



HAL
open science

Poplar vulnerability to xylem cavitation acclimates to dryer soil conditions

Hosam Mohammed H. M. Awad, Tete Severien T. S. Barigah, Eric Badel, Hervé H. Cochard, Stéphane Herbette

► **To cite this version:**

Hosam Mohammed H. M. Awad, Tete Severien T. S. Barigah, Eric Badel, Hervé H. Cochard, Stéphane Herbette. Poplar vulnerability to xylem cavitation acclimates to dryer soil conditions. Collque du Groupe Xylème-eau-croissance, Nov 2009, Bordeaux, France. 20 diapos. hal-00964515

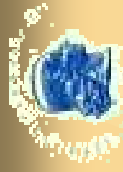
HAL Id: hal-00964515

<https://hal.science/hal-00964515>

Submitted on 6 Jun 2020

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

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



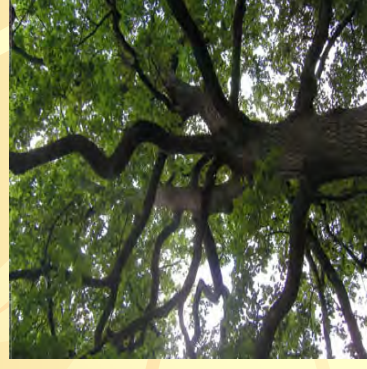
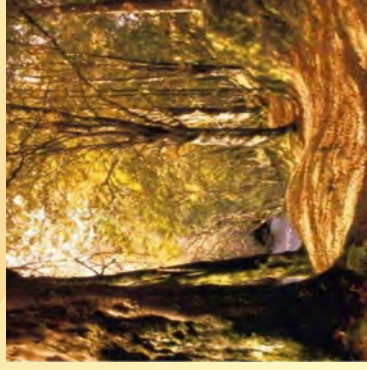
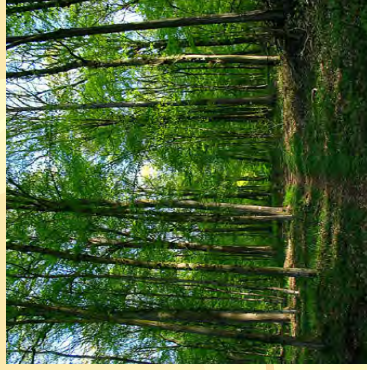
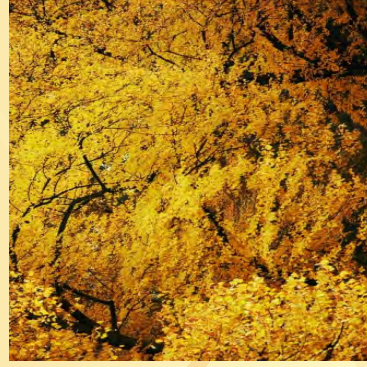
Université Blaise Pascal



L'U.M.R. PIAF

(Physique et physiologie Intégratives de l'arbre fruitier et forestier)

Responsable: Jean-Louis Julien.



HYDRO

(Hydraulique et résistance à la sécheresse des arbres)

Responsable: Hervé COCHARD.



