After fresh weight was determined, the sections were dried at  $70^\circ\text{C}$  for 48 h and dry weight was measured. The water content ( $r$ ,  $\text{mmol mm}^{-1}$ ) of samples was calculated as the difference between fresh and dry weight per unit of tissue length.

The local net rate of water deposition ( $d_{\text{water}}$ ,  $\text{mmol of water per s and per mm of tissue}$ ) along the elongation zone was calculated using the one-dimensional version of the continuity equation described by Silk (1984):

$$d_{\text{water}}(x) = \frac{\delta\rho(x)}{\delta t} + v(x) \times \frac{\delta\rho(x)}{\delta x} + \rho(x) \times r(x) \quad \text{Eqn 2}$$

( $t$  is the time (s) and  $v(x)$  is the displacement velocity at position  $x$  ( $\text{mm s}^{-1}$ )). Schnyder & Nelson (1988) have shown that during the night period the spatial distribution of water content within the elongation zone was relatively steady. Therefore, the local rate of change  $\delta\rho(x)/\delta t$  was neglected.

The gradient of water content  $\delta\rho(x)/\delta x$  was calculated as described by Schnyder & Nelson (1987):

$$\frac{\delta\rho(x)}{\delta x} = 0.5 \times \left[ \left( \frac{\rho_i - \rho_{i-1}}{x_i - x_{i-1}} \right) + \left( \frac{\rho_{i+1} - \rho_i}{x_{i+1} - x_i} \right) \right] \quad \text{Eqn 3}$$

( $\rho_i$  is the water content in section  $i$ , and  $x_i$  is the position of the midpoint of section  $i$ .) For the first section from the base,  $\delta\rho(x)/\delta x$  was calculated as  $(\rho_{i+1} - \rho_i) \times (x_{i+1} - x_i)^{-1}$ .

##### Staining

To assess which vessels carried water through the elongating leaf, the leaf was perfused with a dye, an acid solution of alcian blue, used because it flowed rapidly into vessels and diffused slowly out of their lumina, allowing testing of the function of individual vessels in a bundle. Ten tillers were cut under water at the root–shoot junction and tightly fitted into a tube filled with a 0.1% (w/v) alcian blue solution in 10 mM citric acid, filtered to  $0.45 \mu\text{m}$ . The dye solution was injected under a 20 kPa hydrostatic pressure gradient for 2 h. This duration was



determined after many preliminary assays of 20 min–24 h under varying pressure (5–20 kPa) and was chosen because it coloured all functional vessels without lateral diffusion of the dye. In order to show whether some metaxylem vessels which mature basipetally were functional although they did not carry water in the normal direction of water flow, staining was also performed from the distal part of the blade. Freehand cross sections were then taken every 10 mm from the base to the tip of the leaf and observed under an Olympus BH2 microscope (Olympus, Lake Success, NY, USA) at a magnification of 400x. The numbers of unstained and stained vessels were counted. In each cross section, all the vessels (PX, NMX and LMX) were considered.

#### *Xylem microcasting*

Xylem microcasting was performed according to the technique of André (1993): growing leaves (nine samples) were dehydrated by successive immersion in 50% acetone/ethanol solution (v/v) at 60°C for 2 h and absolute ethanol at 60°C for 10 min. Leaves were then cut with a fresh razor blade into 20-mm sections, and placed in a vacuum for a few minutes to evaporate any liquid in the vessels. They were then immersed in fluid silicon elastomer (RTV 141, Rhône-Poulenc, Saint Fons, France) under a vacuum of 7 kPa for 2 h. When atmospheric pressure was restored, the elastomer filled all the apoplastic space in the leaf. Leaf sections in the elastomer were maintained at –18°C for 12 h to avoid reticulation of the elastomer during the filling of the vessels. The elastomer was stopped by an intact pit membrane, but easily passed through the perforations.

The elastomer was reticulated at 40°C for 4 h. Cell walls and biological material were then destroyed by successive immersion in concentrated solutions of sulphuric acid (24 M), sodium bicarbonate (1.3 M) and sodium hypochlorite (2 M). The cast samples were carefully dissected under a binocular microscope to show the vascular arrangement, and cast vessels were separated from each other on a water film. Some vessel casts were removed and observed with a scanning electron microscope (model JSM-35CF, Jeol Corp., Tokyo, Japan) at 15 kV after standard gold coating.

#### *Hydraulic conductivity*

Under water, 20 growing  $L_3$  leaves were separated from the rest of the tiller and cut into 40-mm-long sections. They were wrapped longitudinally around a 20-mm-long aluminium bar of 4 or 1.5 mm diameter, depending on leaf width, covered with Teroson in order to prevent leaks at the furrows of the leaf. Leaf sections around the bar were covered

with Teflon tape and *c.* 5 mm was cut off each end with a fresh razor blade immediately before fitting both ends into an apparatus adapted from Sperry *et al.* (1988). The apparatus was configured to accommodate six samples. The axial hydraulic conductivity ( $K_h$ ,  $\text{mmol s}^{-1} \text{m MPa}^{-1}$ ) was defined as the fluid flux rate ( $\text{mmol s}^{-1}$ ) divided by the pressure gradient ( $\text{MPa mm}^{-1}$ ) along the section. The pressure gradient was induced by a hydrostatic pressure head of 6 kPa. Deionized, degassed 0.1% (v/v) concentrated HCl (37.7%) solution (*c.* pH 2) filtered to 0.2  $\mu\text{m}$  flowed through plastic tubing connecting the end of the section to a reservoir positioned on an analytic balance (model R180D,  $10^{-5}$  g resolution) (Sartorius Corp., Bohemia, NY, USA) enabling measurement of water flow. Weight was monitored every 30 s by a microcomputer through a serial communication interface. After measurement of  $K_h$ , length, thickness and width of the leaf sections were measured with a calliper rule (10  $\mu\text{m}$  resolution). Using an alcian blue solution, we checked that water flowed only in the vessels and not in the intercellular spaces during these measurements.

In sections taken >30 mm from the leaf base, one freehand cross section was cut from the middle of the sections immediately after measurement of  $K_h$ . The more basal sections were impossible to remove from the bar without damage. Autofluorescent xylem vessels were measured, since blue fluorescence of the cell wall is indicative of wall lignification (linkage of ferulic acid and lignin (Fukazawa & Imagawa, 1981)).

The sections were viewed with a fluorescence microscope (model BH2-RFC, Olympus) fitted with a 20UG1 exciter filter (excitation wavelength of 334–365 nm), a DM 400 dichromatic mirror and a 17L420 barrier filter (barrier wavelength minimum = 420 nm) and a magnification of 400x. The inner diameter of individual xylem vessels was measured with a tube-mounted light chamber and a digitizing board (Model 23120, CalComp, Anaheim, CA, USA) with a resolution of 0.1  $\mu\text{m}$ . The vessels were considered elliptical in cross section, and the length of the two axes was measured.

The theoretical axial hydraulic conductivity of individual xylem vessels ( $k_i$ ) was calculated according to the Poiseuille equation for elliptical vessels (Lewis & Boose, 1995):

$$k_i = \frac{\pi}{64\eta} \frac{a^3 b^3}{a^2 + b^2} \quad \text{Eqn 4}$$

( $\eta$  is the viscosity of water ( $\text{MPa s}^{-1}$ ), and  $a$  and  $b$  are the short and the long axes ( $\mu\text{m}$ ) respectively.)

Thirty-millimetre-long sections were used to measure  $K_h$ . Since the transition zone between the PX and LMX extended over only a few centimetres, the spatial pattern of longitudinal vasculature was described more accurately by measuring the number and diameter of xylem vessels in cross section taken

from a second batch of eight tillers. Tillers were excised at the root–shoot junction, the first cut leaves were removed, then cut again into 50-mm sections and fixed for 30 min under a vacuum in 2% paraformaldehyde (v/v), 1% glutaraldehyde (v/v) and 1% caffeine (w/v) solution in a 0.2 M phosphate buffer at pH 7.2. Following fixation, freehand cross sections of  $L_3$  were cut with a razor blade every 5 mm for the part of the leaf still enclosed in the sheath of  $L_1$ , and every 10 mm for the emerged part. Sections were mounted in 20% glycerol between a slide and a cover slide. The number of bundles and the number of PX and LMX fluorescent vessels in each bundle were counted and the lengths of the two axes of individual vessel lumina were measured under a fluorescence microscope as described above. The diameter of individual vessel lumina was calculated as the diameter of a circle of equivalent perimeter

$$D = \frac{\sqrt{a^2 + b^2}}{2} \quad \text{Eqn 5}$$

( $k_t$  for each vessel was computed using Eqn 4.)

## RESULTS

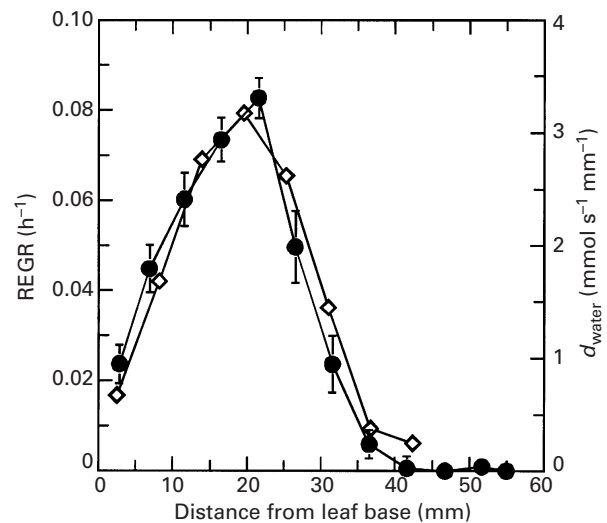
### Growth

At the developmental stage at which the tillers were sampled, two elongating leaves ( $L_2$  and  $L_3$ ) were visible. The youngest expanding leaf ( $L_4$ ) was totally enclosed and was about 20 mm long. In this work, only  $L_3$  is considered. At this stage, daily increase in  $L_3$  length was almost constant for 4 d (data not shown), averaging  $1.3 \pm 0.05 \text{ mm h}^{-1}$  ( $n = 31$ ). The length of the elongation zone was  $38 \pm 2 \text{ mm}$  (Fig. 2).

The REGR was at a maximum ( $0.83 \pm 0.04 \text{ h}^{-1}$ ) 21 mm from the leaf base (i.e. in the middle of the elongation zone) (Fig. 2). These results were in agreement with data from Durand *et al.* (1995), Maurice *et al.* (1997) and Martre *et al.* (1999) on tall fescue. The spatial distribution of  $d_{\text{water}}$  closely followed that of the REGR, reaching a maximum 21 mm from the base. It almost reached zero at the end of the elongation zone (i.e. 38 mm from the leaf base), indicating that volume growth was almost restricted to the elongation zone.

### Xylem organization

Three classes of longitudinal bundles were defined following the Ellis classification (1976): large (containing PX, LMX and NMX vessels), intermediate (containing LMX and NMX vessels) and small (containing only NMX vessels). At any level of  $L_3$ , all large bundles had at least one fluorescent vessel. The number of large bundles decreased along the leaf from  $9.8 \pm 0.1$  5 mm from the base to  $2.5 \pm 0.2$  20 mm from the tip (Fig. 3a). The first small bundle

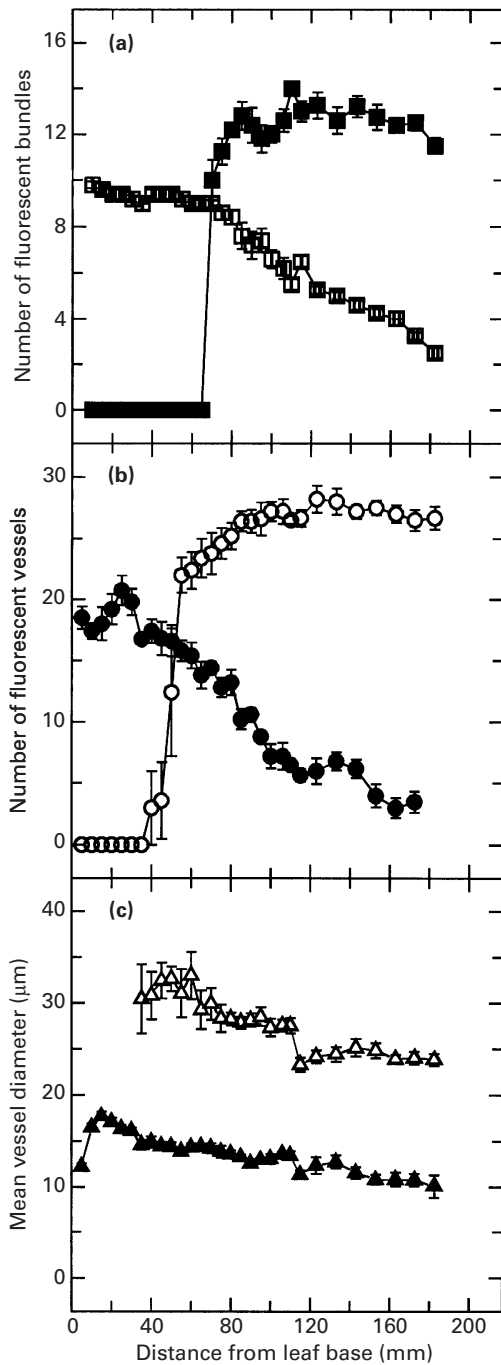


**Fig. 2.** Spatial distribution of the relative elemental growth rate (REGR, circles) and of the local net water deposition rate during the dark period ( $d_{\text{water}}$ , diamonds) in the elongation zone of tall fescue leaf blades, during the dark period. Data are means  $\pm$  SE (represented by vertical bars, except when smaller than the symbol),  $n = 9$ .

containing at least one lignified (fluorescent) xylem vessel appeared at 65 mm from the base, indicating a basipetal differentiation. Beyond 65 mm, the number of small bundles increased to  $12.8 \pm 0.6$  in 20 mm, and remained almost constant beyond 85 mm. The pattern of bundles was regular, large bundles alternating with small ones. At that developmental stage, there was no intermediate bundle in  $L_3$ .

The number of PX vessels was at a maximum ( $20.7 \pm 1.2$ ) approximately 20 mm from the leaf base (i.e. at the middle of the elongation zone) (Fig. 3b). Beyond that, it decreased down to the tip of the leaf ( $2.3 \pm 0.9$ ). In the elongation zone, there was no fluorescent metaxylem vessel. The first fluorescent LMX vessel was found 35 mm from the base, but it was not mature at that position, as the thickness of its cell wall increased at least up to 45 mm (data not shown). Beyond 35 mm, the number of fluorescent LMX vessels increased rapidly, and beyond 80 mm from the base the number of LMX vessels was almost constant and close to  $27 \pm 0.6$ . Fluorescent NMX were found at  $85 \pm 10$  mm from the base in small bundles and at  $60 \pm 10$  mm from the base in large bundles (data not shown).

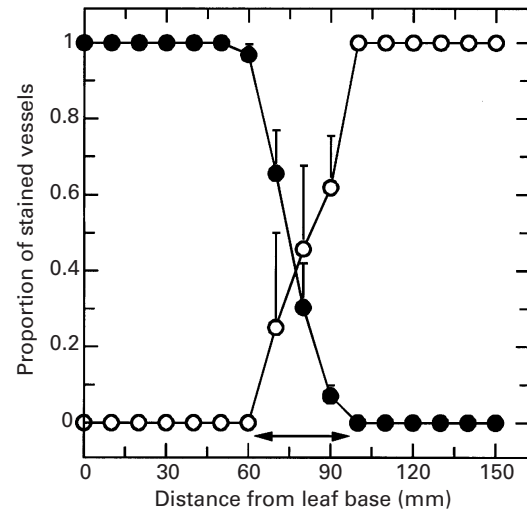
The mean diameter of PX vessels was at a maximum ( $16.5 \pm 0.5 \mu\text{m}$ ) 20 mm from the leaf base (i.e. at the middle of the elongation zone) (Fig. 3c). Beyond that, it decreased to  $10.1 \pm 0.2 \mu\text{m}$  near the leaf tip. This indicated that at this developmental stage of  $L_3$ , the PX diameter was probably still increasing. The mean diameter of LMX vessels was close to  $31 \mu\text{m}$  40–70 mm from the leaf base, then decreased to  $23.8 \pm 0.6 \mu\text{m}$  near the leaf tip. The mean diameter of NMX vessels remained unchanged along the leaf and was equal to  $5 \pm 0.2 \mu\text{m}$  (data not



**Fig. 3.** Number of small (filled squares) and large (open squares) bundles containing at least one autofluorescent vessel (a), number of PX (filled circles) and LMX (large metaxylem, open circles) autofluorescent vessels (b), mean diameter of PX (filled triangles) and LMX (open triangles) auto-fluorescent vessels (c), in relation to their positions along elongating leaf blades of tall fescue. Data are means  $\pm$  SE,  $n = 8$ .

shown). Because of their small diameter, NMX vessels contributed only  $3 \pm 1\%$  ( $n = 13$ ) of the conductivity in the leaf section and were not systematically measured.

To determine which vessels were functional along the elongating leaf blade, a solution of alcian blue was flushed from the leaf base to the tip. The

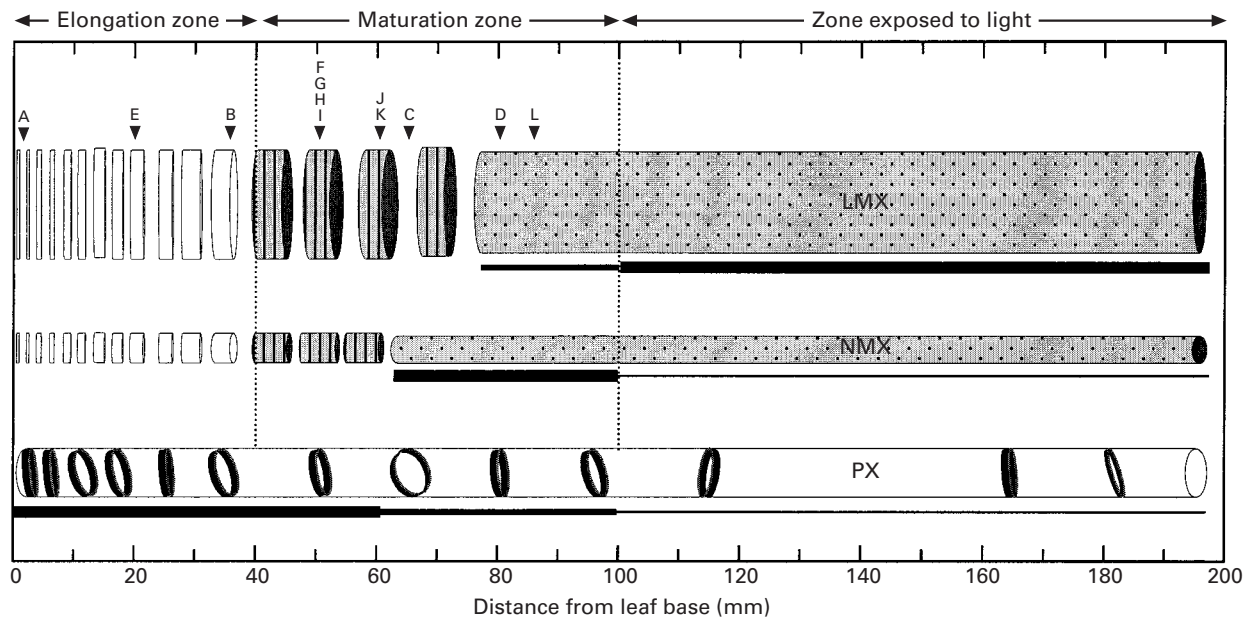


**Fig. 4.** Proportion of stained PX (filled circles) and LMX vessels (open circles) in relation to their position along elongating leaf blades of tall fescue. Vessels were coloured from the basal or the distal end of the leaves by a solution of alcian blue. Dye flow was induced by a hydrostatic pressure gradient of 20 kPa for 2 h. Data are means  $\pm$  SE,  $n = 10$ . The horizontal arrow indicates the region where narrow metaxylem (NMX) vessels were stained. It also corresponds to the transition zone of the water flux from PX to LMX vessels.

proportion of PX and LMX stained vessels in the large bundles changed according to their position along the leaf blade (Fig. 4). From the base–60 mm, all PX vessels in all large bundles were stained. This proportion rapidly decreased to zero at approximately 100 mm from the base. From the base–60 mm, no LMX vessel was stained. Almost symmetrically, the proportion of stained LMX vessels rapidly increased up to one at approximately 100 mm from the base, indicating that the alcian blue solution had passed from PX to LMX vessels within a zone of approximately 40 mm, starting at 60 mm from the leaf base. This showed that either PX vessels were disrupted beyond 60 mm, or that they were so narrow that the water flux in the PX was very low compared with that in the LMX. Although the proportion of stained NMX vessels could not be measured with the same accuracy as that of LMX and PX, stained NMX could only be viewed in the region 60–110 mm from the base, reaching a maximum at *c.* 90 mm from the leaf base.

When the dye was perfused basipetally from the cut tip of the leaf in large bundles, the same results were obtained as in the acropetal direction. In small bundles, as NMX vessels matured basipetally all NMX were coloured from the tip to 120 mm from the base, but beyond that, the number of coloured NMX decreased rapidly, and 70 mm from the base none could be observed (data not shown) (Fig. 5).