Université Blaise Pascal

Poplar vulnerability to xylem cavitation acclimates to dryer soil conditions



HOSAM AWAD^{1,2}



TETE BARIGAH^{2,1}



ERIC BADEL^{2,1}



HERVE COCHARD^{2,1}



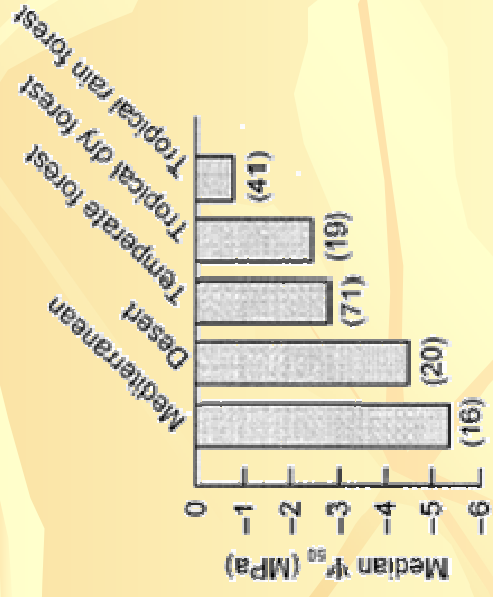
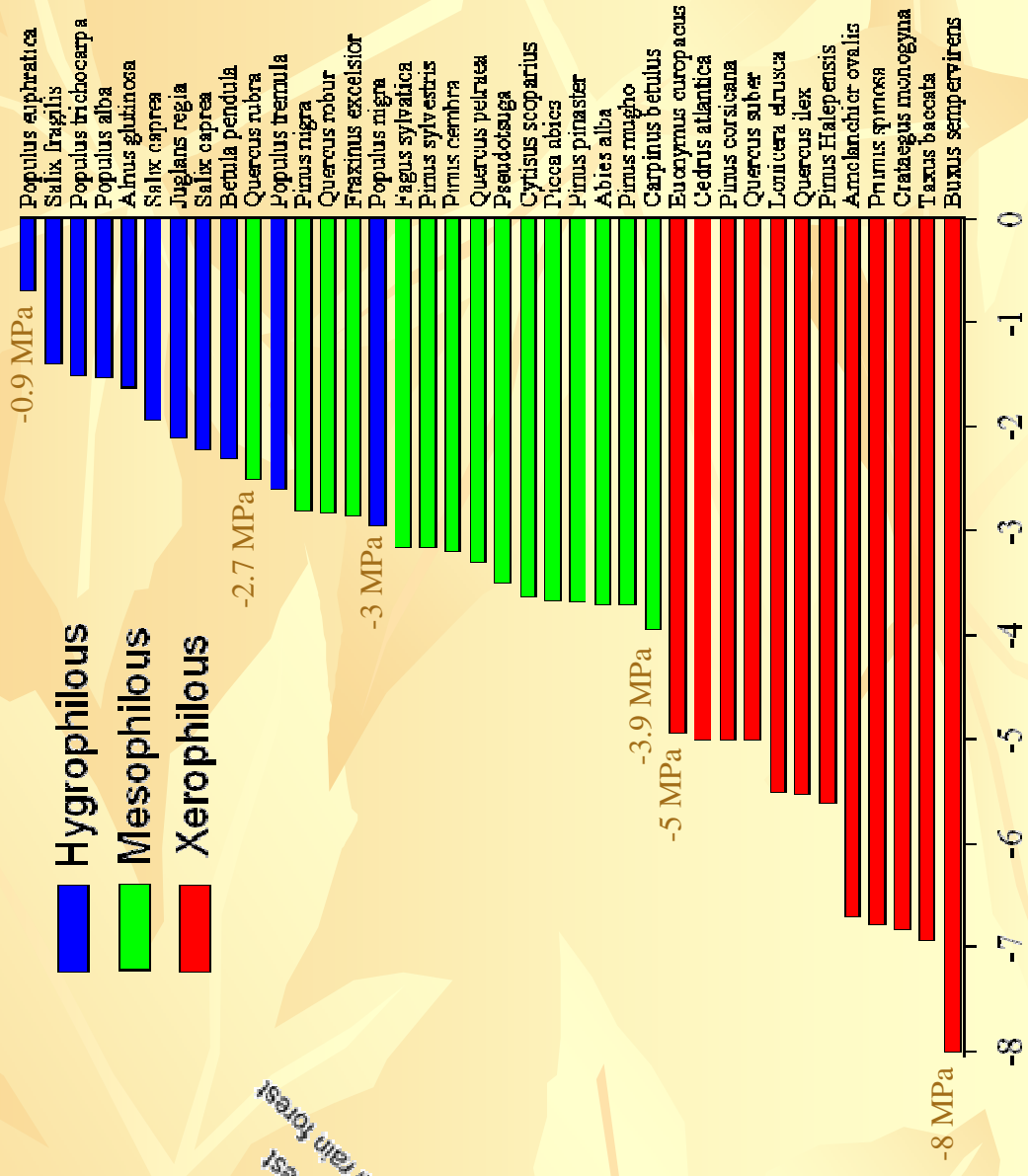
STEPHANE HERBETTE^{1,2}

¹ Université Blaise Pascal, UMR 547 PIAF, F-63177, Aubière, France

² INRA, UMR 547 PIAF, F-63100 Clermont-Ferrand, France

vulnérabilité à la cavitation Vs. tolérance à la sécheresse

(Pockmann and Sperry., 2000; Tyree et al., 2003; Maherali et al., 2004)



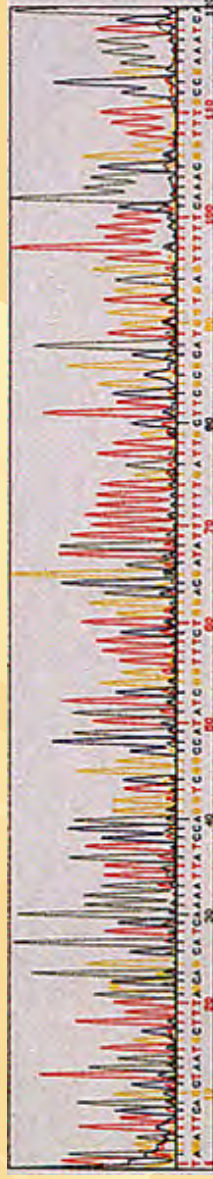
Maherali et al., 2004

Par Cochard

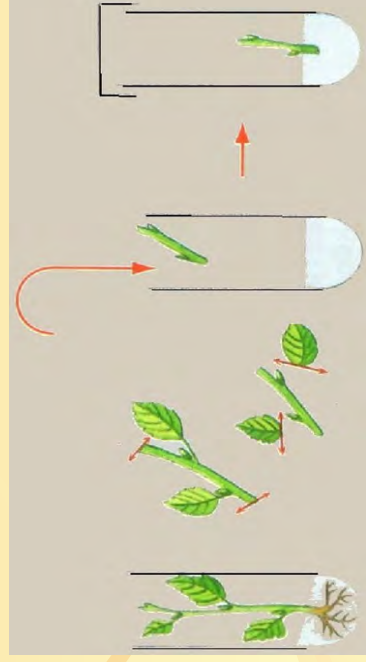
Xylem pressure inducing 50% cavitation, MPa

Pourquoi le choix des peupliers?

-La disponibilité de l'information génétique.



-La possibilité d'utiliser un clone
(*P. tremula* × *P. alba*, clone INRA 717-1B4).



-Sa croissance rapide.



-L'intérêt économique dans l'industrie papetière.

L'expérimentation



Traitement (1) (C)

- Max: saturé en eau
- Min: 6.5 kg

Traitement (2) (MS)

- Max: 5.5 kg
- Min: 4.5 kg

Traitement (3) (SS)

- Max: 4.0 kg
- Min: 2.5 kg

Les mesures

à partir de cette expérimentation nous avons des mesures

Les mesures physiologiques

Pendant le traitement

- La teneur en eau.
- La hauteur de la plante.
- Le potentiel hydrique.