In order to determine more accurately the location and spatial arrangement of the transition zone between PX and LMX vessels, 20-mm-long sections



**Fig. 5.** Diagram of xylem maturation in large bundles of elongating tall fescue leaves. (a–l) Locations of Fig. 6 micrographs. White discontinuous area in NMX and LMX, unglified expanding vessel elements. Hatched discontinuous area of NMX and LMX in maturation zone, expanded vessel elements, where secondary wall formation is under way. Lines under each vessel, function of each vessel type in terms of water conductance; thickness of lines indicates relative contribution (nonscaled) to water flux. Vessels are proportionally scaled in length and width. Small bundles present the same profile of xylem maturation, but consist solely of NMX vessels.

of  $L_3$  vessels were cast (Fig. 6a–n; see Fig. 5 for spatial localization of micrographs). Intact cast PX vessels were found in all leaf sections, indicating that the PX was continuous throughout the leaf. PX underwent extensive stretching (approx. 10-fold) without rupturing when passing through the elongation zone (Fig. 6a–b). When the primary modified cell wall of PX vessels had been so severely stretched that it tore, the elastomer invaded the intercellular space between vessel elements (e.g. vessel 1 in Fig. 6i). Consistent with previous results (Figs 3, 4), the first cast metaxylem elements appeared 60–70 mm from the leaf base (Fig. 6c). Their diameter was small (NMX), and less than that of PX vessels. In cross section, they corresponded to the vessels located between the PX and LMX vessels (Fig. 6o). The first NMX vessels were adjacent to PX vessels, their dense pitted walls and the primary cell walls of PX vessels faced each other (Fig. 6j–k). NMX vessels exhibited a continuous basipetal differentiation. Their number rapidly increased, and at 80–100 mm the first LMX appeared (Fig. 6d). The diameter of LMX vessel elements was *c.* five times greater than that of NMX elements (Fig. 6l). The perforation plates were visible in the transparent elastomer under light microscopy. Both LMX and NMX vessel elements had simple perforation plates, surrounded by a punctuation field (Fig. 6m).

In some bundles, the last mature protoxylem vessels exhibited a different ornamentation in and above the elongation zone. In one case (Fig. 6f–h) this ornamentation changed within a range of a few

$\mu\text{m}$  from annular to reticulate, but in other cases we observed a 10–400- $\mu\text{m}$ -long intermediate scalariform or reticulate pattern.

#### Axial hydraulic conductivity

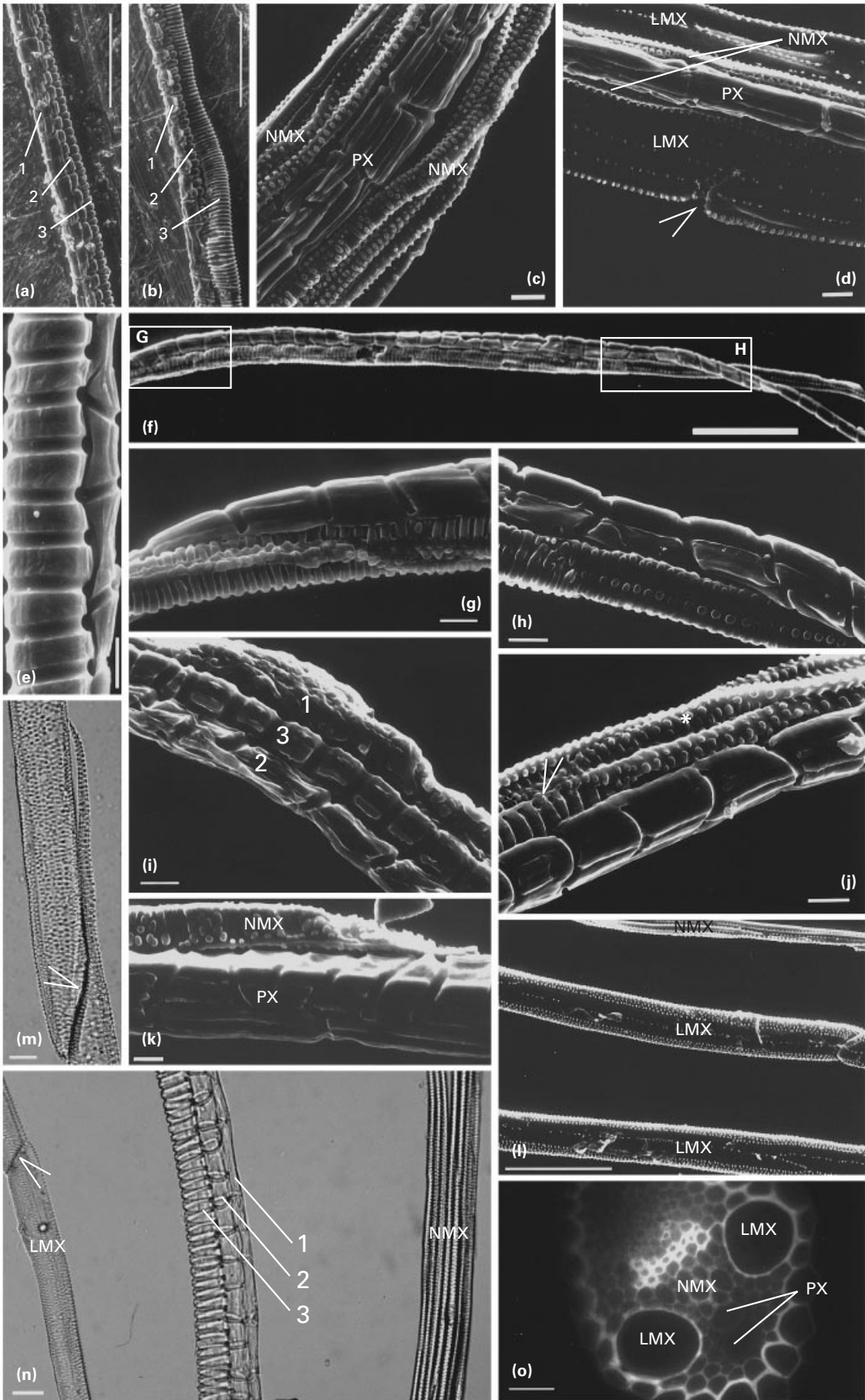
$K_h$  of  $L_3$ , measured in 30-mm leaf sections, increased from  $0.3 \pm 0.07 \text{ mmol s}^{-1} \text{ mm MPa}^{-1}$  19 mm from the leaf base to  $5.0 \pm 0.31 \text{ mmol s}^{-1} \text{ mm MPa}^{-1}$  105 mm from the base.  $K_h$  then decreased to  $3.5 \pm 0.21 \text{ mmol s}^{-1} \text{ mm MPa}^{-1}$  at the leaf tip (Fig. 7).

Measured conductivity values of sections > 60 mm from the leaf base were compared with  $K_t$ , which was computed from  $k_t$  calculations (eqn 4) and the proportions of functional PX and LMX:

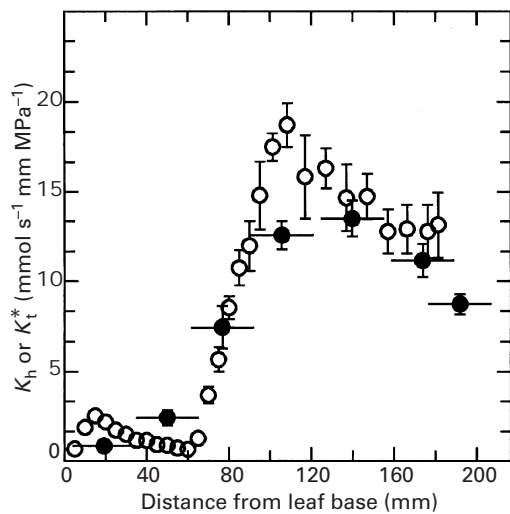
$$K_t(x) = \alpha_{\text{PX}}(x) \Sigma k_{\text{tPX}}(x) + \alpha_{\text{LMX}}(x) \Sigma k_{\text{tLMX}}(x) \quad \text{Eqn 6}$$

( $\alpha_{\text{PX}}(x)$  and  $\alpha_{\text{LMX}}(x)$  are the proportions of functional PX and LMX vessels, respectively, at position  $x$ , and  $\Sigma k_{\text{tPX}}(x)$  and  $\Sigma k_{\text{tLMX}}(x)$  are the sums of the conductivity of individual PX and LMX vessels, respectively, at position  $x$ .) Following the results of staining and microcasting,  $\alpha_{\text{PX}}$  was set to one, assuming that all PX vessels remained functional throughout the leaf, and that  $\alpha_{\text{LMX}}$  was equal to the observed proportion of coloured LMX (Fig. 4).  $K_h$  was linearly correlated with  $K_t$ , with  $r = 0.86$ ,  $P < 0.05$  (Fig. 8), but  $K_h$  was only  $36 \pm 4.5\%$  of  $K_t$  (Fig. 8).

For the other batch of 8 tillers, where xylem vessels were measured with higher spatial resolution (Fig. 4),  $K_t$  was corrected ( $K_t^*$ ) by an impediment

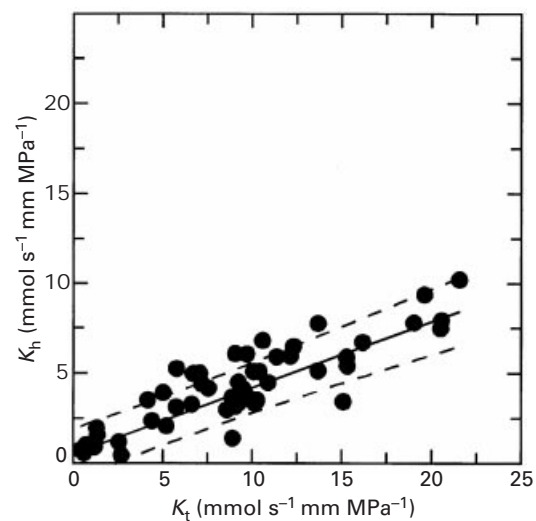


**Fig. 6.** For legend see opposite.



**Fig. 7.** Measured axial hydraulic conductivity of the xylem ( $K_h$ , filled circles) and corrected theoretical axial hydraulic conductivity ( $K_t^*$ , open circles) in relation to their position along elongating leaf blades of tall fescue.  $K_h$  was measured on 30-mm sections; horizontal bars represent the length of the section. See text for details of  $K_t^*$  computation. Data are means  $\pm$  SE (represented by vertical bars, except when smaller than the symbol),  $n = 12$ – $20$  ( $K_h$ ) and 8 ( $K_t^*$ ).

coefficient,  $C$ , defined as a correction factor by which  $K_t$  had to be multiplied in order to give the measured value of axial hydraulic conductivity ( $K_h$ ).  $C$  was determined to be equal to 0.36 (Fig. 8). We made the assumption that  $C$  was the same for proto- and metaxylem vessels.  $K_t^*$  varied within the same range as  $K_h$  (i.e. 1–7  $\text{mmol s}^{-1} \text{mm MPa}^{-1}$ ). The general pattern of variation of  $K_t^*$  (Fig. 7) was similar to that of  $K_h$ , with the same large difference between the basal and the apical region of the leaf. The largest

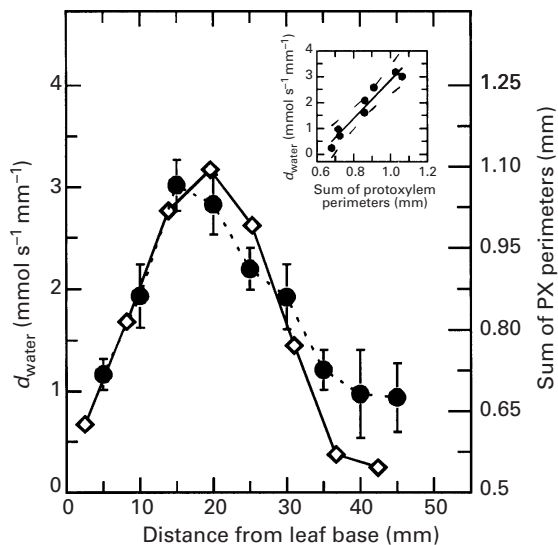


**Fig. 8.** The relationship between theoretical ( $K_t$ , predicted from Poiseuille equation for ideal capillaries) and measured ( $K_h$ ) axial hydraulic conductivity of 30-mm sections of tall fescue elongating leaf blades. Each point represents a single section taken from 30–170 mm from the base.  $K_t$  was computed from individual metaxylem diameter measurements, in cross sections taken from the middle of the section where  $K_h$  was previously measured. All fluorescent PX and LMX vessels in a cross section were measured. Straight line, linear regression ( $y = 0.36x + 0.04$ ,  $r = 0.86$ ,  $P < 0.05$ ); dashed lines, 95% confidence intervals.

discrepancy between  $K_h$  and  $K_t^*$  was *c.* 110 mm from the base, where the expected  $K_t^*$  exceeded  $K_h$  by about 30%.

In the elongation zone,  $K_t^*$  exhibited a local maximum roughly at the middle of the elongation zone. This pattern of  $K_t^*$  was due to the variation in

**Fig. 6.** (a–l) Scanning electron micrographs of vascular bundles cast in rapidly elongating leaf blades of tall fescue. (a) PX vessels isolated from a large bundle 2 mm from the base in the division zone and numbered in order of maturation. PX 1 was extremely stretched and discontinuous, whereas the PX 3 vessel wall had not yet been stretched. PX 2 was intermediate in the developmental stage (bar, 100  $\mu\text{m}$ ). (b) PX vessels isolated from the same bundle as in (a), 27 mm from the base. The rings of each vessel were more distant than in (a), but in contrast with (a), vessel 1 was not collapsed (bar, 100  $\mu\text{m}$ ). (c) Large bundle taken 65 mm from the base. The visible PX was partially torn, and bordered by several pitted NMX vessels (bar, 10  $\mu\text{m}$ ). (d) Large bundle taken at 80 mm from the base. PX and NMX vessels were flanked by two pitted LMX vessels (arrowhead, junction between the two LMX vessel elements) (bar, 10  $\mu\text{m}$ ). (e) Detail of two PX vessels taken 20 mm from the base (bar, 10  $\mu\text{m}$ ). (f) Two PX vessels taken from a large bundle 50 mm from the base; base of the leaf was on lefthand side of the micrograph. The vessel underneath had an annular ornamentation on the left and was pitted on the right (bar, 100  $\mu\text{m}$ ). (g) Enlargement of area G in white rectangle in (f): PX vessels with an annular wall thickening, where the vessel underneath was the last to mature (bar, 10  $\mu\text{m}$ ). (h) Enlargement of area H in white rectangle in (f): ornamentation of the PX vessel elements underneath changed in a few  $\mu\text{m}$  from an annular (left) to a pitted (right) pattern (bar, 10  $\mu\text{m}$ ). (i) Large bundle isolated 60 mm from the base. PX 2 and 3 were severely stretched and the primary wall was torn (bar, 10  $\mu\text{m}$ ). (j) Large bundle taken 60 mm from the base. Base of the leaf on lefthand side. The lower extremity of the second NMX of the bundle lay adjacent to the last mature PX vessel (arrowhead). Star, first NMX to mature (bar, 10  $\mu\text{m}$ ). (k) Large bundle taken 55 mm from the leaf base (right). The lower extremity of the first NMX adjacent to a PX (bar, 10  $\mu\text{m}$ ). (l) LMX and NMX vessels 85 mm from the base (bar, 100  $\mu\text{m}$ ). (m–n) Light microscopy micrographs of vascular casts. (m) Junction between two LMX vessels (arrow head: simple perforation plate) (bar, 10  $\mu\text{m}$ ). (n) Large bundle of mature leaf blades; arrowhead indicates simple perforation plate between two LMX vessel elements. All PX vessels were functional; vessels 1 and 2 had an annular wall thickening; vessel 3 had helical wall thickening (bar, 20  $\mu\text{m}$ ). (o) Hand-cut cross section of large bundle 100 mm from the leaf base, where both LMX and NMX elements were mature. PX secondary wall thickening was just under the plane of focus, and is not easily visible. Tissues that were lignified turned white because of autofluorescence under UV light (bar, 10  $\mu\text{m}$ ).



**Fig. 9.** The sum of PX perimeters (filled circles) in the elongation zone of tall fescue leaf blades computed from measurements of individual PX diameter in cross sections. All fluorescent PX vessels were measured. Data are means ( $\pm$  SE for the sum of PX perimeters),  $n = 8-9$ .  $d_{\text{water}}$  (open diamonds) was reported for comparison with the sum of PX perimeter. Insert, the relationship between the sum of PX perimeters and  $d$ ; straight line represents linear regression ( $y = 7.44x - 4.58$ ,  $r = 0.97$ ,  $P < 0.01$ ), dashed lines, 99% confidence intervals.

PX vessel number and diameter (Fig. 4), which was related to an ontological fact: older mature leaf sections have more and larger PX vessels than younger mature sections. The same pattern in the sum of the PX perimeters was observed (Fig. 9), which was closely correlated with  $d_{\text{water}}$ .

## DISCUSSION

### *Xylem maturation and function*

In elongating grass leaves, xylem hydraulic continuity from the base of the leaf to the emerged mature part was not yet clearly established. Our present results show that most of the PX vessels in each large bundle throughout the leaf remained intact. By contrast with other tissues of the leaf, vascular tissues have to differentiate and mature while they perform their function. Based on cytological observations, several published studies state that the dynamics of PX vessel replacement was not sufficient to sustain the conducting capacity of the PX until it overlapped mature metaxylem vessels (Sharman, 1942; Evert *et al.*, 1996; Trivett & Evert, 1998). In tall fescue leaf blades, the length of epidermal cells increases 10-fold as they cross the elongation zone (Durand *et al.*, 1995). In our study, PX elements underwent the same elongation (Fig. 5a–b). Despite elongation, staining showed that although PX elements appeared in cross sections to be collapsed, they still conducted the dye solution.

Thus, as reported by Evert *et al.* (1985) in free-space marker studies on the maize leaf, what appeared as PX lacunae in cross sections was functioning as water-conducting conduits. Most of the stretched protoxylem vessels were not torn, since the elastomer remained in the lumina of the vessels (Fig. 5), but the cast of their primary cell walls was corrugated, reflecting the ‘distortion’. We concluded that what was generally seen as a PX lacuna in cross sections was in most cases a section between two secondary wall thickenings linked by a thin, expanded (but not collapsed) primary wall. Such thin primary walls are often not seen because they are very easily dislodged by the usual methods of tissue preparation (St Aubin *et al.*, 1986). According to O’Brien (1981), the partial hydrolysis of the primary cell walls of PX facilitates the elongation of the dead PX elements by surrounding tissue. Furthermore, the bands of lignified thickening remain anchored to similar bands in neighbouring cells or to walls of lining vascular cells; this prevents the collapse of the elements undergoing stretching (O’Brien, 1981). Moreover, Ryser *et al.* (1997) have demonstrated a secretion of glycine-rich protein from the xylem parenchyma cells which is incorporated in the neighbouring primary cell wall of the PX elements. This might constitute a repair process which allows the primary wall to sustain such mechanical deformation, but as found by Dong *et al.* (1997) in older mature leaves of sugarcane, all the PX might be replaced by a lacuna which could conduct water.

As observed by MacAdam (1988) in tall fescue leaf blades, and Evert *et al.* (1996) in maize leaf blades, the distal part of the elongation zone closely corresponds to the level at which secondary wall formation is initiated in the basipetally differentiating LMX vessels. NMX vessels *c.* 20 mm below LMX vessels were mature and had an important function: to increase the exchange area between PX and LMX vessels, thereby increasing the radial hydraulic conductivity of the PX–LMX transition zone. According to the leaky pipe theory, connected elements of different diameter in a bundle constitute a functional unit (Canny, 1991). Elements of a diameter greater than a critical value ensure the axial flow, but those with a smaller diameter only allow for radial flow. Since the  $K_t$  of LMX vessels after maturation was *c.* 1000-fold ( $30^4/5^4$ ) that of NMX vessels, beyond 100 mm from the base, axial water transport was mostly carried out by LMX. Thus, the physiological significance of the detailed sequence of tracheary element formation appears to be great.

In some bundles, the late-differentiating PX vessels, which differentiate basipetally, presented an annular or helical ornamentation in the elongation zone and a pitted ornamentation beyond this (Fig. 6g, h). These vessels were apparently transitional between the protoxylem and metaxylem (Esau, 1953). Bierhorst & Zamora (1965) and Savidge

(1996) suggested that all primary tracheary elements are constructed initially as annular or helical elements and that reticulated or pitted elements are derived ontogenetically from such elements by the addition of more wall material between the gyres of thickening. According to this hypothesis, the annular pattern of PX elements differentiated in the elongation zone might result from a duration of differentiation shorter than that of elements differentiated beyond the elongation zone. As regards the function of such transition elements, Goodwin (1942) and Paolillo & Rubin (1991) suggested that the transition from a helical or annular to a pitted pattern contributed to deceleration of elongation rate at the end of the elongation zone. It was interesting to note that functional maturity in the metaxylem was reached when or immediately before it was exposed to light, a commonly held concept in relation to grass leaves (Dale, 1985).

#### *Axial hydraulic conductivity*

To our knowledge, data on  $K_h$  in elongating grass leaves has not been reported. Spatial distribution of  $K_h$  was consistent with the pattern of xylem maturation. At the leaf scale,  $K_h$  from the base to 60 mm from the base was almost constant, but rapidly increased 25-fold as the xylem elements matured. The decrease in  $K_h$  from 120 mm from the base to the leaf tip reflected the decrease in the number of large bundles and LMX vessel diameter. To emphasize the functional significance of these results, let us consider a typical value for the transpiration of a mature grass leaf,  $7 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (Zerbi *et al.*, 1991). Using the Poiseuille equation and our data on axial conductivity, the corresponding xylem pressure drop from the base of the leaf to the end of the elongation zone would be approx. 0.4 Mpa. This would result in a xylem water potential close to the water potential of the elongating cells (Martre *et al.*, 1999), which would reduce the water flux from the xylem lumen to the growing tissue. However, the rate of transpiration in the growing leaf of tall fescue would certainly be much less than that in the mature leaf, as the growing leaf is still partly rolled, and shaded by the older leaf.

The computation of  $K_t$  by individual inner vessel diameter was consistent, as  $K_t$  was proportional to  $K_h$ . However,  $K_t$  predicted by the Poiseuille equation was approx. three times  $K_h$  (Fig. 7). Thus, while considering vessels as capillaries of infinite length, we underestimated actual resistance. Considering the occurrence of short vessels (maximum length of 36 mm in a mature leaf of tall fescue, data not shown), it was expected that relevant information on water conductivity could not be derived solely from a cross-sectional view of vessels. In the case of short vessels, as in tall fescue, it is important to take into account the conductivity of the pit membrane and

the diameter of the perforation plate. In fern, for example, *c.* 70% of the axial hydraulic resistance was attributable to the pit membrane (Calkin *et al.*, 1986). Moreover, as vessel diameter was elevated to the fourth power, counting a nonfunctional one would have a dramatic effect on  $K_t$  computation. Similarly, a systematic error in LMX diameter would result in substantial overestimation of  $K_t$ . The Poiseuille equation has been widely used to predict conductivity in the xylem. Results, however, have been variable, with measured conductivity and flows ranging from 20–100% of theoretical values (Dimond, 1966; Calkin *et al.*, 1986; Hargrave *et al.*, 1994).

$K_t^*$  and  $K_h$  were consistent in the basal part of the leaf up to 80 mm from the base and in the distal part beyond 140 mm. LMX accounted for most of the conductivity 80–140 mm from the base, and probably still contained cytoplasmic and transverse cell wall residue. As shown by Sanderson *et al.* (1988) in barley roots, this residue might reduce conductivity to considerably less than expected on the basis of vessel diameter only. Moreover, in the region where PX overlapped LMX, water had to be transferred via NMX.

#### *Radial hydraulic conductivity and water deposition rate along the elongation zone*

The radial water flux associated with cell expansion in the elongation zone is equal to  $d_{\text{water}}$ . One interesting result of this study was the very close relationship between  $d_{\text{water}}$  and the sum of protoxylem cell wall perimeters (Fig. 9), which represents the exchange surface area (per unit of vessel length) between the protoxylem and the surrounding mesophyll cells (i.e. between source and sink for the growth-related water flux). Although this correlation could be coincidental, it is consistent with the hypothesis of Canny and coworkers regarding the leaky pipe model, that the radial water transfer rate per unit length of xylem was proportional to the circumference of the vessels (Altus *et al.*, 1985; Canny, 1991). However, Baum *et al.* (2000) found that the difference in  $d_{\text{water}}$  between control and salt-affected elongating sorghum leaves is best related to the cross-sectional area of PX vessels.

The relationship found here might imply a limitation of water influx to growing cell by the PX cell wall. Nonami *et al.* (1997) showed in growing soybean hypocotyl that the major resistance to water flow lies in the small cell surrounding the PX vessels. The same cell arrangement could be seen in grass leaf cross sections (Esau, 1965), and might account for the close relationship between water deposition rate and the surface area of the PX wall.

Using our data, an estimation of the radial conductivity was made. Assuming the reflection coefficient of the plasmalemma to be equal to one,



the apparent hydraulic conductance of the elongation zone to radial flux at position  $x$  ( $L_{p_{px}}(x)$ , per  $\text{mm}^2$  of protoxylem cell wall surface area) would be:

$$L_{pr}(x) = \frac{d_{\text{water}}(x)}{A(x) \times \Delta\Psi(x)} \quad \text{Eqn 7}$$

( $A(x)$  is the surface exchange area between the PX and mesophyll cells per  $\text{mm}^2$  of leaf and  $\Delta\Psi$  is the water potential difference between the xylem and the surrounding mesophyll cells (MPa).) In tall fescue leaves elongating in the dark under similar conditions and at the same rate, Martre *et al.* (1999) found a  $\Delta\Psi$  of about 0.3 MPa throughout the elongation zone. Combining this value with those for  $d_{\text{water}}$  (Fig. 2),  $L_{p_{px}}$  was close to  $6.5 \text{ mmol s}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ MPa}^{-1}$ . This is about five times lower than values reported in growing sections of soybean hypocotyls ( $37 \pm 24 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$ ) by Steudle & Boyer (1984), and about 70 times lower than values reported in midrib tissue of mature maize leaves ( $494 \pm 311 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$ ) by Westgate & Steudle (1985). Nevertheless, these authors concluded that the method they used probably largely resulted in an overestimation. Moreover, account must be taken of the physical nature of  $L_{p_{px}}$  in growing tissue.  $L_{p_{px}}$  not only reflects the permeability of tissue to water, but also the resistance by yielding walls to the growth-induced water flux (Lockhart, 1965). This could also explain the discrepancy between our own estimation and those published by Steudle & Boyer (1984) and Westgate & Steudle (1985).

In conclusion, although the results of the present study show that there was hydraulic continuity of the xylem throughout the elongating leaf, the pressure drop due to the hydraulic bottleneck in the basal region of the leaf could limit growth when the emerged part of the leaf actively transpired. Further experiments are required to study the implication of the hydraulic architecture of the elongating leaf on the growth process. In particular, the effect of transpiration of fully elongated and elongating leaves on the elongation rate and water status of the xylem and the mesophyll cell in the elongation zone should be analysed.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported partly by a grant from the Région Poitou-Charentes to P. Martre. P. Martre wishes to acknowledge the contribution of J. P. André (INRA, Antibes), in initiating him in microcasting technique and for critically reading the manuscript and making several useful remarks. We are grateful to Profs J. L. Bonnemain (University of Poitiers, France) and W. K. Silk (UC Davis), and to Drs P. Cruziat (INRA, Clermont-Ferrand, France), B. Mouliat (INRA, Lusignan, France), and P. Fleurat-Lessart (CNRS, Poitiers, France) for offering invaluable suggestions and stimulating discussion during the course of this work. We are also indebted to K. Lynch

(INRA translation unit, Jouy-en-Josas, France) for revising the English version of the manuscript. We thank Ms L. Cousson, Mrs G. Millet and P. Poussot for their skilled technical assistance.

#### REFERENCES

- Altus DP, Canny MJ, Blackman DR. 1985.** Water pathways in wheat leaves. II. Water-conducting capacities and vessel diameters of different vein types, and the behaviour of the integrated vein network. *Australian Journal of Plant Physiology* **12**: 183–199.
- André JP. 1993.** Microcasting of intra- and inter cellular spaces in plant tissues. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences de Paris, Sciences de la Vie* **316**: 1336–1341.
- Barlow EWR. 1986.** Water relations of expanding leaves. *Australian Journal of Plant Physiology* **13**: 45–58.
- Baum SF, Silk WK, Tran TN. 2000.** Effects of salinity on xylem structure and water use in growing leaves of *Sorghum*. *New Phytologist* **145**:000–000. .
- Bierhorst DW, Zamora PM. 1965.** Primary xylem elements and element associations of angiosperms. *American Journal of Botany* **52**: 657–710.
- Calkin HW, Gibson AC, Nobel PS. 1986.** Biophysical model of xylem conductance in tracheids of the fern *Pteris vittata*. *Journal of Experimental Botany* **37**: 1054–1064.
- Canny MJ. 1991.** The xylem wedge as a functional unit—speculations on the consequences of flow in leaky tubes. *New Phytologist* **118**: 367–374.
- Dale JE. 1985.** The carbon relations of the developing leaf. In: Baker NR, Davies WJ, Ong CK, eds. *Control of leaf growth*. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 135–154.
- Dimond AE. 1966.** Pressure and flow relations in vascular bundles of the tomato plant. *Plant Physiology* **41**: 119–131.
- Dong Z, McCully ME, Canny MJ. 1997.** Does *Acetobacter diazotrophicus* live and move in the xylem of sugarcane stems? Anatomical and physiological data *Annals of Botany* **80**: 147–158.
- Durand JL, Onillon B, Schnyder H, Rademacher I. 1995.** Drought effects on cellular and spatial parameters of leaf growth in tall fescue. *Journal of Experimental Botany* **46**: 1147–1155.
- Durand JL, Schäufele R, Gastal F. 1999.** Grass leaf elongation rate as a function of developmental stage and temperature: Morphological analysis and modelling. *Annals of Botany* **83**: 577–588.
- Ellis RP. 1976.** A procedure for standardizing comparative leaf anatomy in the *Poaceae*. I. The leaf-blade as viewed in transverse section. *Boothalia* **12**: 65–109.
- Esau K. 1953.** Primary vascular differentiation in plants. *Biological Review* **29**: 46–86.
- Esau K. 1965.** *Plant anatomy. 2nd edn*, New York, USA: John Wiley & Sons.
- Evert RF, Botha CEJ, Mierzwa RJ. 1985.** Free-space marker studies on the leaf of *Zea mays* L. *Protoplasma* **126**: 62–73.
- Evert RF, Russin WA, Bosabalidis AM. 1996.** Anatomical and ultrastructural changes associated with sink-to-source transition in developing maize leaves. *International Journal of Plant Sciences* **157**: 247–261.
- Frensch J. 1997.** Primary responses of root and leaf elongation to water deficits in the atmosphere and soil solution. *Journal of Experimental Botany* **48**: 985–999.
- Fricke W, Flowers TJ. 1998.** Control of leaf cell elongation in barley. Generation rates of osmotic pressure and turgor, and growth-associated water potential gradients. *Planta* **206**: 53–65.
- Fukazawa K, Imagawa H. 1981.** Quantitative analysis of lignin using an UV microscopic image analyser. Variation within one growth increment. *Wood Science and Technology* **15**: 45–55.
- Goodwin RH. 1942.** On the development of xylary elements in the first internode of *avena* in dark and light. *American Journal of Botany* **29**: 818–828.
- Hargrave KR, Kolb KJ, Ewers FW, Davis SD. 1994.** Conduit diameter and drought-induced embolism in *Salvia mellifera* Greene. *New Phytologist* **126**: 695–705.
- Lewis AM, Boose ER. 1995.** Estimating volume flow rates through xylem conduits. *American Journal of Botany* **82**: 1112–1116.

- Lockhart JA. 1965.** An analysis of irreversible plant cell elongation. *Journal of Theoretical Biology* **8**: 264–276.
- MacAdam JCW. 1988.** *Cellular dynamics, peroxidase activity, and secondary cell wall deposition during tall fescue leaf blade development*. PhD thesis, University of Missouri, Columbia MO, USA.
- Martre P, Bogeat-Triboulot MB, Durand JL. 1999.** Measurement of a growth-induced water potential gradient in tall fescue leaves. *New Phytologist* **142**: 435–439.
- Matsuda K, Riazi A. 1981.** Stress-induced osmotic adjustment in growing regions of barley leaves. *Plant Physiology* **68**: 571–576.
- Maurice I, Gastal F, Durand JL. 1997.** Generation of form and associated mass deposition during leaf development in grasses: a kinematics approach for non-steady growth. *Annals of Botany* **80**: 673–683.
- Michelena VA, Boyer JS. 1982.** Complete turgor maintenance at low water potentials in the elongating region of maize leaves. *Plant Physiology* **69**: 1145–1149.
- Nonami H, Wu Y, Boyer JS. 1997.** Decreased growth-induced water potential. A primary cause of growth inhibition at low water potentials. *Plant Physiology* **114**: 501–509.
- O'Brien TP. 1981.** The primary xylem. In: Barnett JR, ed. *Xylem cell development*. Turnbridge Wells, UK: Castle House Publication Ltd, 14–46.
- Paolillo DJ. 1995.** Protoxylem maturation in the seedling of wheat. *American Journal of Botany* **82**: 337–355.
- Paolillo DJ, Rubin G. 1991.** Relative elemental rates of elongation and the protoxylem-metaxylem transition in hypocotyls of soybean seedlings. *American Journal of Botany* **78**: 845–854.
- Rayan A, Matsuda K. 1988.** The relation of the anatomy to water movement and cellular response in young barley leaves. *Plant Physiology* **87**: 853–858.
- Ryser U, Schorderet M, Zhao GF, Studer D, Ruel K, Hauf G, Keller B. 1997.** Structural cell-wall proteins in protoxylem development: evidence for a repair process mediated by glycine-rich protein. *The Plant Journal* **12**: 97–111.
- Sanderson J, Whitbread FC, Clarkson DT. 1988.** Persistent xylem cross-walls reduce the axial hydraulic conductivity in the apical 20 cm of barley seminal root axes: implications for the driving force for water movement. *Plant, Cell & Environment* **11**: 247–256.
- Savidge RA. 1996.** Xylogenesis, genetic and environmental regulation. A review. *International Association of Wood Anatomists Bulletin* **17**: 269–310.
- Schnyder H, Nelson CJ. 1987.** Growth rates and carbohydrate fluxes within the elongation zone of tall fescue leaf blades. *Plant Physiology* **85**: 548–553.
- Schnyder H, Nelson CJ. 1988.** Diurnal growth of tall fescue leaf blades. I. spatial distribution of growth, deposition of water, and assimilate import in the elongation zone. *Plant Physiology* **86**: 1070–1076.
- Schnyder H, Nelson CJ, Coutts H. 1987.** Assessment of spatial distribution of growth in the elongation zone of grass leaf blades. *Plant Physiology* **85**: 290–293.
- Sharman BC. 1942.** Developmental anatomy of the shoot of *Zea mays* L. *Annals of Botany* **6**: 245–282.
- Silk WK. 1984.** Quantitative descriptions of development. *Annual Review of Plant Physiology* **35**: 479–518.
- Sperry JS, Donnelly JR, Tyree MT. 1988.** A method for measuring hydraulic conductivity and embolism in xylem. *Plant, Cell & Environment* **11**: 35–40.
- St Aubin G, Canny MJ, McCully ME. 1986.** Living vessel elements in the late metaxylem of sheathed maize roots. *Annals of Botany* **58**: 577–588.
- Steudle E, Boyer JS. 1984.** Hydraulic resistance to radial water flow in growing hypocotyl of soybean measured by a pressure-perfusion technique. *Planta* **164**: 189–200.
- Trivett CL, Evert RF. 1998.** Ontogeny of the vascular bundles and contiguous tissues in the barley leaf blade. *International Journal of Plant Sciences* **159**: 716–723.
- Westgate ME, Boyer JS. 1984.** Transpiration- and growth-induced water potentials in maize. *Plant Physiology* **74**: 882–889.
- Westgate ME, Steudle E. 1985.** Water transport in the midrib tissue of maize leaves. Direct measurement of the propagation of changes in cell turgor across a plant tissue. *Plant Physiology* **78**: 183–191.
- Zerbi G, Morgan JA, Lecain DR. 1991.** Gas exchange and water relations in water and salinity stressed wheat lines. *Journal of Agronomy and Crop Science* **166**: 1–7.

## *CONCLUSION DE LA PUBLICATION 2*

Les colorations et les micromoulages réalisés dans cette étude ont clairement mis en évidence une continuité hydraulique du protoxylème le long de la zone de croissance. Les vaisseaux de métaxylème ont une maturation basipète. Au-delà de la zone de croissance, entre 60 et 100 mm de la base de la feuille, le chevauchement des vaisseaux de protoxylème et de métaxylème assure une continuité hydraulique du xylème entre les parties en croissance et mature de la feuille.

Les mesures de conductivité hydraulique montrent une très forte hétérogénéité le long de la feuille en croissance, qui reflète la maturation du xylème. La conductivité hydraulique axiale dans la zone de croissance est très faible, cette zone représente une zone de constriction hydraulique importante.

Cette étude apporte un premier élément de réponse à propos des relations transpiration-croissance : la chute de potentiel hydrique dans le xylème le long de la zone de croissance est de l'ordre de 0.4 MPa - calculée à partir du profil de conductivité hydraulique mesuré et de valeurs de flux de transpiration plausibles pour la feuille en croissance. Le potentiel hydrique de l'eau dans la partie distale de la zone croissance est donc proche du potentiel hydrique des cellules en expansion mesuré dans la publication 1. Dans des conditions de forte transpiration, toutes choses égales par ailleurs, la constriction hydraulique du xylème dans la zone de croissance pourrait donc fortement réduire le flux d'eau nécessaire à la croissance.

Dans cette étude nous avons considéré que le potentiel hydrique à la base de la feuille en croissance est égal à zéro. Or, du fait de la transpiration des feuilles  $L_1$  et  $L_2$  et de la résistance hydraulique du système racinaire ce potentiel doit être beaucoup plus négatif. Ce potentiel hydrique est déterminé par le flux de transpiration des différentes feuilles de la talle et par les résistances hydrauliques du système racinaire et des différentes feuilles. Il est donc essentiel d'intégrer le fonctionnement hydraulique de la feuille en croissance à celui des autres organes de la talle.

L'objectif de la publication 3 est de mesurer le flux hydrique de transpiration et de croissance des différentes feuilles de la talle et les résistances hydrauliques (radiales et axiales) associées à ces flux. Ceci dans le but de modéliser le fonctionnement hydraulique de la talle entière (flux et potentiel) à une échelle nécessaire pour analyser et modéliser les relations transpiration-croissance.

**Note à la version PDF :**

Ce manuscrit a donné lieu à deux publications :

**Martre P, Cochard H, Durand JL. 2001.** Hydraulic architecture and water flow in growing grass tillers (*Festuca arundinacea* Schreb.). *Plant Cell and Environment* **24**:65-76.

**Martre P, Durand JL. 2001.** Quantitative analysis of vasculature in the leaves of *Festuca arundinacea* (Poaceae): Implications for axial water transport. *International Journal of Plant Sciences* **162**:755-766.

## *PUBLICATION 3*

---

**Martre P, Cochard H, Durand JL. 200?**  
Hydraulic architecture and water flows in a growing grass tiller (*Festuca arundinacea* Schreb.). Modelling steady state plant water status  
In preparation

---

# Hydraulic architecture and water flows in a growing grass tiller (*Festuca arundinacea* Schreb.)

---

## MODELLING STEADY STATE PLANT WATER STATUS

PIERRE MARTRE<sup>1</sup>, HERVE COCHARD<sup>2</sup> AND JEAN-LOUIS DURAND<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Unité d'Ecophysiologie des Plantes Fourragères, Institut National de la Recherche Agronomique, F-86 600 Lusignan, France.*

<sup>2</sup> *Unité de Physiologie Intégrée des Arbres Fruitières, Institut National de la Recherche Agronomique, F-63 039 Clermont-Ferrand, France.*

### SUMMARY

The water relations and hydraulic architecture of growing grass tiller (*Festuca arundinacea* Schreb.) are reported. Evaporative flux density ( $E$ ) of individual leaf blades was measured gravimetrically by covering or excision of entire leaf blades.  $E$  of mature and elongating leaf blades were not significantly different, and were close to  $2.4 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Axial hydraulic conductivity measured on excised leaf segment ( $K_h$ ) was only *c.* 20 % of theoretical hydraulic conductivity ( $K_t$ ) calculated using the Poiseuille's law and anatomical measurements of xylem diameter. The difference could be discussed using data obtained on vessel length measurements.  $K_t$  was corrected ( $K_t^*$ ) to account for the discrepancy between  $K_h$  and  $K_t$ , and for immature xylem in the basal expanding region of elongating leaves. Along mature leaves the spatial pattern of  $K_t^*$  had a bell shape, with a maximum near the blade joint (*c.*  $19 \text{ mmol mm s}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$ ). In elongating leaf, immature xylem in the basal growing region allowed for a much lower  $K_t^*$ . As the first metaxylem matured,  $K_t^*$  increased steeply by 10-folds. The total hydraulic conductances of the whole root system ( $Lp_{root}$ ), and mature and immature leaf blades ( $Lp_{blade}$ ) were measured using a vacuum induced water flow technique.  $Lp_{root}$  was linearly related to the leaf area of the plant, and  $Lp_{blade}$  was linearly related to the blade area. About 60 % of the resistance to water flow within the plant resided in the leaf blade. An electric-analogue computer model was used to solve for the radial hydraulic conductance of the leaf blades from  $Lp_{blade}$  and  $K_t^*$  values and water fluxes data. Within mature blades, more than 90% of the resistance to water flow resided in the liquid extracellular path. Leaf area-specific radial hydraulic conductivity decreased with leaf age, from  $21.2 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$  in rapidly elongating leaf to  $7.2 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$  in the mature leaf. The model was also used, to compute the xylem and water potential along the liquid water path in steady state conditions. Predicted and measured water potentials matched well. The hydraulic design of the mature leaf resulted in a low and quite constant xylem water potential gradient (*c.*  $0.3 \text{ MPa m}^{-1}$ ). Much of the water potential drop within mature leaves occurred within a few millimeters, in the extraxylary path. In elongating leaves, the low  $K_t^*$  in the basal growing region dramatically increased the xylem water potential gradient in that part of elongating leaves (*c.*  $2.0 \text{ MPa m}^{-1}$ ).