Après La récolte

- La conductivité.
- Le taux de embolie.
- Le pourcentage de perte de conductivité hydraulique (PLC).
- La densité du bois.

Les mesures cytologique

-Le diamètre des vaisseaux.

-L'épaisseur de la paroi cellulaire(t)

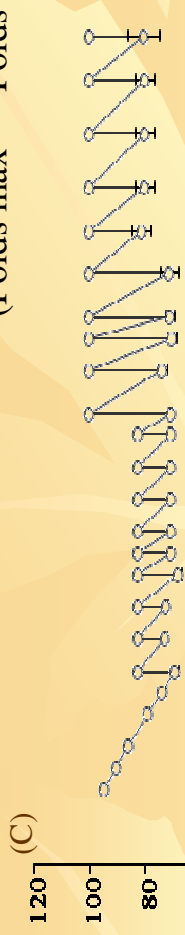
-La résistance à l'implosion

Les analyses de biologie moléculaire

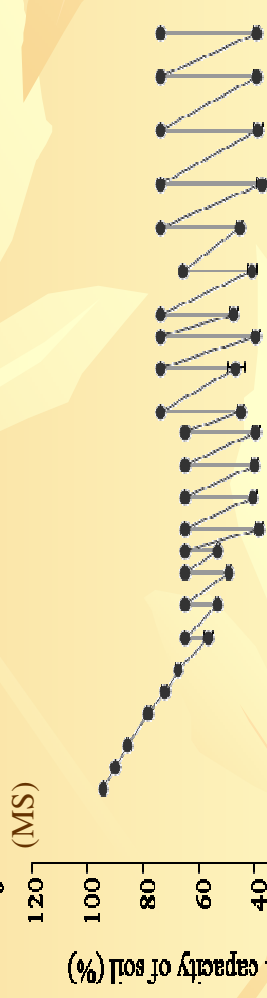
-Test de la différence d'expression des gènes par Q-PCR.

la teneur en eau

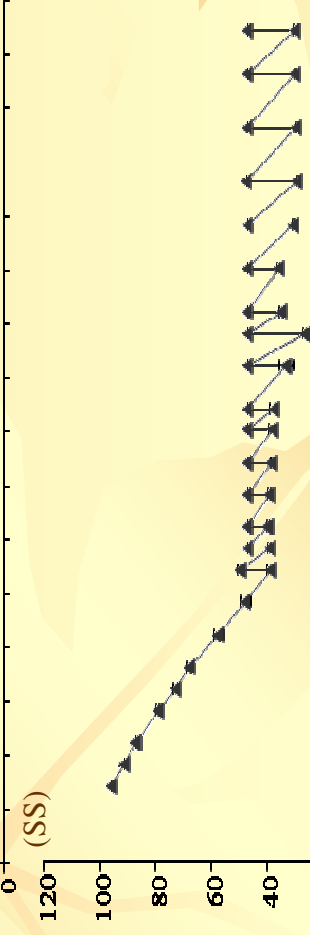
$$FC = \frac{(\text{Poids total} - \text{Poids sol sec})}{(\text{Poids max} - \text{Poids sol sec})} \times 100$$