*Key-words:* elongating leaf (growth zone), hydraulic conductance, hydraulic conductivity, hydraulic architecture, electric-circuit analogue, tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.), water potential, water relations, xylem anatomy.

## INTRODUCTION

Transpiration in plant is a necessary consequence of the plant's need to maintain rapid gas exchange in leaves and maintain long-distance transport of nutrients and growth regulators. Because of the resistance to the flow of water within the plant, the water flux produced by transpiration and osmotic gradients gives rise to considerable reductions in tissue water potential (Denmead & Millar, 1976; Sperry *et al.*, 1996; Tyree, 1997; Wei, Tyree & Steudle, 1999). Various aspects of plant metabolism are sensitive to these water potentials changes (Hsiao, 1973), and cell expansion is highly responsive to plant water status (Frensch, 1997). Therefore, knowledge of the localisation and magnitude of the pattern of water potential drop within a plant is fundamental to understand the response of plant growth to plant water balance.

Under steady state conditions, Ohm's law analogue of water flow in plants (Van den Honert, 1948) predicts that the water potential drop,  $\Delta\Psi$  (MPa), through a plant part of hydraulic conductivity  $K_h$  ( $\text{mmol s}^{-1} \text{m MPa}^{-1}$ ), and length  $\Delta x$  (m), is a function of the water flow  $Q$  ( $\text{mmol s}^{-1}$ ), as:

$$\Delta\Psi = -\frac{Q}{K_h} \cdot \Delta x \quad (1)$$

The magnitude of the xylem sap tension developed at a particular location in a plant will then depend (i) on the sum of the resistances along the flow pathway from the soil to that point, (ii) on the water fluxes through each organ, and (iii) on the soil water potential. The knowledge of the hydraulic architecture of a plant is therefore required in order to compute and model the distribution of water status in its organs and assess its impact on growth.

The hydraulic architecture of woody plants have received much attention (*e.g.* Tyree, 1988; Tyree & Ewers, 1991; Cochard *et al.*, 1997), but herbaceous species are virtually unstudied. To our knowledge, the work of Meinzer *et al.* (1992) on sugarcane plant was the only published study on herbaceous hydraulic architecture at the whole plant scale, but no account was taken of radial water flow along the lamina. The main objective of our study was to describe the hydraulic architecture of a tall fescue grass tiller (*Festuca arundinacea* Schreb.).

The present study was motivated by the results of Martre, Durand & Cochard (1999b) who found that the basal expanding region of growing leaves was an hydraulic bottleneck that might restrict the longitudinal water flow through the leaves and also to the expanding tissues. While most of the sap moves through the xylem to the evaporation surface of the leaves where it is transpired, a small fraction is devoted to cell enlargement. The rate at which water is extracted from the transpiration stream to support expansive growth depends on the water potentials of the xylem, the growth-induced water potential of the expanding cells, and the conductivity between the two compartments. Hence, changes in the transpiration rate may affect the water status of growth zones located along the water pathway (Westgate & Boyer, 1984). A thorough description of the hydraulic architecture of growing tiller may provide a tool for understanding the interactions between leaf growth and plant water relations.

The first step in our study was to measure the hydraulic conductivity in all parts of a tall fescue tiller. Two types of conductivities are to be considered: (i) an axial conductivity through the xylem conduits and (ii) an extraxylary radial conductivity. Axial conductivities can be measured gravimetrically ( $K_h$ ) or derived from anatomical

measurements ( $K_t$ ) assuming that xylem elements behave as ideal capillaries (Poiseuille's law). This assumption is rarely verified so  $K_t$  values need to be corrected (e.g. Giordano *et al.*, 1977; Gibson, Calkin & Nobel, 1985; Hargrave *et al.*, 1994). There are only few detailed studies in which both axial and radial hydraulic conductivities have been measured. But all confirmed the generally accepted hypothesis that, under non-limiting water supply, axial hydraulic conductivity in mature tissue is much larger than the radial hydraulic conductivity. Much of the results comes from research on root (e.g. Frensch & Steudle, 1989; North, Ewers & Nobel, 1992; Melchior & Steudle, 1993), the leaf receiving less attention (Boyer, 1977; Tyree & Cheung, 1977).

The second step was to characterise the transpiration rates,  $E$ , of the different leaves. It was essential to measure  $E$  of elongating leaves because its transpiration was likely to have a high impact on cell enlargement in the growth zone. Apart from the flux linked to expansive growth itself, this paper is restricted to the case of conservative fluxes, and so plant absorption, transpiration and elongation rate were simultaneously measured. Finally, the hydraulic conductances and transpiration rates were used in a computer electric analogue model that permitted xylem pressure ( $P_x$ ) and blades mesophyll water potential ( $\Psi_l$ ) and expanding cells water potential ( $\Psi_{EZ}$ ) computation along each leaf with a high spatial resolution. We validated the water potential values predicted by our hydraulic architecture-based model by direct estimated of  $\Psi$  at different locations along the sap pathway.

Abbreviations:  $A$ , absorption rate ( $\mu\text{mol s}^{-1}$ );  $E$ , evaporative flux density ( $\text{mmol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ );  $EZ$  elongation zone;  $K_h$ , measured axial hydraulic conductivity of the xylem ( $\text{mmol s}^{-1} \text{mm MPa}^{-1}$ );  $k_r$ , theoretical axial hydraulic conductivity of individual vessel ( $\text{mmol s}^{-1} \text{mm MPa}^{-1}$ );  $K_t$ , theoretical axial hydraulic conductivity of all functioning vessels in parallel ( $\text{mmol s}^{-1} \text{mm MPa}^{-1}$ );  $K_t^*$ , theoretical axial hydraulic conductivity of all functioning vessels (in parallel), corrected on the basis of the  $K_h/K_t$  ratio ( $\text{mmol s}^{-1} \text{mm MPa}^{-1}$ ); **LMX**, large metaxylem vessels;  $Lp_{px}$ , radial hydraulic conductance of vessel cell wall for water flow from the protoxylem in the elongation zone to the surrounding expanding mesophyll ( $\text{mmol s}^{-1} \text{mm}^{-2} \text{MPa}^{-1}$ );  $Lp_{blade}$ , hydraulic conductance of the leaf blade ( $\text{mmol s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$ );  $Lp_{blade}^{A_l}$ , hydraulic conductance of the leaf blade normalised by the projected leaf surface area ( $\text{mmol s}^{-1} \text{m}^{-2} \text{MPa}^{-1}$ );  $Lp_r$ , radial hydraulic conductance of the leaf blade 'mesophyll' liquid pathway for water flow from vessels to evaporation site in the leaf blade, normalised by the projected leaf surface area ( $\text{mmol s}^{-1} \text{m}^{-2} \text{MPa}^{-1}$ );  $Lp_{root}$ , hydraulic conductance of the entire root system ( $\text{mmol s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$ );  $Lp_{root}^{Apl}$ , hydraulic conductance of the entire root system, normalised by the projected leaf surface area of the plant ( $\text{mmol s}^{-1} \text{m}^{-2} \text{MPa}^{-1}$ );  $\eta$ , dynamic viscosity of water ( $\text{MPa s}^{-1}$ );  $Q$ , water flow ( $\text{mmol s}^{-1}$ );  $P_x$ , xylem pressure;  $P_{sat}$ , vacuum pressure at which the slope of vacuum pressure vs. flow rate relationship changed (MPa);  $\Psi_0$ , water potential at the excised end of the leaf (MPa);  $\Psi_{soil}$ , root surface water potential (MPa);  $\Psi_{surf}$ , water potential of the evaporation site in the leaf blade;  $\Psi_l$  and  $\Psi_r$ , transpiring leaf and root water potential, respectively (MPa);  $\Psi_{ez}$ ,  $L_3$  elongation zone water potential (MPa); **PX**, protoxylem vessels;  $T$ , Transpiration rate ( $\mu\text{mol s}^{-1}$ ).

## MATERIALS AND METHODS

*Plant material and growth conditions*

Tall fescue plants were grown in hydroponic solution as previously described (Martre *et al.*, 1999b). Tillers were harvested from days 14 to 21 after the plants were transferred to hydroponic solution, when the third uncut leaf ( $L_3$ ) was  $200 \pm 10$  mm long (*i.e.* approximately 50% of its final length). At this stage, the ligule of  $L_3$  was within one millimeter from the leaf base.  $L_3$  was the last leaf to emerge from the enclosing older leaf sheath. The leaves, which were one and two phyllochrons older, were referred to as  $L_2$  and  $L_1$  respectively. To further homogenise the leaf population, only tillers whose  $L_1$  sheath length were similar ( $100 \pm 5$  mm) were selected. Conditions in the controlled environment cabinet were the same throughout the experiment. The PPFD was  $530 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (provided by HQI-400 W/D lamp, Osram, Germany) during the 14 h of photoperiod. Relative humidity was controlled at  $85 \pm 2\%$  throughout the 24 h period, and air temperature was set at  $18/24$  °C (light/dark) in order to ensure a constant temperature ( $24 \pm 0.5$  °C) within the leaf elongation zone.

*Transpiration and absorption*

The measurements were based upon continuous weight records of two identical communicating cylindrical vessels (height 22 cm, inside diameter 6.8 cm) filled with nutrient solution. Each vessel was placed on an electronic balance (model LP1200S, Sartorius Corp, Bohemia, N.Y., USA,  $10^{-3}$  g resolution) interfaced with a personal computer. The experimental set-up was similar to that described in detail by Van Ieperen & Madery (1994). Briefly, one of these vessels carried the plant and was connected to the other by a silicone tube (length 27 cm, inside diameter 13.5 mm). Transpiration ( $T$ ,  $\mu\text{mol s}^{-1}$ ) and absorption ( $A$ ,  $\mu\text{mol s}^{-1}$ ) rates were given by the following relationships:

$$T = -2 \cdot \frac{\Delta W_1}{\Delta t} \quad (2)$$

$$A = \frac{-(\Delta W_1 + \Delta W_2)}{\Delta t} \quad (3)$$

Where  $W_1$  and  $W_2$  are the weight ( $\mu\text{mol}$ ), respectively, of plant free and plant containing vessel and  $t$  is time (s).

Tests showed that the measurements of transpiration and water uptake could be made to an accuracy of  $0.3 \mu\text{mol s}^{-1}$ , which was the evaporation rate of the system without plant. The test plant was firmly fitted into a suitable plastic holder so that the root alone was bathed in nutrient solution, and positioned so that  $L_3$  was extended vertically above it. Evaporation from both vessels was prevented by adding 1 cm of paraffin oil at the surface of the nutrient solution. The whole system, except the plant, was placed in a polyurethane box to minimise effects of the environment on the weight measurements. The weight on both balances was measured at intervals of 30 s. Running means over



10 min were calculated to reduce the noise on the output signal of the balances.  $T$  and  $A$  were calculated from these filtered values using numerical differentiation formula based on third degree fitting of polynomials to five points equally spaced with interval of 10 points (Erickson, 1976).

The plant were transferred to the measurement growth chamber several days before the onset of the experiment, and axillary tillers (two to three) were removed. The PPFD was  $380 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (provided by HQI-T 400 W/D lamps, Osram, Germany) during the 14 h photoperiod. Relative humidity was  $(55/45) \pm 10\%$  (light/dark), and air temperature was maintained at  $16.5/23^\circ\text{C}$  (light/dark) in order to provide a constant temperature ( $24 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ) within the leaf growth zone. The plant were installed on the balance at the end of a light period, at least 15 h before the first manipulation of the plant.

To determine the individual leaf contribution to transpiration of the tiller, the surface areas for water vapour loss were manipulated, either by excision of entire leaf blades or by sealing entire leaf blades in polyethylene film and aluminium foil. Transpiration was monitored at least 3 h prior to and following the manipulation. Transpiration of individual leaf blades was calculated by difference of the plant transpiration before and after manipulations.

#### *Leaf elongation rate*

Simultaneously to water fluxes measurements, elongation of  $L_3$  was recorded using a linear variable differential transducers (LVDT L-50, Chauvin Arnoux, Paris, France). A string attached the tip of  $L_3$  to a metal arm leading to the core of a LVDT. The metal arm was counterbalanced to apply a tensile force of 7 g to the leaf to keep it straight. Leaf length was recorded on a datalogger (CR-10X, Campbell Scientific LTD, Leicestershire, England) each 30 s. Data were smoothed and leaf elongation rate ( $LER$ ) was computed using the same procedure as for  $T$  and  $A$ .

#### *Leaf water potential*

At the end of the transpiration session, leaf blades were sampled for transpiring leaf water potential ( $\Psi_l$ , MPa) measurements. Each leaf was covered on each side with self-adhesive tape, cut at about 10 cm of the apical extremity and immediately stored in an insulated polyethylene bag lined with wet tissue. Leaves were then inserted into a Scholander-type pressure bomb, whose chamber was lined with wet paper tissue, and the balancing pressure recorded in the usual way (Boyer, 1995). Water potential measurements were made within 5 min of collection. After the balance pressure was determined, the leaf area was measured using a leaf area meter (model LI-3100 Area Meter, Li-Cor Inc., Lincoln, NE, USA).

Root system and stubble were inserted in an other plastic bag and immediately stored in a humid-box. Several roots segments and one taken at 20 mm of the base of  $L_3$  (*i.e.* at the location of most active elongation), 5 mm long, were then cut with a razor blade in the humid-box and rapidly sealed in thermocouple psychrometers chambers (model C-52, Wescor Inc., Logan, UT, USA). Water potential was measured in dew-point mode using a Wescor HR-33T micro-voltmeter after a 3 h equilibration period, at  $20 \pm 0.1^\circ\text{C}$  in a temperature controlled box.

### *Length of the elongation zone*

The Length of the elongation zone at the base of the leaf was determined by pricking holes with a fine entomologist needle (0.2 mm diameter) from the base to 60 mm of the leaf base through the sheath of mature leaves. Pricking was performed at 4 h and sampling at 10 h into the 10 h dark period. Hole spacing was compared with a graduated ocular. The length of the elongation zone was determined to be the point at which no further difference in spacing could be observed. The elongation between pricking and sampling was between 8 and 15% of the length of the elongation zone.

### *Anatomy of the leaf vascular system.*

The spatial pattern of longitudinal vasculature was studied accurately by measuring the number and diameter of xylem vessels in cross-section taken from a batch of 8 tillers as in Martre *et al.* (1999b). Tillers were excised at the root-shoot junction, and the first cut leaves were removed. Tillers were then cut again into 50 mm long segments and fixed for 30 min under a vacuum in 2% paraformaldehyde (v/v), 1% glutaraldehyde (v/v) and 1% caffeine (w/v) solution in a 0.2 M phosphate buffer at pH 7.2. Following fixation, free-hand cross-sections were cut with a razor blade every 5 mm along the sheath of L<sub>1</sub>, and every 10 mm for the emerged parts of leaves. Sections were mounted in 20% glycerol between a slide and a cover slide. The number of bundles was counted and in each bundle, the number of protoxylem (PX) and large metaxylem (LMX) fluorescent vessels and the length of the two axes of individual vessel lumina were measured under a fluorescence microscope. The diameter of individual vessel lumina was calculated as the diameter of a circle of equivalent perimeter:

$$D = \sqrt{\frac{a^2 + b^2}{2}} \quad (4)$$

### *Vessels length*

Vessel lengths were measured using the paint perfusion technique (Zimmermann & Jeje, 1981; Ewers & Fisher, 1989). The tiller was excised under water at the root shoot junction, kept under water and cut again at the blade joint of L<sub>1</sub>. Stubble was then cut at 45 mm from its base and L<sub>1</sub> blade was successively cut every 80 mm from the blade joint. Each segment was cut again by 5 mm just prior to insert their basal extremity in Exacanal tubing connected to a paint solution reservoir. The segments were kept under water and gravity fed with the latex suspension from a 2 m column, for at least 48 h. This procedure is based on the assumption that the latex particle will flow unrestricted through xylem conduits, but the particle are too large to pass between conduits. Blue latex paint solution was prepared at concentration of 0.05% (w/v) in 10 mM citric acid. Left standing the paint suspension for a day while the larger particulate settled removed the particle agglomerates. Filtering with a Millipore filter unit demonstrated that in the supernatant all pigment particles were greater than 0.45 μm and were thus too large to pass through pit membrane.

At the end of the infusion time, thin freehand cross-sections were cut every 3 mm, starting at the paint application end of the segment, and counted the number of paint-

containing vessels. Vessels were counted even if they were only partially filled with the latex paint. Vessel length distribution was calculated according to Zimmermann & Jeje (1981) as modified by Ewers & Fisher (1989).

#### *Leaf Axial hydraulic conductivity*

Leaf axial hydraulic conductivities ( $K_h$ ) were derived from xylem anatomical measurements. Five representative tillers were selected, excised at the root-shoot junction, and thin free-hand cross-sections were obtained with a razor blade every 5 mm in the stubble, and every 30 and 20 mm for the emerged part, respectively, of L<sub>1</sub> and L<sub>2</sub> blades. The number and lumen diameters of all the vessels were measured under a fluorescent microscope as described by Martre *et al.* (1999b). Given the similarity of plant material and growth conditions, the pattern of xylem maturation in L<sub>3</sub> was studied in details by Martre *et al.* (1999b) and reused in this study. For L<sub>3</sub>, it was assumed that: (i) within the growth zone, only PX vessels were conductive, (ii) the first functional LMX vessels were at 60 mm from the end of the elongation zone and (iii) the proportion of functional LMX was supposed to increase linearly from 0 at 60 mm from the base to 1 at 100 mm from the base, *i.e.* where the leaf emerged from the sheath of L<sub>1</sub>. For L<sub>2</sub>, it was assumed that the pattern of xylem maturation was the same as in L<sub>3</sub>.

The theoretical axial hydraulic conductivity,  $K_t$ , of each cross section was calculated as the sum of the conductivity of all the measured vessels (in parallel) in the section, assuming they were elliptical and using the equation proposed by Lewis & Boose (1995):

$$k_t = \frac{\pi}{64\eta} \frac{a^3 b^3}{a^2 + b^2} \quad (5)$$

where  $\eta$  is the viscosity of water, and,  $a$  and  $b$  are the diameter of the major and minor axes.

Because large discrepancies were found between computations of  $K_t$  based on anatomical data and actual hydraulic conductivities ( $K_h$ ), an empirical relationship between  $K_t$  and  $K_h$  was established. This relationship was derived from blade segments of L<sub>1</sub> and from previously published data for L<sub>3</sub> (Martre *et al.*, 1999b). Large extracellular air spaces in the sheath made  $K_h$  measurement impossible with our gravimetric technique because these air spaces became water filled and conducted much water under pressure.

Actual hydraulic conductivities of L<sub>1</sub> blades segments were measured using the technique described by Sperry, Donnelly & Tyree (1988) as adapted to grass leaf by Martre *et al.* (1999b). In short, leaves were cut under water at the blade joint, kept under water, and cut again in 30 mm long segments and longitudinally wrapped around an aluminium bar cover with Teroson. Leaf segments were then fitted at both ends into Exacanal tubing filled with a solution of degassed 0.1% (v/v) concentrated HCl (37.7%) solution (*c.* pH 2) filtered to 0.2  $\mu$ m. Each tubing led to a reservoir of HCl solution. One was placed on an analytical balance interfaced with a computer; the other was elevated to create a hydrostatic pressure head of 6 kPa. The rate of solution flow into the reservoir standing on the balance was measured over five successive 30 s intervals.  $K_h$  was computed as the flow rate (mmol s<sup>-1</sup>) divided by pressure gradient (MPa m<sup>-1</sup>) across each sample. Using an alcian blue solution, it was checked that water only flowed in the vessels and not in the extracellular spaces during these measurements. After  $K_h$

measurements were completed and for each segment,  $K_t$  was estimated as before. Computed  $K_t$  values were then corrected ( $K_t^*$ ) using the relationship found between  $K_t$  and  $K_h$  (see results figure 6).

#### *Total hydraulic conductance of emerged leaf blades*

Leaf blades of  $L_1$  were cut under water at the blade joint. Leaf blades of  $L_2$  and  $L_3$  were cut 6 cm under the blade joint of  $L_1$  in order to calculate the hydraulic conductance of all the emerged part of these blades. They were fitted into Exacanal tubing filled with a degassed HCl solution leading to an analytic balance, as described above for  $K_h$  measurements. The blades were then wrapped loosely with damp tissue to prevent the blade surface from drying out, and loaded into a cylindrical PVC canister (62 cm long, 8 cm diameter), which could be sealed and linked to a vacuum pump (Kolb, Sperry & Lamont, 1996). A separate needle valve was connected to a vacuum gauge measuring the canister depression. In order to stabilise the pressure in the canister a buffer cistern of 150 l was inserted in the line between the canister and the vacuum pump. About 1 cm of the blade or sheath was left outside the canister and recovered with damp tissues to equilibrate the aerenchyma with atmospheric pressure. This prevented water from flooding of extracellular spaces, at least at low vacuum pressure. After the canister was sealed, the flow rate at zero pressure was measured until it had stabilised. Vacuum pressure steps of 0.008 MPa were then applied within 20 s and kept constant until a new constant flow rate was established. Flow rate was then recorded over five successive 30 s intervals. Flow rate stabilisation took about 30 min at 0.008 MPa, but only 5-10 mm at the higher vacuum pressure. After stabilisation, constant flow rate could be recorded for at least 4 h. The highest applied vacuum pressure was 0.05 MPa. After the measurement was completed, the surface area of the blade in the canister was measured using a leaf area meter.

Only experiments with linear relationship ( $r > 0.98$ ) were used for hydraulic conductance determination. Leaf blade hydraulic conductance,  $Lp_{blade}$ , was calculated as the slope of the vacuum pressure versus flow rate relationship. The vacuum pressure in the canister was equal to the water potential of the liquid-vapour interface in the leaf, thus it represents the driving force for the water movement from the excised part of the blade to the evaporating sites in the blade. Therefore it was relevant to use this pressure difference to calculate the hydraulic conductance of the leaf. The value was corrected for the leaf segment outside the canister, considering that there was only axial water flow through this segment, in series with the leaf blade inside the canister. The axial conductance of the leaf segment outside the canister was about 5% of the corrected leaf blade hydraulic conductance.

#### *Total hydraulic conductance of entire root system*

Root systems cut at the root-shoot junction could not be sealed in the tubing without leaks. Therefore, root conductance was measured from the main stubble. Axillary tillers were cut under water at their base, and the cut surfaces were sealed with hydrophilic vinyl polysiloxane (dental impression material, low viscosity). The stubble was cut under water at 7 cm above the root-shoot junction, kept under water, covered with Teflon tape and cut again by 1 cm just prior to fit it into Exacanal tubing as described above. The root system was wrapped loosely in a wet tissue and inserted in the vacuum

canister, and the hydraulic conductance of the root system was measured as for the blades.

Root hydraulic conductance,  $Lp_{root}$ , was corrected for the stubble part outside the canister, considering that the leaf bases were in parallel each other, and all in series with the roots, and that there was only axial water flow through the leaf bases. The root hydraulic conductance values included the resistance of internodes and nodes, which were together about 2 mm long. The axial conductance of the leaf bases was about 30% of the corrected root hydraulic conductance.

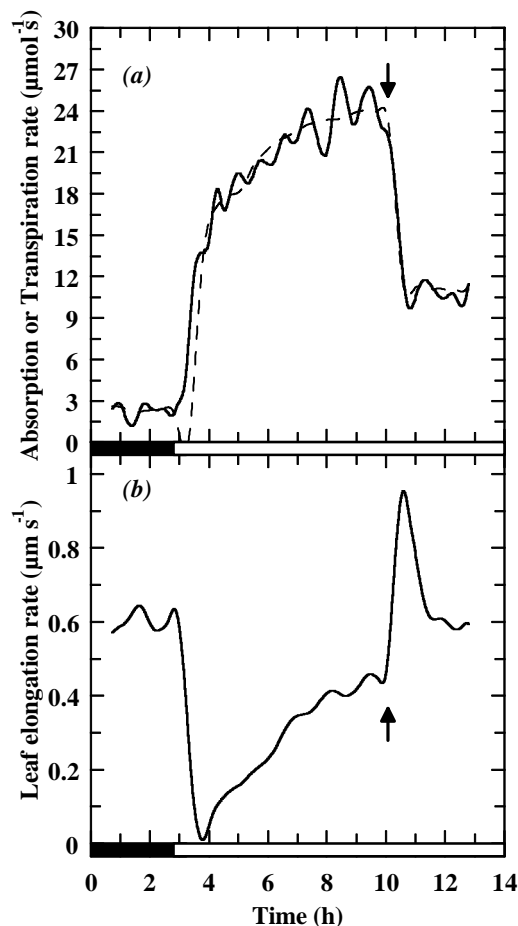
### Statistic analyses

Student's *t* test was used to test the differences in slope of regression line of  $Lp_{blade}$  and  $Lp_{root}$  vs. leaf area, and to compare *E* of  $L_1$ ,  $L_2$  and  $L_3$ . Statistical significance of difference was judged at  $P < 0.05$ .

## RESULTS

### Transpiration and water potential and leaf elongation rate

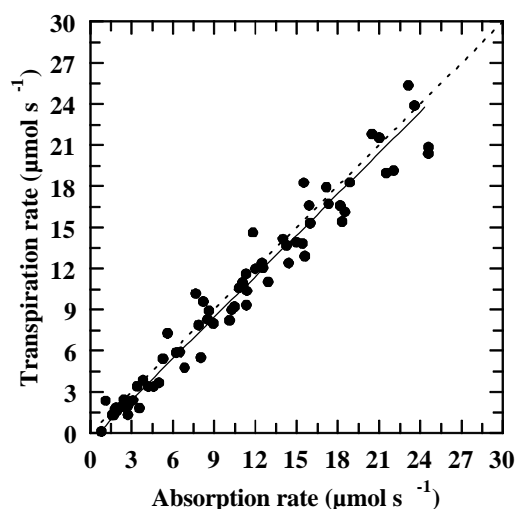
Transpiration rates of the different leaf blades were measured by successive defoliation or covering of entire leaf blade. The two kinds of transpiration manipulations gave the same results therefore the results were combined. A typical plot of the time-course of *T*,



**Figure 1**

Time-course of transpiration (—) and absorption (---) rates (a), and leaf elongation rate of  $L_3$  of tall fescue tiller (b). At 10 h, indicated by vertical arrows, emerged part of  $L_2$  was sealed in polyethylene film and aluminum foil, causing decrease of water flux through the tiller, and increase of *LER*. Dark period of the diurnal cycle is indicated by back rectangle on the x-axis).

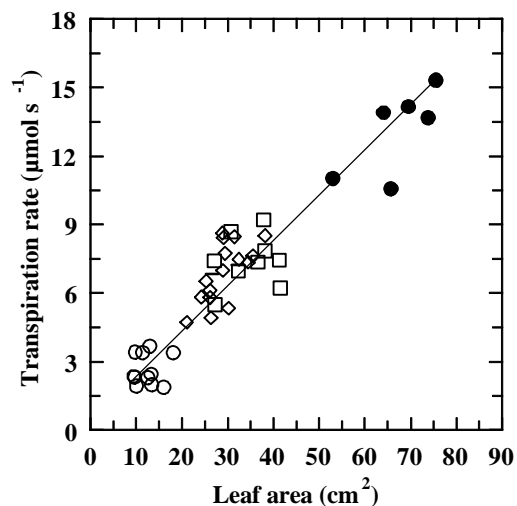
$A$  and  $LER$  is shown in figure 1. Night transpiration was about 10% of that of the day (Fig. 1a). When light turned on,  $T$  and  $A$  rapidly increased.  $T$  remained in advance to  $A$  for 1 h, and stabilised 4 h later at about  $24 \mu\text{mol s}^{-1}$ . During that trial, the emerged part of  $L_2$  was covered at 10 h.  $T$  and  $A$  dropped at once to a much lower values and stabilised 4 h later at about  $11 \mu\text{mol s}^{-1}$ . Considering the steady states only, absorption and transpiration were equal in all experiments (Fig 2), indicating a situation of conservative flux at the whole tiller level. The transpiration of the stubble was very close to zero and was not detectable (data not shown). Transpiration of the growing leaf was  $2.64 \pm 0.22 \times 10^{-3} \text{ mmol s}^{-1}$  *i.e.* approximately one third of mature leaves transpiration (table 1). There was a general and linear relationship between  $T$  of individual leaves or whole tiller and the leaf surface area (Fig. 3). Furthermore,  $E$  was not significantly different for the different leaf blades ( $P < 0.05$ ) and was close to  $2.4 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (Table 1).



**Figure 2**

Steady state transpiration rate versus absorption rate in tall fescue. The line represents non-linear regression ( $y = -1.00x - 0.57$ ,  $r = 0.98$ ,  $p < 0.01$ ), and dotted line is 1:1 relation.

On the same tiller as in figure 1,  $LER$  during the dark period was about  $0.6 \mu\text{m s}^{-1}$  (Fig. 1b). When the light turned on,  $LER$  was severely reduced but recovered to a daytime maximum of  $0.4 \mu\text{m s}^{-1}$  after about 4 h. A reverse of this trend was observed at the onset of the dark period (data not shown). When  $L_2$  was covered,  $LER$  rapidly increased to  $0.9 \mu\text{m s}^{-1}$  after what it slowly decreased to stabilise at  $0.6 \mu\text{m s}^{-1}$  two hours after covering (fig. 1b). Average maximum  $LER$  at the end of dark and light periods were respectively,  $0.54 \pm 0.06$  and  $0.38 \pm 0.03 \mu\text{m s}^{-1}$  (Table 1).



**Figure 3**

Transpiration rate of whole plant ( $\bullet$ ), and  $L_1$  ( $\diamond$ ),  $L_2$  ( $\square$ ), and  $L_3$  ( $\circ$ ) leaf blades versus leaf area of tall fescue. The solid line represents linear regression ( $y = 0.20x + 0.35$ ,  $r = 0.94$ ,  $p < 0.05$ ).

$\Psi_l$  measured on transpiring leaves was higher (less negative) in L<sub>3</sub> than in L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub> exhibiting intermediate values (respectively -0.80, -0.54, -0.63 MPa). The elongation zone water potential ( $\Psi_{ez}$ ) was -0.44 MPa, while the coarse root water potential ( $\Psi_r$ ) was -0.17 MPa (Table 1 and also figure 11).

**Table 1** Leaf blades area, evaporative flux density ( $E$ ), water potential transpiring leaf blades ( $\Psi_l$ ), L<sub>3</sub> elongation zone ( $\Psi_{ez}$ ) and root ( $\Psi_r$ ) of tall fescue. Maximum L<sub>3</sub> elongation rates during dark ( $LER_{dark}$ ) and light ( $LER_{light}$ ) periods of diurnal cycle. Length of the elongation zone ( $EZ$ ) of L<sub>2</sub> and L<sub>3</sub>. Data are means  $\pm$  SEM for n = 10 to 12. Means in the same line with different superscripts are significantly different at P<0.05 from Student *t*-test. For water potential measurements tissues were sampled at the end of the light period.

	Root	Leaf		
		L <sub>1</sub>	L <sub>2</sub>	L <sub>3</sub>
blade area (cm <sup>2</sup> )	-	32.30 $\pm$ 1.66	36.6 $\pm$ 2.64	12.4 $\pm$ 0.87
$T$ (10 <sup>-3</sup> mmol s <sup>-1</sup> )	-	8.71 $\pm$ 0.9	8.06 $\pm$ 0.73	2.64 $\pm$ 0.22
$E$ (mmol m <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> )	-	2.67 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>	2.31 $\pm$ 0.32 <sup>a</sup>	2.21 $\pm$ 0.22 <sup>a</sup>
$EZ$ length (mm)	-	-	27.1 $\pm$ 1.8 <sup>a</sup>	32.7 $\pm$ 1.0 <sup>b</sup>
$LER_{dark}$ ( $\mu$ m s <sup>-1</sup> )	-	-	-	0.54 $\pm$ 0.06
$LER_{light}$ ( $\mu$ m s <sup>-1</sup> )	-	-	-	0.38 $\pm$ 0.03
$\Psi_{EZ}$	-	-	-	-0.44 $\pm$ 0.02
$\Psi_l$	-	-0.80 $\pm$ 0.09	-0.63 $\pm$ 0.05	-0.54 $\pm$ 0.08
$\Psi_r$	-0.17 $\pm$ 0.03	-	-	-

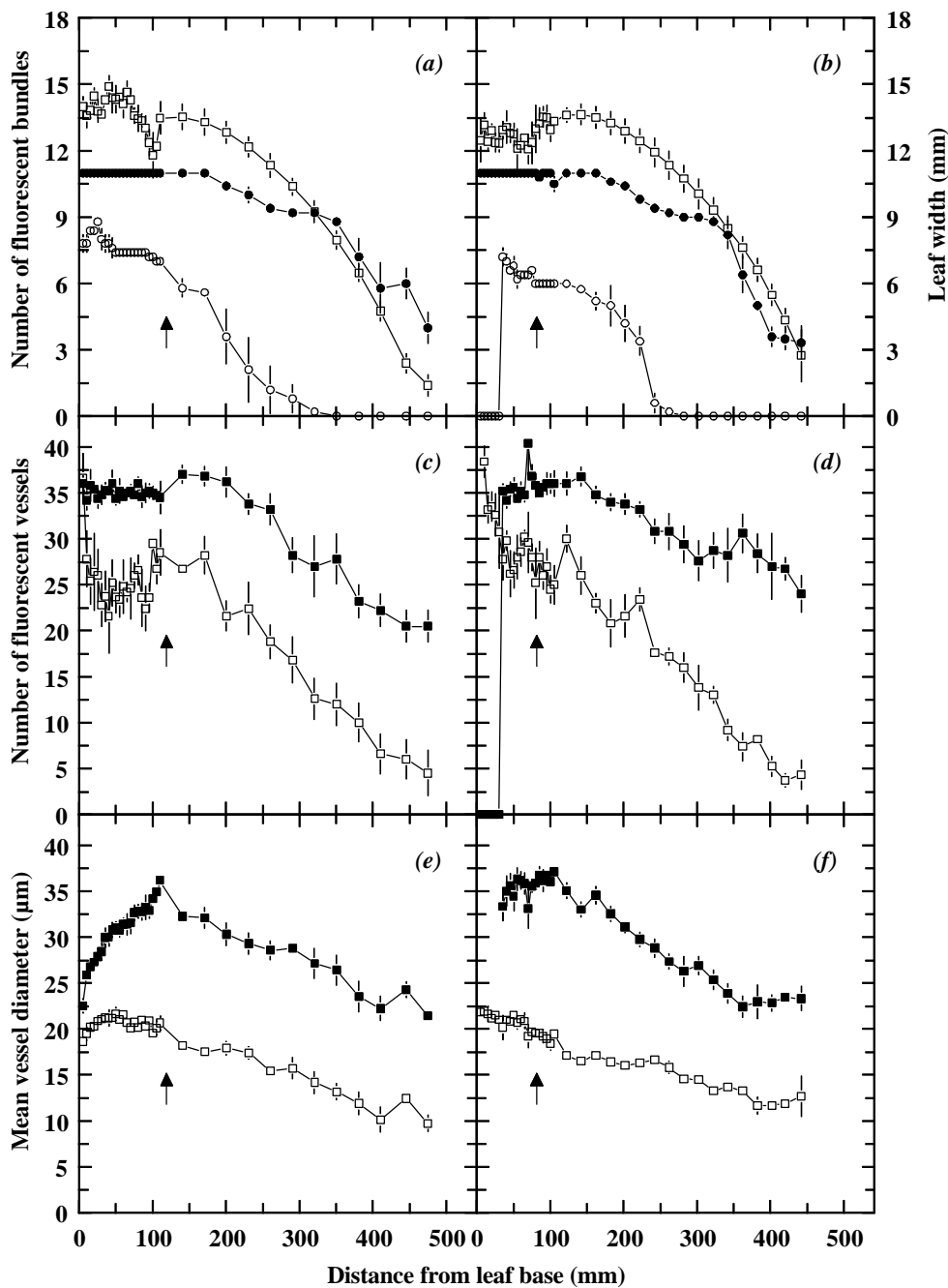
### Anatomical data

Three classes of longitudinal bundles were defined in cross-section following the Ellis classification (1976): large (containing PX, LMX and NMX vessels), intermediate (containing LMX and NMX vessels) and small (containing only NMX vessels). Since it was found that NMX contributed to only 3% of  $K_h$  (Martre *et al.*, 1999b) they were not taken into account in this study. Hence, small bundles were also not taken into account as they contained only NMX vessels.

In L<sub>1</sub>, the number of large bundles was constant along the sheath and was the same for the five leaves studied (Fig. 4a). Along the blade it decreased from 11 $\pm$ 0 to 4.0 $\pm$ 0.7. The number of intermediate bundles was almost constant in the sheath, but it decreased in the blade from 7.4 $\pm$ 0.3 to 0 at 350 mm from the base. Virtually all bundles of the sheath continued downward into the node. Within the leaf moreover, all vessels were continuous and showed no diameter variations at the blade joint. Leaf width was maximum, and constant from the base to 85 mm, then decreased substantially from the blade joint to the tip (Fig. 4a). Hence, the mean distance between two intermediate or large bundles was almost constant along the blades, and close to 920 $\pm$ 29  $\mu$ m. The number of LMX and PX vessels remained almost constant in the sheath but decreased

substantially from the blade joint to the tip (Fig. 4c). The mean diameter of LMX vessels was maximum ( $36.2 \pm 0.5 \mu\text{m}$ ) near the blade joint (Fig. 4e). The mean diameter of PX vessels decreased along the leaf from  $18.6 \pm 0.3$  at the base to  $9.7 \pm 0.9 \mu\text{m}$  near the tip.

In  $L_2$ , results were nearly the same. However, as  $L_2$  was still elongating there was neither any fluorescent intermediate bundle nor, hence, LMX vessel, in the basal 30 mm of the leaf. (Fig. 4b, d). The first fluorescent LMX vessels were observed at 30 mm, which roughly corresponded to the end of the elongation zone of  $L_2$  (Table 1). As could be seen in cross-section, LMX were not functional at least until 40 mm from the base, inasmuch as the thickness of its wall still increased.

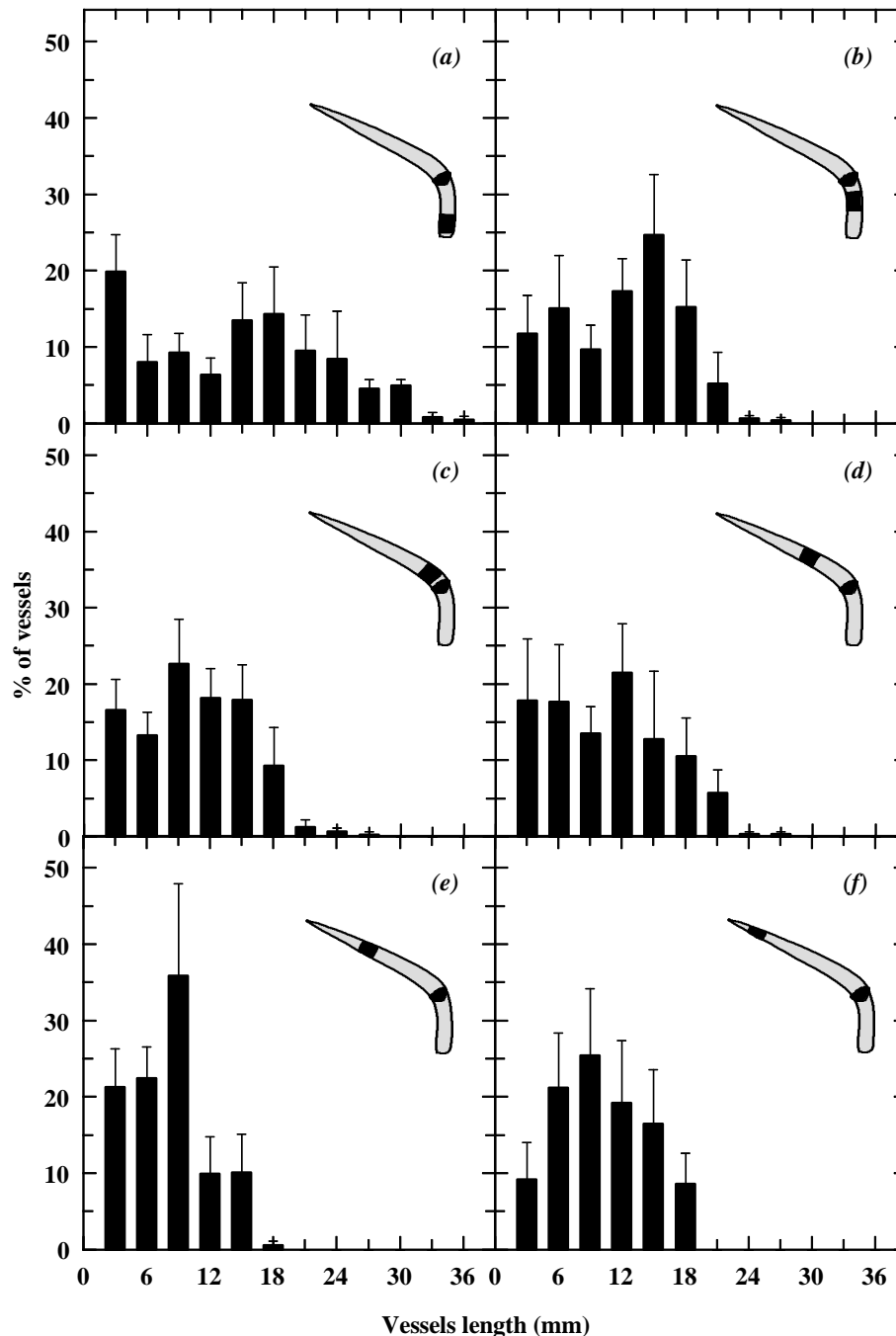


**Figure 4**

Number of large (●) and intermediate (○) bundles containing at least one fluorescent vessel (a, b). Number (c, d) and mean diameter (e, f) of LMX (■) and PX (□) fluorescent vessels in relation to their position along  $L_1$  (a, c, e) and  $L_2$  (b, d, f) leaf blades of tall fescue. Vertical arrows indicate the position of the blade joint (at 110 mm and 75 mm from leaf base, respectively, for  $L_1$  and  $L_2$ ). Data are means  $\pm$  SEM for  $n = 5$ .