70% < FC < 100%



40% < FC < 75%

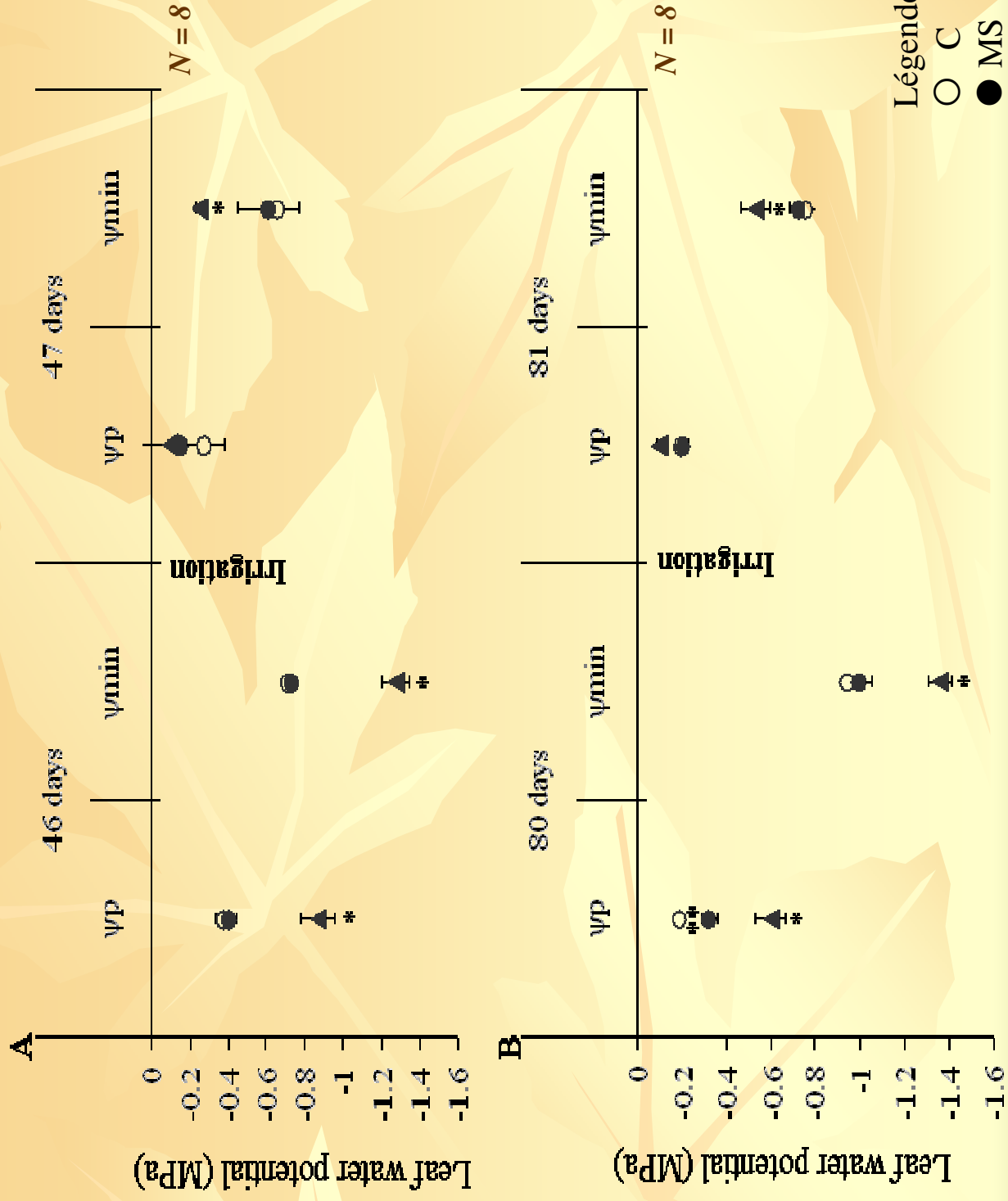


25% < FC < 45%

La hauteur des plantes



Le potentiel hydrique



Récolte des échantillons

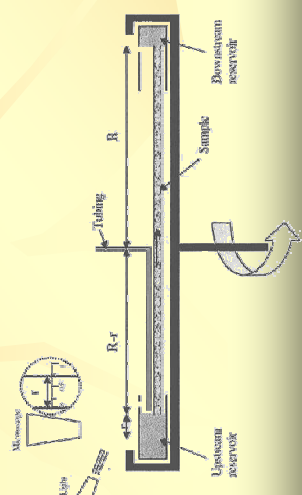
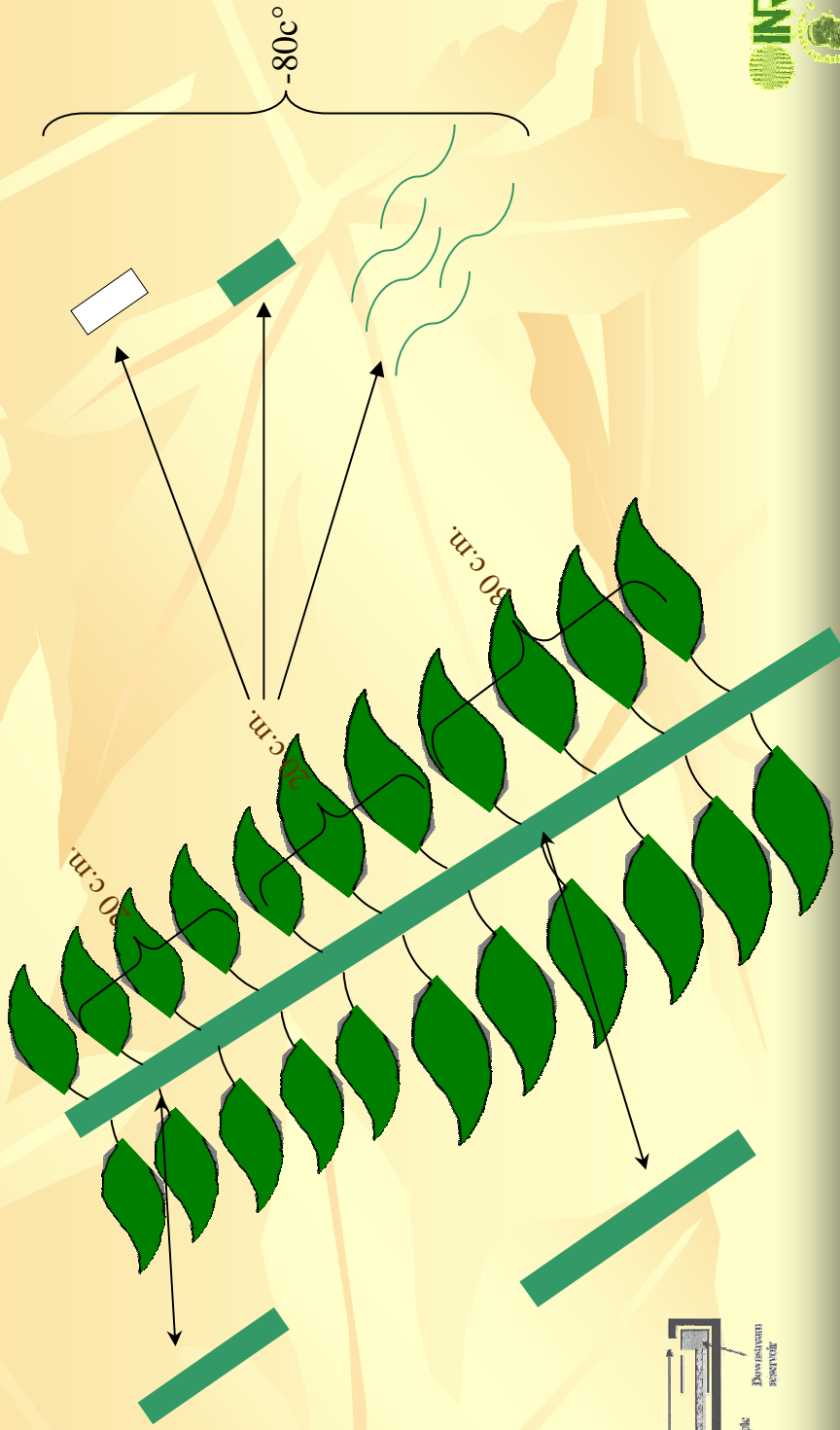
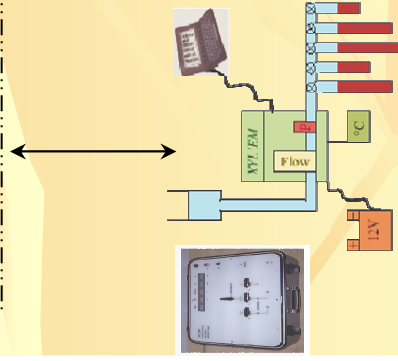
La récolte après 85 jours des plantation