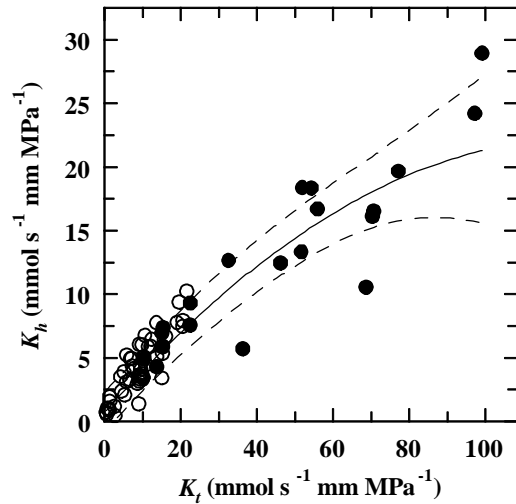


Vessel length distribution histograms in sheath and blade of  $L_1$  are given in Figure 5. In sheaths, vessel length decreased slightly from the base (approximately 14 mm mean length) toward the tip of the sheath (approximately 12 mm mean length). In the blade, the mean vessel length was close to 10 mm. The frequency distributions of vessel lengths found was much closer to a normal distribution than is generally reported in woody species, where the vessel distributions are highly asymmetrical with many more shorter than longer vessels (Zimmermann, 1983; Kolb & Sperry, 1999).



**Figure 5**

Frequency distributions of vessels length class at different position along mature leaf of tall fescue, measured by paint perfusion technique. Leaf segment were taken in the sheath at 5 (a) and 50 mm (b) from the leaf base, and in the blade at 5 (c), 85 (d), 170 (e), and 250 mm (e) from the ligule. Leaf charts in each graph indicates the approximation position of leaf segment. Data are means  $\pm$  SEM for  $n = 8$ .



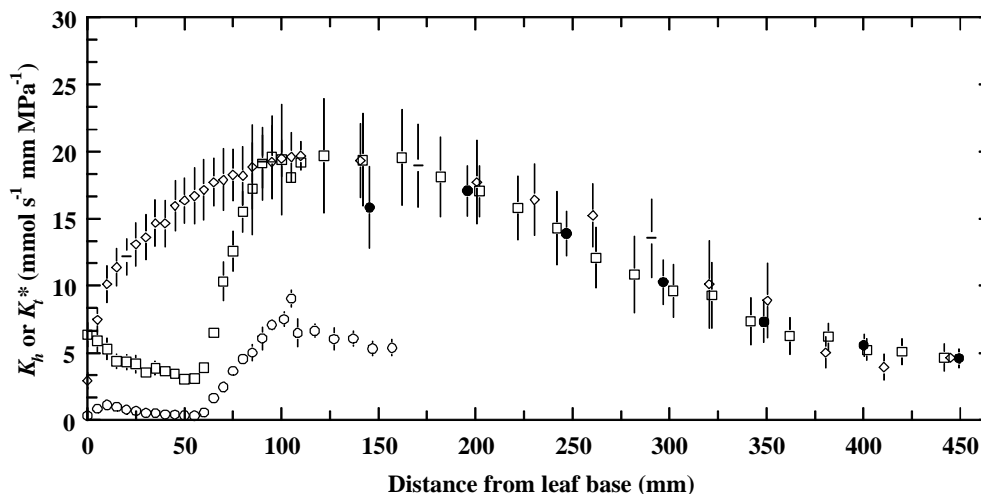
**Figure 6**

The relationship between theoretical ( $K_t$ , predicted from Poiseuille equation for ideal capillaries) and measured ( $K_h$ ) axial hydraulic conductivity of tall fescue mature leaf blades (●). Each point represents a single segment.  $K_h$  was measured in 30 mm long segments.  $K_t$  was computed from the measurements of individual vessel lumen diameter in cross-sections taken from the middle of the segment where  $K_h$  was previously measured. All fluorescent PX and LMX vessels in a cross-section were measured. Points from  $L_3$  (○) are reported from Martre *et al.* (1999b). The solid line represents non-linear regression for  $L_1$  and  $L_3$  ( $y = (-0.0021x + 0.40)x$ ,  $r = 0.92$ ,  $p < 0.05$ ), and dashed lines are 95% confidence intervals.

### Axial hydraulic conductivity

In  $L_1$  leaf blades  $K_h$  calculated from measured flow rate and pressure gradient ranged between 4 and 29  $\text{mmol mm s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$  (Fig. 6). The relationship between  $K_h$  and  $K_t$  predicted from vessel-lumen diameters using Poiseuille equation was not linear. The  $K_t/K_h$  ratio slightly increased for large vessel diameters, and  $K_t$  overestimated  $K_h$  by about 70%. A single curvilinear relationship ( $R = 0.93$ ) was found between  $K_t$  and  $K_h$ :

$$y = (-0.0021 \cdot x + 0.4087) \cdot x \quad (6)$$



**Figure 7**

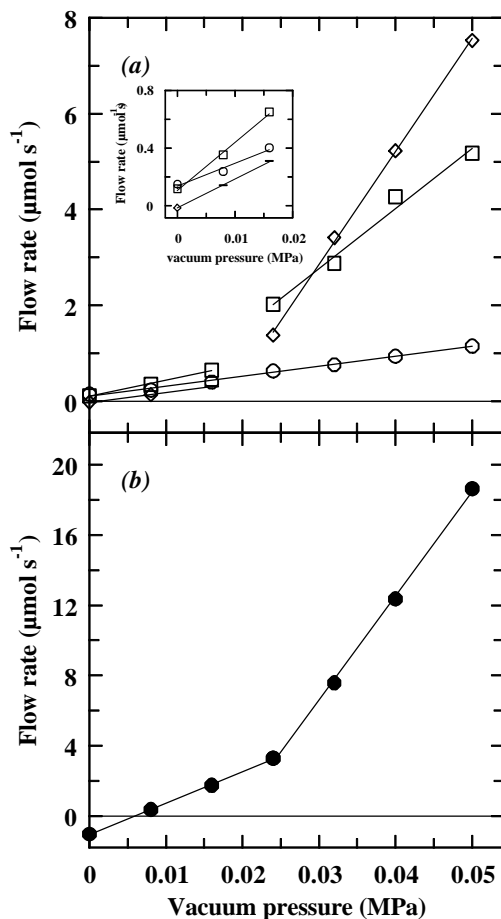
Measured axial hydraulic conductivity of the xylem ( $K_h$ ), of  $L_1$  (●) and corrected theoretical axial hydraulic conductivity ( $K_i^*$ ) of  $L_1$  (◇),  $L_2$  (□), and  $L_3$  (○) in relation to their position along elongating leaf blades of tall fescue.  $K_h$  was measured on 30 mm long segments.  $L_1$ ,  $L_2$ , and  $L_3$  leaves for  $K_i^*$  computation were taken from the same tillers, see text for details of  $K_i^*$  computation. Data are means  $\pm$  SEM (represented by vertical bars, except when smaller than the symbol) for  $n = 5$  to 8. Points from  $L_3$  are reported from Martre *et al.* (1999b).

This equation was used to convert the conductivity derived from anatomical data into a conductivity ( $K_t^*$ ) closer to the true value. In  $L_1$ ,  $K_t^*$  substantially increased up the sheath from  $1.9 \pm 0.6 \text{ mmol s}^{-1} \text{ mm MPa}^{-1}$  at the leaf base to  $19.7 \pm 1.8 \text{ mmol s}^{-1} \text{ mm MPa}^{-1}$  near the blade joint where it was maximal (Fig. 7). It decreased in the same extent along the blade. Along the emerged part of  $L_2$  blade (*i.e.* beyond 110 mm from the base)  $K_t^*$  values were close to that of  $L_1$  blade. In the blade of  $L_1$ , where  $K_h$  was measured it agreed well with both  $L_1$  and  $L_2$   $K_t^*$ , which indicated that the two batches of plants were comparable. In the basal 75 mm of  $L_2$   $K_t^*$  differed greatly from that of  $L_1$  because of the large proportion of non-functional LMX vessels in non-mature tissues. It was shown that the location of the first lignified LMX vessels was closely correlated to the length of the elongation zone (Goodwin, 1942; MacAdam, 1988; Paolillo & Rubin, 1991). Thus, the assumption on the pattern of xylem maturation in  $L_2$  would not result in an error greater than 5 mm, since the length of the elongation zone of  $L_2$  was only 5 mm shorter than that of  $L_3$  (Table 1).

The tip of  $L_1$  and  $L_2$  were similar to the tip of  $L_3$  (Fig 7). Hence, viewed as three stages of development of one leaf,  $L_3$ ,  $L_2$ , and  $L_1$  also provided a temporal description of the setting of hydraulic architecture in a single leaf.

*Total hydraulic conductance of emerged leaf blades*

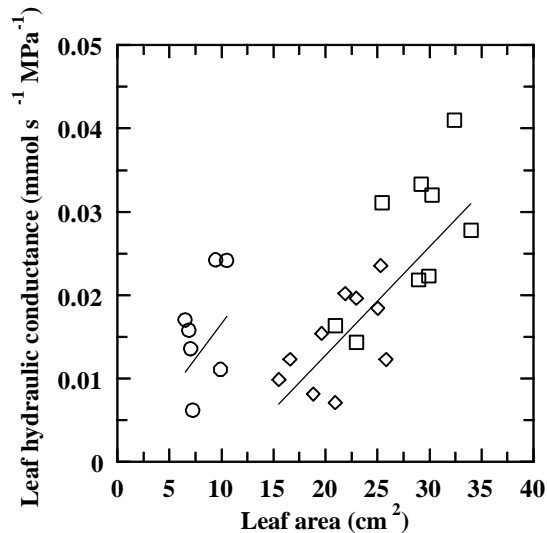
Pressure-flow curves for typical vacuum experiments are presented in Figure 8a. The flow at nil pressure was close to zero. In  $L_1$  and  $L_2$ , two straight lines could clearly be represented by the relationship. The pressure at which the slope changed ( $P_{sat}$ ) was in all



**Figure 8**  
Representatives plots of vacuum pressure and the corresponding flow rate measured on  $L_1$  ( $\diamond$ ),  $L_2$  ( $\square$ ) and  $L_3$  ( $\circ$ ) leaf blades (a), and entire root system (b) of tall fescue. Each point is a measured flow rate for a given vacuum pressure. The slope is equal to the hydraulic conductance.

trials between 0.016 and 0.024 MPa. It was observed that while the slope changed, the inter-vascular tissues became hyaline and flooded with water. In L<sub>3</sub> however, the relationship was not statically better fitted to two straight lines than to one unique line (Fig 8a).

A unique linear relation held between  $Lp_{blade}$  and the leaf area in the canister for L<sub>1</sub> and L<sub>2</sub> (Fig. 9). In contrast, L<sub>3</sub> exhibited a higher conductance relative to the leaf surface area, and was weakly related to the leaf surface area.



**Figure 9**

Hydraulic conductance of L<sub>1</sub> (◇), L<sub>2</sub> (□), and L<sub>3</sub> (○) leaf blades of tall fescue versus leaf area. Each point is a separate leaf blade. The solid line represents linear regression for L<sub>1</sub> and L<sub>2</sub> ( $y = 0.0013x + 0.013$ ,  $r = 0.80$ ), and dotted line represents linear regression for L<sub>3</sub> ( $y = 0.0017x + 1.67 \cdot 10^{-5}$ ,  $r = 0.47$ ).

To compare the conductance of the different organs, the slope of the pressure/flow line was divided by the projected area of evaporative surface stream down in the organ, *i.e.* leaf blade surface area in the canister for leaves ( $Lp_{blade}^{A_l}$ ) and total plant leaf blade surface area for root ( $Lp_{blade}^{A_{pl}}$ ). The initial  $Lp_{blade}^{A_l}$  in L<sub>1</sub> and L<sub>2</sub> was, respectively,  $6.6 \pm 0.7$  and  $8.9 \pm 0.8 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2} \text{MPa}^{-1}$  and it increased by 25 and 8 times beyond  $P_{sat}$  (Table 2). The average  $Lp_{blade}^{A_l}$  of L<sub>3</sub> was  $19.6 \pm 2.9 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2} \text{MPa}^{-1}$ , and it increased two folds only beyond  $P_{sat}$ .

The different results on L<sub>3</sub> revealed that this value was probably due to an artefact and corresponded to an intercellular pathway, as the intercellular air space appeared air filled at the onset of the experiments.

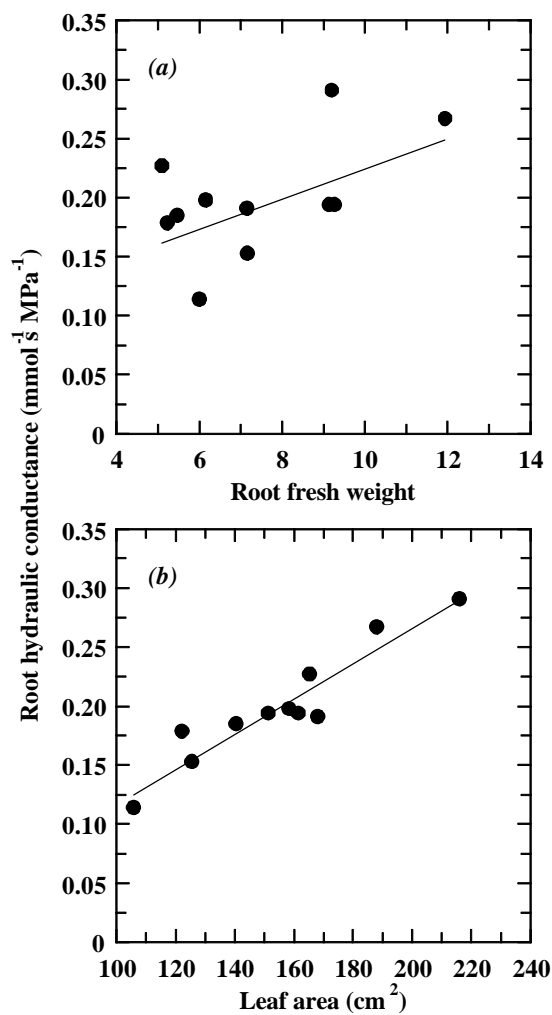
**Table 2** Leaf blades ( $Lp_{blade}^{A_l}$ ) root systems ( $Lp_{root}^{A_{pl}}$ ) hydraulic conductance, and radial leaf blades hydraulic conductance ( $Lp_r$ ) of tall fescue, normalised by projected leaf surface area. Data are means  $\pm$  SEM for  $n = 8$  to 11. Means with different superscripts are significantly different at  $P < 0.05$  from Student *t*-test.

	$Lp_{blade}^{A_l}$ or $Lp_{root}^{A_{pl}}$ ( $\text{mmol s}^{-1} \text{m}^{-2} \text{MPa}^{-1}$ )		$Lp_r$ ( $\text{mmol s}^{-1} \text{m}^{-2} \text{MPa}^{-1}$ )	$\frac{Lp_{blade}^{A_l}}{Lp_r}$
	0 MPa to $P_{sat}$	$P_{sat}$ to 0.5 MPa		
L <sub>1</sub> blade	$6.6 \pm 0.7^a$	$152.2 \pm 18.0^d$	$7.2 \pm 0.8^a$	0.92
L <sub>2</sub> blade	$8.9 \pm 0.8^b$	$64.9 \pm 16.2^e$	$10.35 \pm 1.0^b$	0.86
L <sub>3</sub> blade	$19.6 \pm 7.0^{c,f}$	$34.0 \pm 8.6^{c,f}$	$21.2 \pm 7.9^{c,f}$	0.92
Root	$12.3 \pm 0.7^f$	$59.1 \pm 8.1^g$	-	-

### Total hydraulic conductance of entire roots system

In all experiments with roots, the initial flow rate was negative (Fig. 8b), indicating that the root was losing water in the direction of the solution reservoir, *i.e.* that root pressure was higher than atmospheric pressure. The magnitude of the water flux at 0 MPa ranged between 1 to 3  $\mu\text{mol s}^{-1}$ . The vacuum pressure at which the slope changed was more variable than in blades, between 0.008 and 0.04 MPa.

$Lp_{root}$  was closely related to the leaf surface area of the plant, but not with the fresh root weight (Fig. 10). As root fresh weight was closely correlated with root dry weight (data not shown),  $Lp_{root}$  was not related to root dry weight either. Initial  $Lp_{root}^{A_{pl}}$  was  $12.27 \pm 0.71 \text{ mmol s}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ MPa}^{-1}$ , and after  $P_{sat}$  it increased by about 5 folds (Table 2).



**Figure 10**

Hydraulic conductance of entire root systems of tall fescue versus fresh weight of entire root systems (a), and versus total leaf area of the plant (b). Each point is a separate root system. The line represents linear regression (in a,  $y = 0.012x + 0.09$ ,  $r = 0.55$ ; and in b,  $y = 0.0015x + 0.032$ ,  $r = 0.942$ ,  $p < 0.05$ ).

### DISCUSSION

According to equation (1), a correct prediction of the water potential gradients in plant, under steady state conditions, requires correct estimates of both  $Q$  and  $K_h$ .

Since the same relation between  $E$  and leaf area held for individual leaf and whole tiller, leaf blade excision or covering did not seem to alter the transpiration of the remaining transpiring blades, contrary to what has been found in sugarcane (Meinzer &

Grantz, 1990).  $E$  of the mature and elongating leaves were not significantly different (Table 2). We have not found any published measurement of  $E$  of elongating grass leaves, but, because elongating leaves are vertical and still partially rolled, it was generally considered to be low. In the present experiment,  $E$  of  $L_2$  and  $L_3$  elongating leaves were rather close to that of mature one. This was probably due to a large flux of diffuse radiation in the growth cabinet and it revealed a smaller aerodynamic resistance of erected leaves.

The Poiseuille equation has been widely used to predict the conductivity in the xylem. Results however have been variable, with measured conductivity and flows ranging from 20 to 100% of theoretical values (*e.g.* Dimond, 1966; Calkin, Gibson & Nobel, 1986; Hargrave *et al.*, 1994). In tall fescue the actual conductivity was only 20% of the theoretical value. The discrepancy between  $K_h$  and  $K_t$  might be due to the short vessel length and to the low conductance of the pit membrane. For example in fern, tracheids pit membranes at the vessels end would comprise 70% of the total resistance to water flow and this would account entirely for the discrepancy between  $K_t$  and  $K_h$  (Gibson *et al.*, 1985).

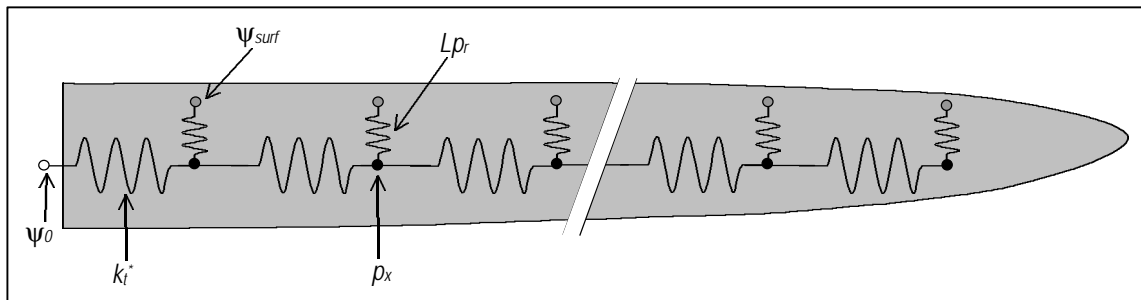
We found large variations of  $K_t^*$  along mature and elongating leaves. In mature leaves these variations reflected changes in vessels number and diameter. In elongating leaves the pattern of  $K_t^*$  reflected the developmental stage and the maturation of the xylem conduits (Martre *et al.*, 1999b).

During vacuum-driven flow experiments, a rapid increase in leaf blade conductance was found above a pressure gradient ( $P_{sat}$ ) consistently comprised between 0.016 and 0.024 MPa. The blade then turned hyaline and dye colorations confirmed that the extracellular spaces indeed became filled with water (data not shown). In tall fescue leaves, the aerenchyma is particularly developed. It forms a continuous air space network from the cut leaf base to the stomatal chambers. For a low-pressure gradient, the aerenchyma is air filled and does not conduct any water. Above  $P_{sat}$  however, water gains access to the extracellular air spaces and moves through them, hence causing an artefactual longitudinal water movement. According to Jurin's law, this threshold pressure would correspond to a pore diameter of *c.* 15  $\mu\text{m}$ , which was consistent with our observations of the intercellular spaces (data not shown). In roots,  $P_{sat}$  was more variable (between 0.008 and 0.04 MPa), but the same conclusion could be drawn (Passioura, 1988). As a consequence, the hydraulic conductance *ante*  $P_{sat}$  was considered as the 'true' conductance.

$Lp_{blade}^{A_l}$  values of  $L_1$  were in agreement with values found in mature blades of tall fescue in pressure efflux experiments (*c.* 5.5  $\text{mmol s}^{-1} \text{m}^{-2} \text{MPa}^{-1}$ , Stroshine *et al.*, 1985). Améglio *et al.* (1998), on peach tree, and Moreshet *et al.* (1990) on soybean, cotton, citrus, and avocado, have also reported similar values of  $Lp_{blade}^{A_l}$ .