Les échantillons

20 cm = Conductivité et l'embolie.

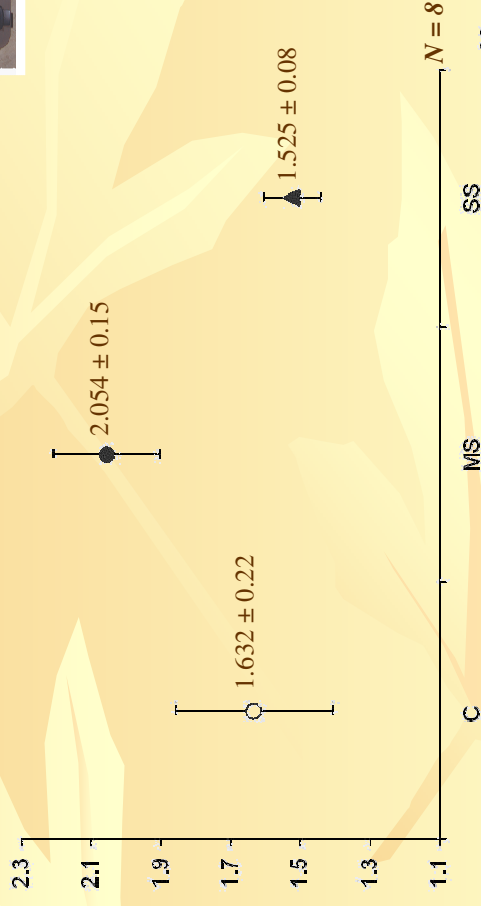
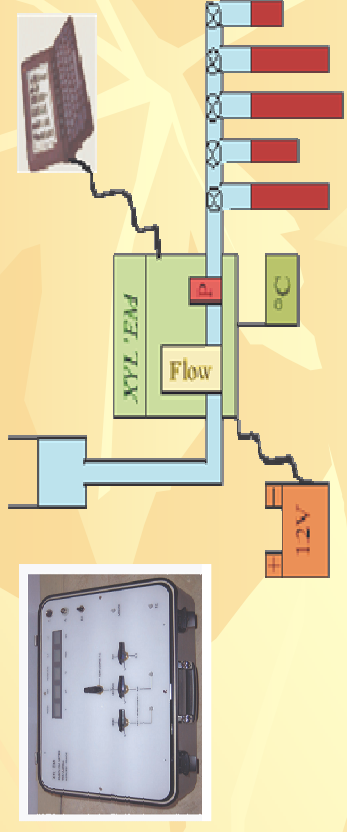
30 c.m. = Cavitron, la densité du bois et de l'analyse cytologique.

20 c.m = biologie moléculaire (le xylème/l'écorce + le xylème / l'écorce).

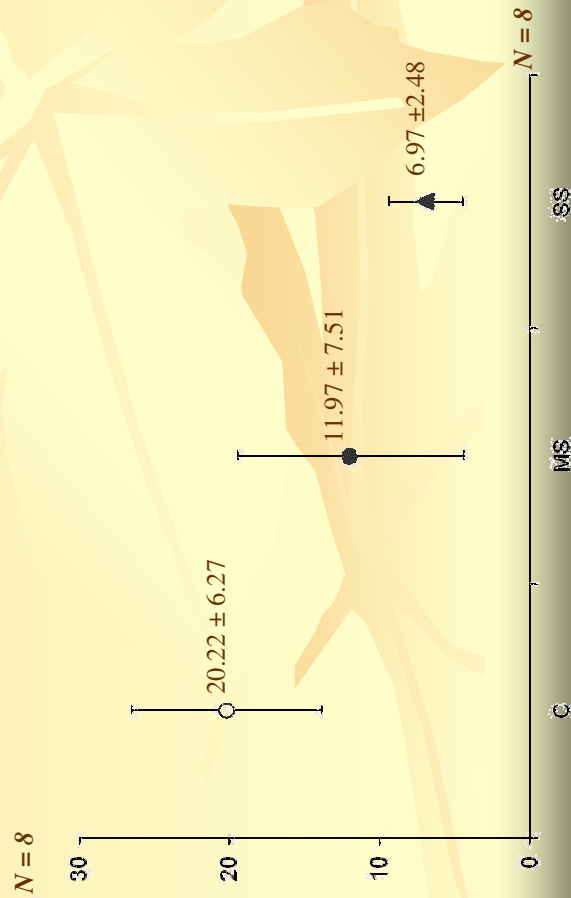


La conductivité et le taux d'embolie

En utilisant une embolie xylème compteur XYL'EM® appareils (Bronkhorst, Montigny les Corneilles, France)



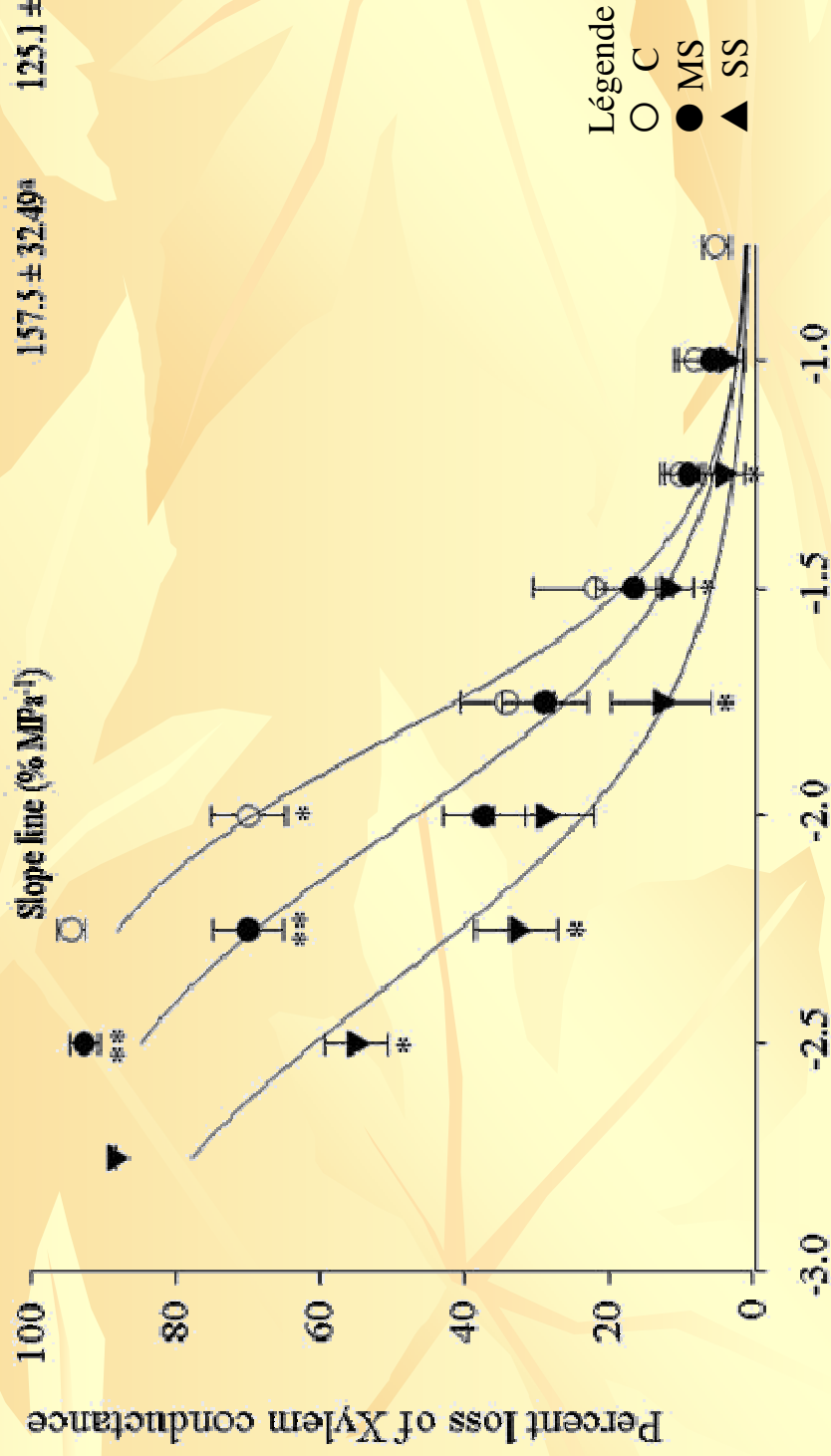
la conductivité spécifique



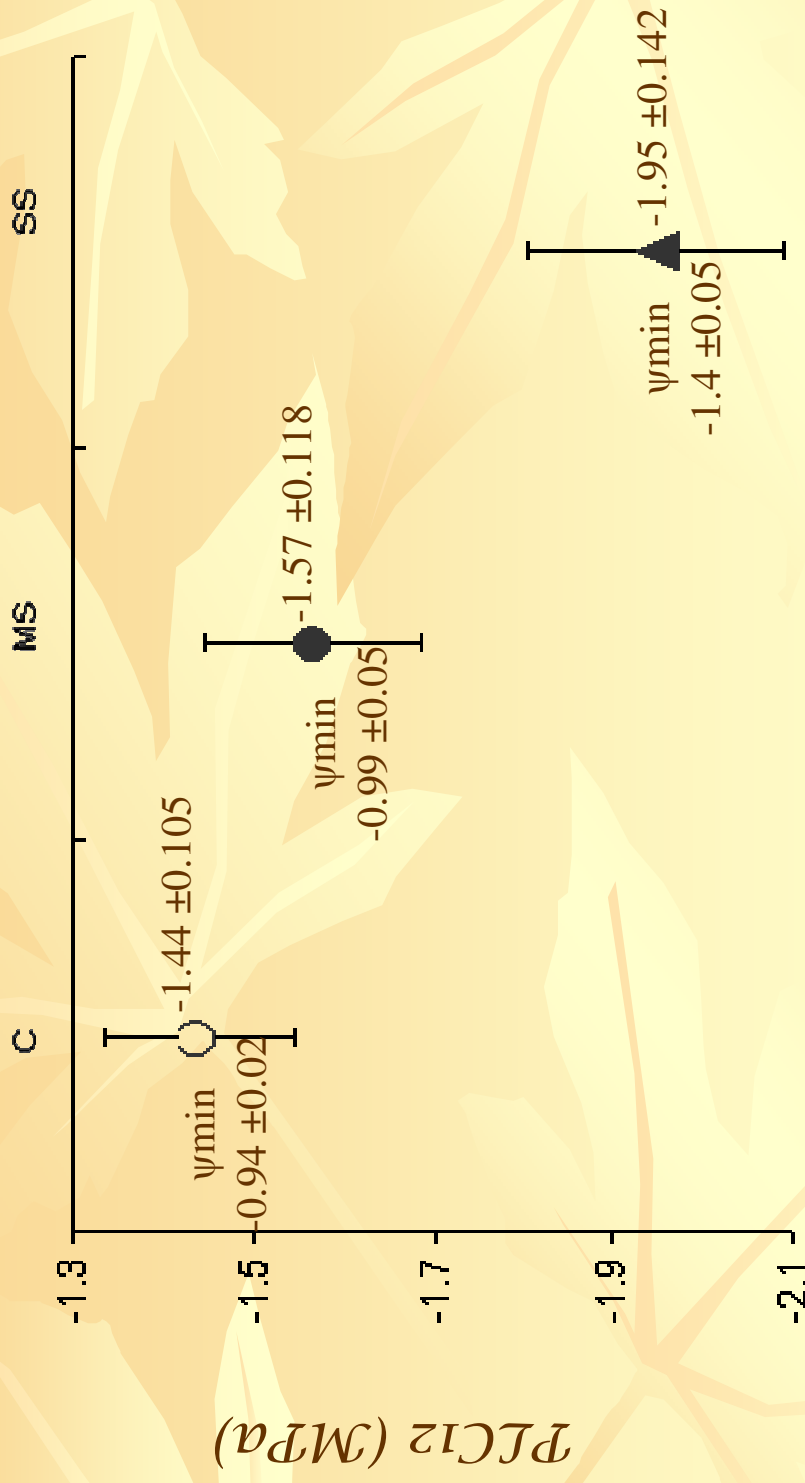
le taux d'embolie

PLC

Parameter	Well watered plants	Moderate water stressed plants	Severe water stressed plants
F50 (MPa)	-1.82 ± 0.03 ^a	-2.03 ± 0.05 ^b	-2.45 ± 0.091 ^c
F12 (MPa)	-1.44 ± 0.105 ^a	-1.57 ± 0.118 ^a	-1.95 ± 0.142 ^b
F88 (MPa)	-2.20 ± 0.051 ^a	-2.50 ± 0.05 ^b	-2.95 ± 0.092 ^c
Slope line (% MPa⁻¹)	157.5 ± 32.49 ^a	125.1 ± 17.13 ^a	119.6 ± 22.55 ^a