The hydraulic conductance of the root system was weakly related to its fresh or dry weight (Fig. 10a). This might be due to the fact that  $Lp_{root}$  was not constant along its length (Sanderson, 1983; Frensch & Steudle, 1989; Doussan, Vercambre & Pagès, 1999). Conversely,  $Lp_{root}$  was closely related to the leaf surface area that it supported (Fig. 10b). As discussed in details by Tyree, Velez & Dalling (1998), scaling  $Lp_{root}$  by leaf surface area provides an estimate of the intrinsic efficiency of the root system to supply water to leaves, and permit comparison of absolute root conductance and leaf conductance.  $Lp_{blade}^{A_l} / Lp_{root}^{A_{pl}}$  ratio was about 0.6, which indicated that the main of the resistance within the plant was located in the blade. This compared favourably with the results of Boyer (1974) and Black (1979) on sunflower.

The whole leaf conductance ( $Lp_{blade}$ ) represents the total conductance of a network including axial conductances in series and radial conductances in parallel. In this study, the former conductance was measured ( $K_i$ ) or estimated ( $K_i^*$ ). The latter one represents the extravascular conductance from the vessels to the evaporative surface within the mesophyll air spaces, and could not be directly measured. As the distance between the vessels and the bundle did not vary along the blade, it was assumed that the leaf specific radial hydraulic conductance was constant along the blade,  $Lp_r$  ( $\text{mmol s}^{-1} \text{m}^{-2} \text{MPa}^{-1}$ ), then it is possible to analytically compute  $Lp_r$  from  $Lp_{blade}^{A_i}$  and  $K_i^*$  measurements. For that, blades representative of L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub> and L<sub>3</sub> are discretised into 5 mm long segments whose axial and radial conductances were  $K_i^*$  and  $Lp_r$  (Fig. 11). A computer simulator based on the algorithm developed by Tyree (1988) for the dynamic solution of water flow in tree is used to solve for flow and water potential across the network of conductors. Each conductance was assigned an arbitrary capacity, set equal to  $50 \text{ mmol m}^{-2} \text{MPa}^{-1}$ . The program computed non-steady solution by iterations until the rate of water flow into the leaf equalled the rate of water flow out of the leaf, which was the condition that defined conservative flux. The model was run for boundary conditions representative of a leaf measured in the vacuum canister: (i) water potential at the leaf base set to 0 MPa, (ii) water potential at the liquid-vapour interface, within the mesophyll air spaces, equal to the vacuum pressure in the canister (0.016 MPa).  $Lp_r$  was initially set equal to an arbitrary value taken close to  $Lp_{blade}^{A_i}$  of L<sub>1</sub> and gradually increased until the observed flow rate was obtained.

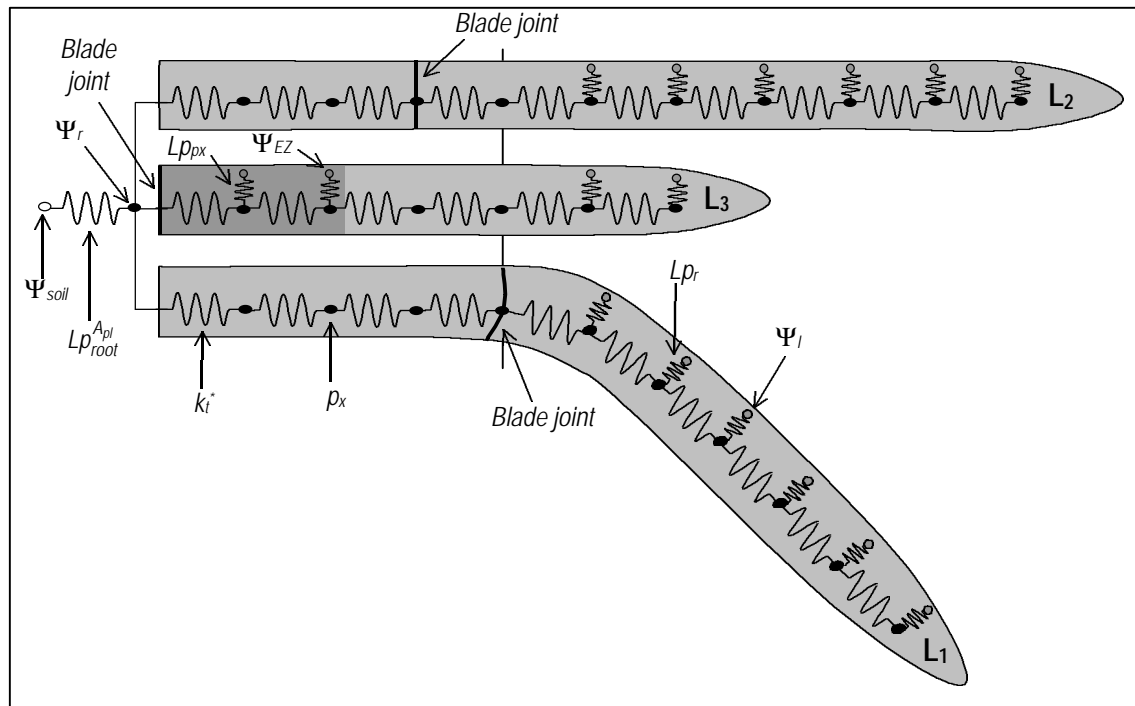


**Figure 11**

Diagram of the electrical analogue used for the computation of  $Lp_r$  of tall fescue leaf blades. The blade was divided into 5 mm long elements. Axial water flow occurred along axial conductor,  $K_i^*$ , connected in series. Radial water flow occurred along radial conductor,  $Lp_r$ , connected in parallel at the end of each axial element. The water potential are  $\Psi_0$  at the basal end of the blade,  $P_x$  at the end of an axial conductor, and  $\Psi_{surf}$  at end of a radial conductor (representing the site of water evaporation in the 'mesophyll'). Each axial and radial conductor are 5 mm long, and radial conductor have a surface area that varied along the blade according to the blade surface area. Each conductor were assigned an arbitrary capacitance set equal to  $50 \text{ mmol m}^{-2} \text{MPa}^{-1}$ .  $\Psi_0$  and  $\Psi_{surf}$  are given boundary conditions, whereas the water outflow and  $P_x$  are the unknowns. The rate of evaporation from each radial element is represented by a constant current source, and is given by  $EA_i$ , where  $E$  is the evaporative flux density, and  $A_i$  is the surface area of the  $i^{\text{th}}$  radial element.

The calculated values of  $Lp_r$  for L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, and L<sub>3</sub> were, respectively,  $7.2 \pm 0.8$ ,  $10.3 \pm 1.0$ , and  $21.2 \pm 7.9 \text{ mmol s}^{-1} \text{m}^{-2} \text{MPa}^{-1}$  (Table 2). Given the extracellular air space flooding at the onset of L<sub>3</sub>  $Lp_{blade}$  measurements,  $Lp_r$  of that leaves was probably overestimated. The average  $Lp_{blade}^{A_i} / Lp_r$  ratio was  $0.90 \pm 0.02$  (Table. 2), which indicated that most of the resistance within the blade was located in the radial extraxylary pathway. This was consistent with the results of Tyree & Cheung (1977) who found that more than 90% of the hydraulic resistance in the leaf blade of beech tree was in the liquid extraxylary

pathway. However, Wei *et al.* (1999), using high-pressure flow meter (HPFM) technique in the maize leaf, found an axial conductance 30 % smaller than radial conductance.



**Figure 12**

A simplified discretised electric analogue of tall fescue hydraulic architecture used for water potential computations.

The root is represented by a single conductor,  $Lp_{root}^{Apl}$ , which includes the leaves insertion resistances. Each of the three leaves are divided into 5 mm long conductor. Water is transported in the leaves through a set of axial conductors,  $K_i^*$ , and in the emerged part of the blades, from the axial conductors (representing the xylem) to the evaporative sites, through a radial conductor,  $Lp_r$ . In the EZ of L<sub>3</sub> (shaded area of L<sub>3</sub>) growth associated flow occurred along radial conductor,  $Lp_{px}$ . The water potential are  $\Psi_{soil}$  at the root surface,  $P_x$  at the end of a  $K_i^*$  conductor,  $\Psi_r$  at the root-leaf junction,  $\Psi_i$  at the end of a  $Lp_r$  conductor, and  $\Psi_{ez}$  at the end of a  $Lp_{px}$  conductor.  $\Psi_r$ ,  $P_x$ ,  $\Psi_{ez}$ , and  $\Psi_i$  are unknown and  $\Psi_{soil}$  is a given boundary condition. The rate of evaporation from each radial element is also needed as boundary condition, and is given by  $E A_i$ , where  $E$  is the evaporative flux density, and  $A_i$  is the surface area of the  $i^{th}$  radial element.

Another use of the same simulation method was made for computing the water potentials expected at different points of the hydraulic network while the tiller was transpiring. The electric analogue model of the tiller with three leaves is shown on figure 12. Each of the three leaves was divided into 5 mm long elements and assigned a radial and axial conductance. No radial conductance was assigned to the sheath of L<sub>1</sub> and L<sub>2</sub> as their transpiration and elongation rates were close to zero. A single conductor represented the roots and leaves insertion conductances. The total number of elements was 399. In each segment of the leaf blades, the axial conductivity was set equal to the relevant  $K_t^*$  or  $Lp_r$ . As the value for L<sub>3</sub> was probably overestimated, the  $Lp_r$  of L<sub>2</sub> was used instead. The radial conductance associated with the growth sustaining water flux in the EZ of L<sub>3</sub> ( $Lp_{px} = 6.5 \text{ mmol s}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ MPa}^{-1}$ , normalised by the surface area of PX wall) was calculated by Martre *et al.* (1999b) and used here. This resulted in a variable radial conductance along the growth zone changing with the total perimeter of PX vessels.



Input variables were, (i) the water potential of the root surface (0 MPa), (ii) the transpiration fluxes measured in the growth cabinets using the covering experiments from measurements of  $E$  (Table 1) and leaf segment width (Fig 4), (iii) the growth sustaining water flux in the  $EZ$  of  $L_3$ . Given the low  $LER$  of  $L_2$ , the radial flux in the growth zone was set to nil.

In  $L_3$ , the radial flux from PX vessels to the surrounding expanding cells was equal to the local water deposition rate ( $d_{water}$ ,  $\text{mmol mm}^{-1} \text{s}^{-1}$ ). Previous results (Martre *et al.*, 1999b) obtained on non-transpiring  $L_3$  leaves were combined with the  $LER$  measurements of this study. According to Schnyder & Nelson (1988), in tall fescue elongating leaves the spatial distribution of water content within the  $EZ$  was nearly steady during the dark and light period (Schnyder & Nelson, 1988). About 80% of the higher rate of water deposition during darkness were explained by the dark stimulation of  $LER$ . Therefore, actual light time  $d_{water}$  was calculated as:

$$d_{water}(x) = d_{water}^{dark}(x) \cdot \frac{LER}{LER_{dark}} \quad (7)$$

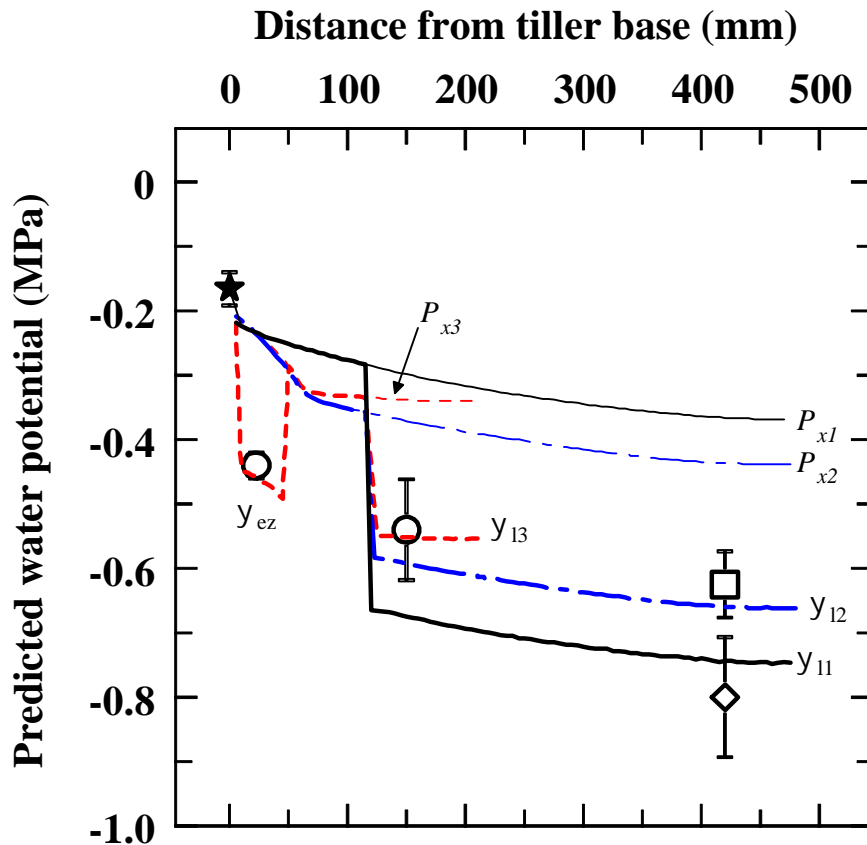
where  $d_{water}(x)$  was the actual water deposition rate at location  $x$ ,  $d_{water}^{dark}(x)$  was the water deposition rate at location  $x$  during the dark period,  $LER$  was the actual leaf elongation rate and  $LER_{dark}$  was the leaf elongation rate during the dark period. So,  $d_{water}^{dark}(x)$  and  $LER_{dark}$  measured by Martre *et al.* (1999b) in the one hand, and  $LER$  measured in this study on the other hand, were used for computing the radial flux in the growth zone of  $L_3$ .

The output variables were the total transpiration flux, the absorption flux, and the water potential of the xylem and of the ‘mesophyll’ of each mapped segment.

Despite uncertainties relatively to different variables, ( $K_t^*$ ,  $Lp_r$ ), the model of tiller proposed here appeared to be a fair representation of real hydraulic network. The predicted water potential values were within 10 % of the actual values measured with the pressure chamber or the psychrometer (Fig. 13). The predicted xylem water potential gradient along  $L_1$  was small ( $0.3 \text{ MPa m}^{-1}$ ) and nearly constant. In contrast, the low  $K_t^*$  in the basal region of the  $L_2$  and  $L_3$  leaves caused a larger  $P_x$  gradient from the base to 65 mm of the leaf ( $2.0 \text{ MPa m}^{-1}$ ). Beyond that point as for  $L_1$ ,  $P_x$  gradient was small and essentially constant ( $0.2 \text{ MPa m}^{-1}$ ). This confirms that the basal region of elongating leaves represented a hydraulic constriction that limits the axial water movement. In transpiring parts of the leaf blades, the model predicted a large (up to 0.3 MPa) and near constant radial water potential difference between the xylem vessels and the surrounding tissue. Indeed, the actual water potential measured using a pressure chambers on leaf blade was within 10 % of the predicted value, indicating that such measurements reflected mainly the mesophyll water potential. This was expected as the volume of water in the xylem is negligible compared to the bulk of water in the leaf. Hence, about 40 % of the water potential drop within the plant occurred in the blade in only a few millimeters. This was consistent with the results of Melcher *et al.* (1998) on transpiring maize and sugarcane leaves. As a consequence,  $\Psi_l$  difference between the blade joint and the tip was small ( $<0.08 \text{ MPa}$ ) in the exposed part of the leaves. This was also found by Slatyer (1967 pp 282-285), who measured in the field a water potential drop of 0.2-0.3 MPa along a bulrush millet lamina 70 cm long.

One can see in the hydraulic architecture of the tall fescue leaf a design that may optimise the xylem water availability for transpiration along the blade. Because (i) the axial water potential gradient is small in the xylem and (ii) the radial water potential

gradient is large in the mesophyll, tissues located at the most distal part of the blade are only little disfavoured. Thus, the hydraulic architecture of tall fescue leaf exhibited similar proprieties to the hydraulic architecture of a tree (Tyree & Ewers, 1996; Cochard *et al.*, 1997). Where the branch leaf area and  $K_h$  are adjusted in such a way that the leaf



**Figure 13**

Computed profiles of xylem pressure and 'mesophyll' water potential versus distance from tiller base in L<sub>1</sub> (-), L<sub>2</sub> (- · -), and L<sub>3</sub> (-) leaves of tall fescue, as predicted from root system and leaf axial and radial hydraulic conductances and leaves transpiration and elongation rates. Measured values of water potential are reported (means  $\pm$  SEM, n=10 to 12) for roots ( $\star$ ), L<sub>1</sub> ( $\diamond$ ), L<sub>2</sub> ( $\square$ ), and L<sub>3</sub> ( $\circ$ ).

gas exchange and the water potential can remain constant along the trunk.

The measured water potential in the growth zone was  $-0.44 \pm 0.02$  MPa, *i.e.* very close to the computed values. These values were 0.1 MPa lower than those found by Martre, Bogeat-Triboulot & Durand (1999a) in the growth zone of a non-transpiring leaf measured on similar tillers using a pressure probe. The predicted growth-induced water potential difference between the xylem and the surrounding expanding cell was close to 0.2 MPa, which was also 0.1 MPa lower than that measured by Martre *et al.* (1999a). The lower difference found here corresponded to a reduction of water availability for cell enlargement. The sharp reduction of water availability for cell enlargement while the plant transpires may be a primary cause of the depressive effect of the transpiration on *LER*.

One must notice that the physical nature of  $Lp_r$  in the growth zone and the mature leaf blades are very different. In the mature leaf blades,  $Lp_r$  strictly reflected the permeability of the tissues to water. In the growth zone,  $Lp_r$  reflected both the ability of cells to conduct water and the resistance that yielding walls opposed to the growth-

induced water flux (Lockhart, 1965). A more complete modelling of the growth zone elements would be necessary to clearly distinguish the extensibility from the “real” conductivity of growing tissues.

Transient and non-conservative situations of transpiration could not be modelled here because the water storage capacitances of the different compartment were not measured. Further experiments would be required to study the relevant mechanical properties, associated with water storage on mature and growing tissues, in order to model non steady state conditions. It may also be necessary to consider the role of this hydraulic properties not as constant, but as variables over short and long period, due to xylem cavitation (Tyree *et al.*, 1986; Tyree & Sperry, 1988), and change of apparent root hydraulic conductance with the water flow rate (Steudle, 1993).

#### REFERENCES

- Améglio T, Cochard H, Picon C, Cohen M. 1998.** Water relations and hydraulic architecture of peach trees under drought conditions. *Acta Horticultarea* **465**: 355-361.
- Black CR. 1979.** The relative magnitude of the partial resistances to transpirational water movement in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Journal of Experimental Botany* **30**: 245-253.
- Boyer JS. 1974.** Water transport in plants: mechanism of apparent changes in resistance during absorption. *Planta* **117**: 187-207.
- Boyer JS. 1977.** Regulation of water movement in whole plants. In: Jennings HD, ed. *Integration of activity in the higher plant*. Symposia of the society for experimental biology. **31**: 455-470.
- Boyer JS. 1995.** *Measuring the water status of plants and soils*. San Diego: Academic press.
- Calkin HW, Gibson AC, Nobel PS. 1986.** Biophysical model of xylem conductance in tracheids of the fern *Pteris vittata*. *Journal of Experimental Botany* **37**: 1054-1064.
- Cochard H, Peiffer M, K. LG, Granier A. 1997.** Developmental control of xylem hydraulic resistances and vulnerability to embolism in *Fraxinus excelsior* L.: impacts on water relations. *Journal of Experimental Botany* **48**: 655-663.
- Denmead OT, Millar BD. 1976.** Water transport in wheat plants in the field. *Agronomy Journal* **68**: 297-303.
- Dimond AE. 1966.** Pressure and flow relations in vascular bundles of the tomato plant. *Plant Physiology* **41**: 119-131.
- Doussan C, Vercambre G, Pagès L. 1999.** Water uptake by two contrasting root systems (Maize, peach tree): results from a model of hydraulic architecture. *Agronomie* **19**: 255-263.
- Ellis RP. 1976.** A procedure for standardizing comparative leaf anatomy in the *Poaceae*. I. The leaf-blade as viewed in transverse section. *Bothalia* **12**: 65-109.
- Erickson RO. 1976.** Modeling of plant growth. *Annual Review of Plant Physiology* **27**: 407-434.
- Ewers FW, Fisher JB. 1989.** Techniques for measuring vessel lengths and diameters in stems of woody plants. *American Journal of Botany* **76**: 645-656.
- Frensch J. 1997.** Primary responses of root and leaf elongation to water deficits in the atmosphere and soil solution. *Journal of Experimental Botany* **48**: 985-999.
- Frensch J, Steudle E. 1989.** Axial and radial hydraulic resistance to roots of maize

- (*Zea mays* L.). *Plant Physiology* **91**: 719-726.
- Gibson AC, Calkin HW, Nobel PS. 1985.** Hydraulic conductance and xylem structure in tracheid-bearing plants. *International Association of Wood Anatomists Bulletin* **6**: 293-302.
- Giordano R, Salleo A, Salleo S, Wanderlingh F. 1977.** Flow in xylem vessels and Poiseuille's law. *Canadian Journal of Botany* **56**: 333-338.
- Goodwin RH. 1942.** On the development of xylary elements in the first internode of avena in dark and light. *American Journal of Botany* **29**: 818-828.
- Hargrave KR, Kolb KJ, Ewers FW, Davis SD. 1994.** Conduit diameter and drought-induced embolism in *Salvia mellifera* greene. *The New Phytologist* **126**: 695-705.
- Hsiao TC. 1973.** Plant responses to water stress. *Annual Review of Plant Physiology* **24**: 519-570.
- Kolb KJ, Sperry JS. 1999.** Transport constraints on water use by the Great Basin shrub, *Artemisia tridentata*. *Plant Cell and Environment* **22**: 925-935.
- Kolb KJ, Sperry JS, Lamont BB. 1996.** A method for measuring xylem hydraulic conductance and embolism in entire root and shoot systems. *Journal of Experimental Botany* **47**: 1805-1810.
- Lewis AM, Boose ER. 1995.** Estimating volume flow rates through xylem conduits. *American Journal of Botany* **82**: 1112-1116.
- Lockhart JA. 1965.** An analysis of irreversible plant cell elongation. *Journal of Theoretical Biology* **8**: 264-276.
- MacAdam JCW. 1988.** *Cellular dynamics, peroxidase activity, and secondary cell wall deposition during tall fescue leaf blade development*. Ph. D. Thesis. University of Missouri, Columbia.
- Martre P, Bogeat-Triboulot MB, Durand JL. 1999a.** Measurement of a growth-induced water potential gradient in tall fescue leaves. *New Phytologist* **142**: 435-439.
- Martre P, Durand JL, Cochard H. 1999b.** Changes in axial hydraulic conductivity along elongating leaf blades in relation to xylem maturation in tall fescue. *New Phytologist* accepted.
- Meinzer FC, Goldstein G, Neufeld HS, Grantz DA, Crisosta GM. 1992.** Hydraulic architecture of sugarcane in relation to patterns of water use during plant development. *Plant, Cell and Environment* **15**: 471-477.
- Meinzer FC, Grantz DA. 1990.** Stomatal and hydraulic conductance in growing sugarcane: stomatal adjustment to water transport capacity. *Plant, Cell and Environment* **13**: 383-388.
- Melcher PJ, Meinzer FC, Yount DE, Goldstein G, Zimmermann U. 1998.** Comparative measurements of xylem pressure in transpiring and non-transpiring leaves by means of the pressure chamber and the xylem pressure probe. *Journal of Experimental Botany* **49**: 1757-1760.
- Melchior W, Steudle E. 1993.** Water transport in onion (*Allium cepa* L.) roots. Changes in axial and radial hydraulic conductivities during root development. *Plant Physiology* **101**: 1305-1315.
- Moreshet S, Huck MG, Hesketh JD, Peters DB. 1990.** Relationships between sap flow and hydraulic conductivity in soybean plants. *Agronomie* **10**: 381-389.
- Nonami H, Wu Y, Boyer JS. 1997.** Decreased growth-induced water potential. A primary cause of growth inhibition at low water potentials. *Plant Physiology* **114**: 501-509.
- North GB, Ewers FW, Nobel PS. 1992.** Main root-lateral junctions of two desert succulents: changes in axial and radial components of hydraulic conductivity during drying. *American Journal of Botany* **79**: 1039-1050.

- Paolillo DJ, Rubin G. 1991.** Relative elemental rates of elongation and the protoxylem-metaxylem transition in hypocotyls of soybean seedlings. *American Journal of Botany* **78**: 845-854.
- Passioura JB. 1988.** Water transport in and to roots. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **39**: 245-265.
- Sanderson J. 1983.** Water uptake by different regions of the barley root. Pathways of radial flow in relation to development of the endodermis. *Journal of Experimental Botany* **34**: 240-253.
- Schnyder H, Nelson CJ. 1988.** Diurnal growth of tall fescue leaf blades. I. Spatial distribution of growth, deposition of water, and assimilate import in the elongation zone. *Plant Physiology* **86**: 1070-1076.
- Slatyer RO. 1967.** *Plant-water relationships*. New York: Academic Press.
- Sperry JS, Donnelly JR, Tyree MT. 1988.** A method for measuring hydraulic conductivity and embolism in xylem. *Plant, Cell and Environment* **11**: 35-40.
- Sperry JS, Saliendra NZ, Pockman WT, Cochard H, Cruiziat P, Davis SD, Ewers FW, Tyree MT. 1996.** New evidence for large negative xylem pressure and their measurement by the pressure chamber method. *Plant, Cell and Environment* **19**: 427-436.
- Steudle E. 1993.** Pressure probe: basic principals and application to studies of water and solutes relations at the cell, tissue and organ level. In: Smith JAC, Griffiths C, eds. *Water deficits, plant responses from cell to community*. bios Scientific Publishers. 5-36.
- Stroshine RL, Rand RH, Cooke JR, Cutler JM, Chabot JF. 1985.** An analysis of resistance to water flow through wheat and tall fescue leaves during pressure chamber efflux experiments. *Plant, Cell and Environment* **8**: 7-18.
- Tyree MT. 1988.** A dynamic model for water flow in a single tree: evidence that models must account for hydraulic architecture. *Tree Physiology* **4**: 195-217.
- Tyree MT. 1997.** The cohesion-tension theory of sap ascent: current controversies. *Journal of Experimental Botany* **48**: 1733-1753.
- Tyree MT, Cheung YNS. 1977.** Resistance to water flow in *Fagus grandifolia* leaves. *Canadian Journal of Botany* **55**: 2591-2599.
- Tyree MT, Ewers FW. 1991.** The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *The New Phytologist* **119**: 345-360.
- Tyree MT, Ewers FW. 1996.** Hydraulic architecture of woody tropical plants. In: Huckley SS, Chazdon RL, eds. *Tropical forest plant ecophysiology*. New York: Chapman and Hall. **8**: 217.
- Tyree MT, Fiscus EL, Wullschleger SD, Dixon MA. 1986.** Detection of xylem cavitation in corn under field conditions. *Plant Physiology* **82**: 597-599.
- Tyree MT, Sperry JS. 1988.** Do woody plants operate near the point of catastrophic xylem dysfunction caused by dynamic water stress? *Plant Physiology* **88**: 574-588.
- Tyree MT, Velez V, Dalling JW. 1998.** Growth dynamics of root and shoot hydraulic conductance in seedlings of five neotropical tree species: scaling to show possible adaptation to differing light regimes. *Oecologia* **114**: 293-298.
- Van den Honert TH. 1948.** Water transport in plants as a catenary process. *Discussion of the Faraday Society* **3**: 146-153.
- Van Ieperen W, Madery H. 1994.** A new method to measure plant water uptake and transpiration simultaneously. *Journal of Experimental Botany* **45**: 51-60.
- Wei C, Tyree MT, Steudle E. 1999.** Direct measurement of xylem pressure in leaves of intact maize plants: a test of the cohesion-tension theory taken account of hydraulic architecture. *Plant Physiology* submitted.

- Westgate ME, Boyer JS. 1984.** Transpiration- and growth-induced water potentials in maize. *Plant Physiology* **74**: 882-889.
- Zimmermann MH. 1983.** *Xylem structure and the ascent of sap*. Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo: Springer-Verlag.
- Zimmermann MH, Jeje AA. 1981.** Vessel-length distribution in stems of some American woody plants. *Canadian Journal of Botany* **59**: 1882-1892.

## *CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES*

---

# *CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES*

## *CONCLUSIONS*

Ce travail a permis d'acquérir un certain nombre de résultats concernant l'architecture hydraulique des talles de fétuque élevée et son implication dans le couplage entre transpiration et croissance foliaire. En outre, nous avons développé une première modélisation de l'architecture hydraulique d'une talle, en condition de flux conservatif.

Jusqu'ici, les études de l'architecture hydraulique avaient principalement été conduites sur des espèces ligneuses. Les études menées dans le cadre de cette thèse ont donc permis d'élargir nos connaissances sur les relations hydriques chez une espèce herbacée. Notons que beaucoup de ces résultats dépassent d'ailleurs le cas de l'espèce étudiée. En effet, à la fois les techniques développées, ou adaptées aux plantes herbacées, au cours de ce travail, ainsi qu'une grande partie des résultats obtenus, peuvent être généralisées à un grand nombre d'espèces cultivées de graminées.

En ce qui concerne la feuille en croissance, la structure annelée du protoxylème et la maturation échelonnée dans le temps des vaisseaux permettent de maintenir une continuité hydraulique axiale le long de la zone de croissance. Mais la faible conductivité hydraulique du protoxylème entraîne, durant la phase diurne, un gradient axial de potentiel hydrique important dans la partie basale de la feuille en croissance. Ainsi, malgré un flux de transpiration, dans nos conditions expérimentales, trois fois plus faible dans la feuille en croissance que dans la feuille mature, la tension dans le xylème est maximale dans la feuille en croissance. En l'absence de transpiration, la différence de potentiel hydrique entre le xylème et les tissus en croissance est d'environ 0.3 MPa. A court terme, toute chute de pression dans le xylème réduit ce gradient et par conséquent la vitesse de croissance.



Il est important de souligner que nous avons calculé la conductivité hydraulique radiale équivalente de la zone de croissance ( $Lp_{px}$ ) à partir des mesures de différence de potentiel hydrique induite par la croissance et du taux local de dépôt d'eau. D'après le modèle de Lockhart (équation 4 de la synthèse),  $Lp_{px}$  est un paramètre composite qui intègre à la fois les "conductivités" hydraulique et bio-rhéologique de la zone de croissance, qui sont considérées en série ( $Lp_{px} \equiv f_{eq}Lp_{eq}/f_{eq} + Lp_{eq}$ ). La différence de potentiel hydrique induit par la croissance peut donc refléter tant une limitation de la vitesse de croissance par la conductivité hydraulique du tissu que par les propriétés bio-rhéologiques. Chacun de ces deux termes peut être régulé avec des cinétiques différentes, qu'il serait important de caractériser si l'on veut analyser la vitesse de croissance en condition de transpiration fluctuante.

A plus long terme des régulations d'ordre biologique (ajustement osmotique, *etc.*...) peuvent également intervenir. Une analyse temporelle des facteurs limitant le flux d'eau vers les zones de croissance est donc particulièrement importante.

La relation étroite que nous avons trouvée entre le taux de dépôt local d'eau et la surface d'échange entre le protoxylème et les cellules en expansion est frappante. On ne peut pas exclure qu'elle soit fortuite, des études complémentaires à divers stades de développement seront nécessaires pour conclure. Notons toutefois, que dans une étude préliminaire non présentée ici, nous avons retrouvé une relation linéaire le long de la gaine en croissance de la feuille  $L_2$ , entre le taux relatif local d'allongement (REGR) et la somme des périmètres du protoxylème, alors même que le profil de REGR est très différent dans cette feuille (la valeur maximale du REGR est située à la base de la feuille). Si la relation entre le taux de dépôt local d'eau et la somme des périmètres du protoxylème était conservée au cours du développement de la feuille, cela renforcerait l'idée que la surface d'échange entre le xylème et les cellules en croissance puisse limiter la vitesse de croissance.

Si l'on considère l'intégration de la feuille en croissance à l'échelle de la talle, se pose alors le problème des relations hydriques entre les feuilles de la talle. Au vue de l'abondante bibliographie sur l'anatomie des zones nodales graminéennes, nous avons considéré que les feuilles ne sont pas hydrauliquement isolées les unes des autres, mais qu'elles sont raccordées en un même point de la tige. En d'autres termes, nous avons considéré que le potentiel hydrique du xylème des zones d'insertion foliaire était identique pour toutes les feuilles. En conditions de flux et de potentiel hydrique stationnaire, cette hypothèse semble être vérifiée (figure III-13). Toutefois, en condition de flux non stationnaire, la vitesse, à laquelle vont être transmises d'une feuille à l'autre les variations de potentiel hydrique du xylème, va dépendre entre autre chose, de la conductivité hydraulique de la zone nodale. L'architecture hydraulique de cette zone va donc déterminer, dans quelle mesure et avec quelle cinétique les variations de potentiel hydrique du xylème des feuilles matures vont être transmises au xylème de la feuille en croissance et ainsi modifier le potentiel hydrique de la source en eau pour la croissance. Des simulations, réalisées en supprimant la transpiration des feuilles  $L_1$  et  $L_2$ , montrent que le potentiel hydrique du xylème de la feuille en croissance est fortement déterminé par la transpiration de ces feuilles. Il est donc important de caractériser l'architecture hydraulique de la zone nodale. Chez la fétuque élevée, au stade végétatif la tige est court-nouée et ne mesure que quelques millimètres de long. Il est donc, vu la complexité vasculaire des zones nodales, difficile d'estimer la conductivité hydrique correspondante à chaque feuille dans cette zone. Une étude de sensibilité du modèle hydraulique en condition de flux non stationnaire (voir la section 'perspectives') sous

différentes hypothèses de raccordement des feuilles entre elles, et la comparaison avec les données expérimentales d'état hydrique, pourraient nous apporter directement des éléments de réponse.

La caractérisation de l'architecture hydraulique nous apporte des informations qui dépassent le cadre des interactions entre la transpiration et la croissance. Parmi ces résultats, l'anisotropie des conductances radiale et axiale nous semble être particulièrement importante. Quarante pour-cent de la chute de potentiel hydrique entre la surface des racines et la surface d'évaporation dans le mésophylle des limbes se produit dans les derniers millimètres du trajet en phase liquide, entre le xylème et la surface d'évaporation. Ceci résulte d'une part de la faible résistance hydraulique du système racinaire et d'autre part de l'anisotropie des conductances axiale et radiale. Cette architecture hydraulique a plusieurs conséquences.

Tout d'abord sur la physiologie de la plante. La forte conductivité hydraulique du xylème par rapport à la conductivité extravasculaire du limbe, permet une optimisation du fonctionnement hydraulique du limbe, dans le sens, où l'eau est distribuée le long du limbe avec un potentiel hydrique élevé et spatialement homogène. La disponibilité en eau à partir du xylème, à densité de flux égal, est donc dans une large mesure indépendante de la longueur du limbe. D'autre part, cette répartition des conductivités axiale et radiale limite la tension de l'eau dans le xylème, et ainsi diminue les risques de perte de fonctionnalité par cavitation.

Cette structuration des conductances hydrauliques a également des conséquences sur la signification du potentiel hydrique mesuré à la chambre à pression. Bon nombre de physiologistes considèrent que la technique de la chambre à pression permet de mesurer la tension de la sève dans le xylème d'organes qui transpirent. Or, ceci n'est exact que si la résistance hydraulique entre le xylème et le mésophylle est faible, *i.e.* si *in situ* ces deux compartiments sont proches de l'équilibre hydrique. La chambre à pression, ainsi que les techniques psychrométriques, permettent de mesurer le potentiel hydrique à l'équilibre, *i.e.* lorsqu'il n'y a plus de gradient de potentiel hydrique à l'intérieur de la feuille. Ces techniques donnent donc une mesure moyenne du potentiel hydrique foliaire pondéré par le volume des différents compartiments foliaires, et non une mesure du potentiel hydrique du xylème. Cette moyenne est en fait proche du potentiel hydrique du mésophylle, car ce compartiment représente, dans la plupart des feuilles, environ 80 % du volume total d'eau. Les résultats, du modèle basé sur l'architecture hydraulique de la talle, permettent de réconcilier les défenseurs et les détracteurs de la théorie de la tension-cohésion sur le point majeur de leur discordance. En effet, vu la différence de potentiel hydrique entre le xylème et le mésophylle, calculée sur la base de l'architecture hydraulique, il n'est pas étonnant que certains aient trouvé des différences de plusieurs bars entre les mesures effectuées à la chambre à pression et à la sonde à pression xylémienne (e.g., Benckert, Balling & Zimmermann, 1991 ; Melcher *et al.*, 1998).

## PERSPECTIVES

Première étape dans l'analyse et la modélisation des différents flux d'eau dans la plante, cette étude comporte un certain nombre de limites. Les variables et les paramètres que nous avons mesuré correspondent à un état stationnaire du système (transpiration et croissance constante, flux conservatifs). On a considéré la transpiration comme une variable d'entrée homogène le long des feuilles. Enfin, nous n'avons pas explicité le rôle des paramètres bio-rhéologiques (extensibilité des parois en croissance) dans les variations des différents flux d'eau.

En conditions naturelles, les variables qui contrôlent la transpiration (température, rayonnement, déficit de pression de vapeur, *etc.*...) fluctuent en permanence. Il existe aujourd'hui des modèles environnementaux permettant de calculer le bilan d'énergie des plantes dont on a une description géométrique (Sinoquet *et al.* 1998). Il serait donc théoriquement possible d'utiliser de tels modèles pour prévoir la transpiration en fonction de la température, du rayonnement, de la vitesse du vent et du déficit de pression de vapeur.

De plus, afin d'analyser les conditions de flux non conservatifs, il est nécessaire de prendre en compte les variations de réserves en eau de la plante. Ceci revient à caractériser la capacitance hydraulique des différents compartiments de la talle. Dans un premier temps, il pourra être utile d'ajuster les capacitances à partir des décalages que nous avons mesurés entre les flux de transpiration et d'absorption pendant les transitions jour/nuit et dans les expériences de masquage et de démasquage des limbes foliaires. Par ailleurs, une mesure directe de ces capacitances peut être envisagée à l'échelle de la cellule ou de l'organe. L'analyse des courbes pression-volume effectuée sur différents organes donne une mesure de la capacitance du tissu.

De même, en situation de flux non stationnaires, des résultats récents concernant l'occurrence de pertes de conductivité axiale liées à la cavitation, en conditions hydriques édaphiques non limitantes, montrent qu'il conviendrait de caractériser la vulnérabilité à la cavitation de la fétuque élevée (et des plantes herbacées en général), et si nécessaire de l'intégrer dans la modélisation de l'architecture hydraulique de la plante. Une collaboration est engagée avec le laboratoire de Physiologie Intégrée de l'Arbre Fruitier à l'INRA de Clermont-Ferrand (plus particulièrement avec Hervé Cochard). Les études entreprises ont pour objectifs, d'une part de caractériser la vulnérabilité à la cavitation de deux espèces de graminées fourragères (la fétuque élevée et le ray-grass d'Italie) ayant un comportement hydrique contrasté, d'autre part de mesurer les variations journalières du taux d'embolie.

Enfin, dans le but de mieux identifier les mécanismes de régulation biologique dans les réponses de la plante au déficit hydrique, il est important de compléter le modèle de flux d'eau que nous avons commencé à mettre en place, en y incorporant de façon explicite les paramètres d'extensibilité tels que les a définis Lockhart (voir la section "bases biomécaniques du grandissement cellulaire" de la synthèse). Là aussi, le modèle permettrait de caler ces paramètres sur les variables de sortie, comme le dépôt d'eau dans la zone de croissance ou bien le potentiel hydrique des tissus en croissance. Mais il est aussi envisageable d'entreprendre une mesure plus directe grâce à l'utilisation de la

sonde à pression cellulaire. Cette étude a été commencée dans la première publication de cette thèse. Ceci passe notamment par une amélioration sensible de la technique dans les zones de croissance foliaire de la fétuque élevée. La réussite de cette technique dépend des espèces et du type de cellule considéré. Une alternative est de sonder des cellules foliaires en croissance d'espèces proches de la fétuque élevée. Cette technique a déjà été utilisée avec succès chez l'orge (Fricke, McDonald & Mattson-Djos, 1997), le blé et le ray-grass (Thomas, 1990).

Les points précédents permettraient donc de compléter l'analyse et la modélisation des différents flux d'eau dans la plante à un stade donné de son développement (sur quelques heures). Cette approche est également une base pour aborder les couplages transpiration-croissance sur l'ensemble du développement de la talle.

Nous avons déjà montré que l'analyse des structures et du fonctionnement des trois feuilles d'une talle peut être vue comme une approche de trois états du développement d'une feuille (figure III-7). A l'issue de nos travaux, nous disposons ainsi d'éléments qui permettent de décrire le développement de l'architecture hydraulique d'une talle au cours du temps. Ainsi il serait possible d'aborder une série de questions sur la part des contraintes liées à l'architecture hydraulique dans l'évolution à long terme des relations entre transpiration, croissance et développement : Quel est l'impact de l'augmentation du flux de transpiration liée au développement de la feuille en croissance sur les variations de son état hydrique ? A quel stade de développement de la feuille, la tension dans le xylème commence-t-elle à dépendre significativement de sa propre transpiration ? La connexion de la jeune feuille au réseau hydraulique fonctionnel de la talle correspond-elle à un stade particulier de son développement ? Ce type d'étude devrait permettre de mieux comprendre la combinaison entre contraintes ontogénétiques (développement de l'architecture hydraulique) et contraintes environnementales (évolution de la demande évaporatoire) dans la dynamique de croissance à long terme des plantes herbacées.

## REFERENCES

- Benckert R, Balling A, Zimmermann U. 1991.** Direct measurements of the pressure and flow in the xylem vessels of *Nicotiana tabacum* and their dependence on flow resistance and transpiration rate. *Acta Biotheoretica* **104**: 423-432.
- Fricke W, McDonald AJ, Mattson-Djos L. 1997.** Why do leaves and leaf cells of N-limited barley elongate at reduce rate? *Planta* **202**: 522-530.
- Melcher PJ, Meinzer FC, Yount DE, Goldstein G, Zimmermann U. 1998.** Comparative measurements of xylem pressure in transpiring and non-transpiring leaves by means of the pressure chamber and the xylem pressure probe. *Journal of Experimental Botany* **49**: 1757-1760.
- Sinoquet H, Le Roux X, Améglio T, Daudet FA. 1998.** Modélisation 3D du microclimat, de la transpiration et de la photosynthèse au sein de la couronne d'un arbre isolé. In: INRA-CTIFL, ed. 11<sup>ème</sup> colloque sur les recherches fruitières. Montpellier.
- Thomas A. 1990.** *Low temperature growth in forage grasses and cereals*. PhD thesis. University of Wales.