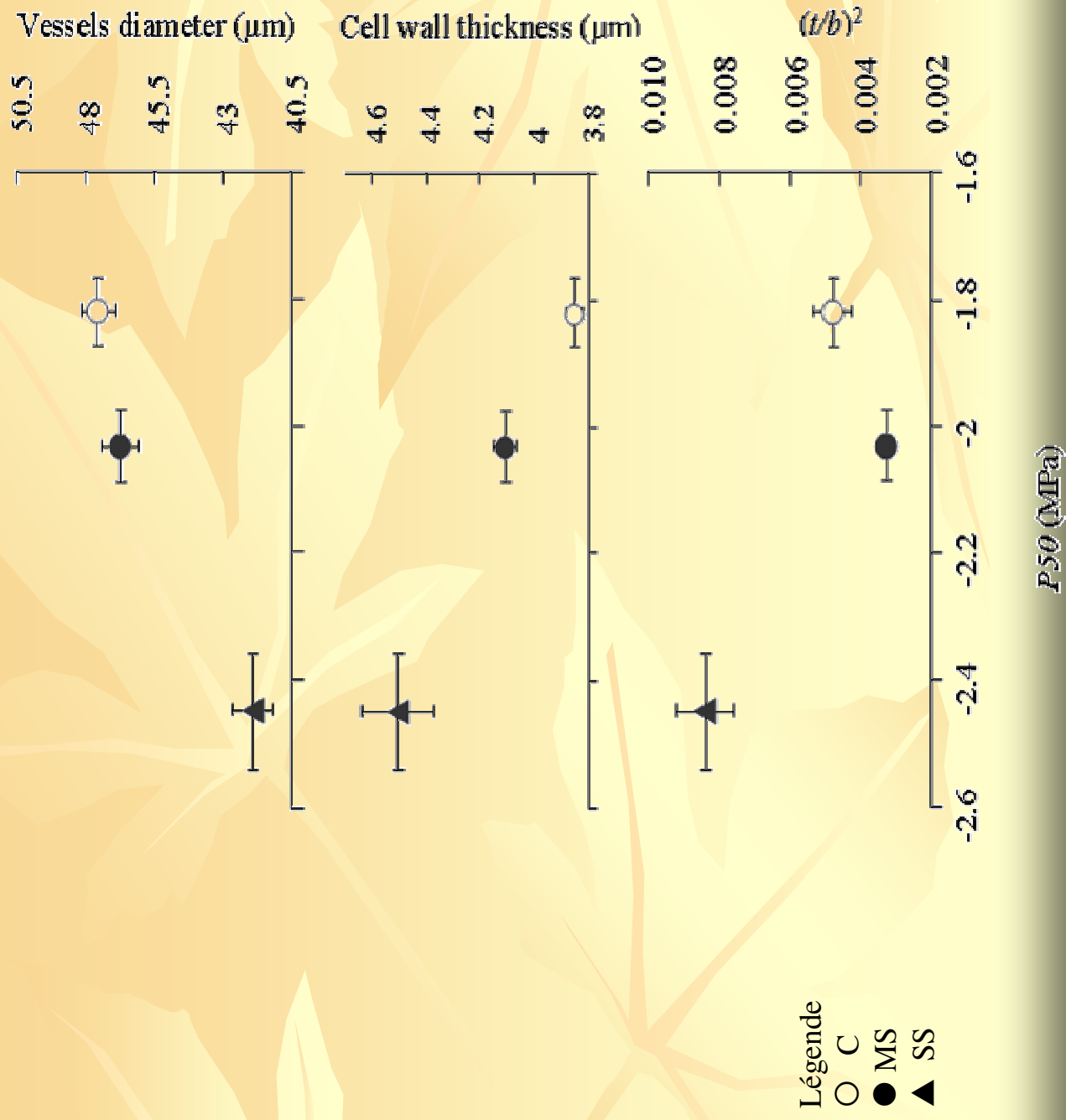
PLC12 et ψ_{\min}



Les paramètres cytologiques

Parameter	Well watered plants	Moderate water stressed plants	Severe water stressed plants
Wood density (g l^{-1})	$370.7 \pm 8.9^{\text{ab}}$	$353.9 \pm 3.7^{\text{b}}$	$381.9 \pm 8^{\text{b}}$
Vessels diameter (μm)	$48.31 \pm 0.68^{\text{a}}$	$46.73 \pm 0.68^{\text{a}}$	$41.56 \pm 0.75^{\text{b}}$
Av (μm^2)	$18.26 \pm 0.58^{\text{a}}$	$18.74 \pm 0.39^{\text{a}}$	$19.42 \pm 0.54^{\text{a}}$
Vessels density (n mm^{-2})	$93.99 \pm 2.69^{\text{a}}$	$103.4 \pm 4.39^{\text{a}}$	$135.1 \pm 3.42^{\text{b}}$
Vessels wall thickness (μm)	$3.89 \pm 0.03^{\text{a}}$	$4.1 \pm 0.04^{\text{a}}$	$4.53 \pm 0.11^{\text{b}}$
$(tb)^2$	$0.0046 \pm 0.0005^{\text{a}}$	$0.0032 \pm 0.0002^{\text{a}}$	$0.0085 \pm 0.0007^{\text{b}}$

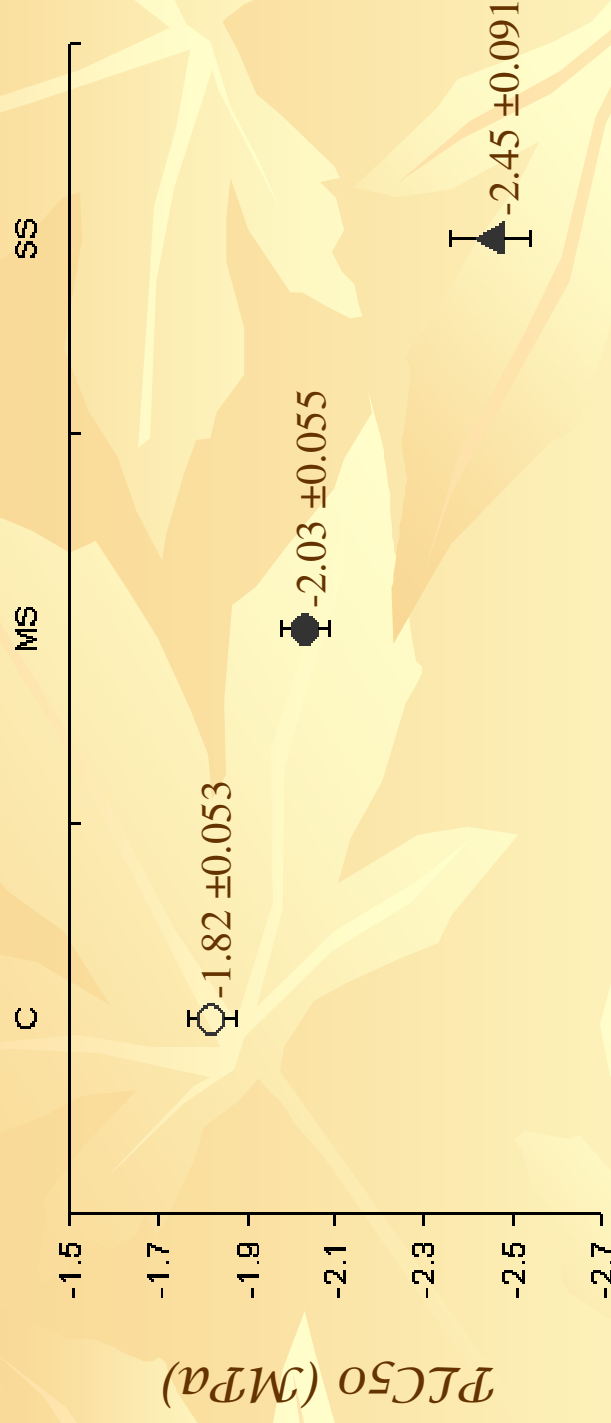
PLC50 Vs. Les paramètres cytologiques



conclusion

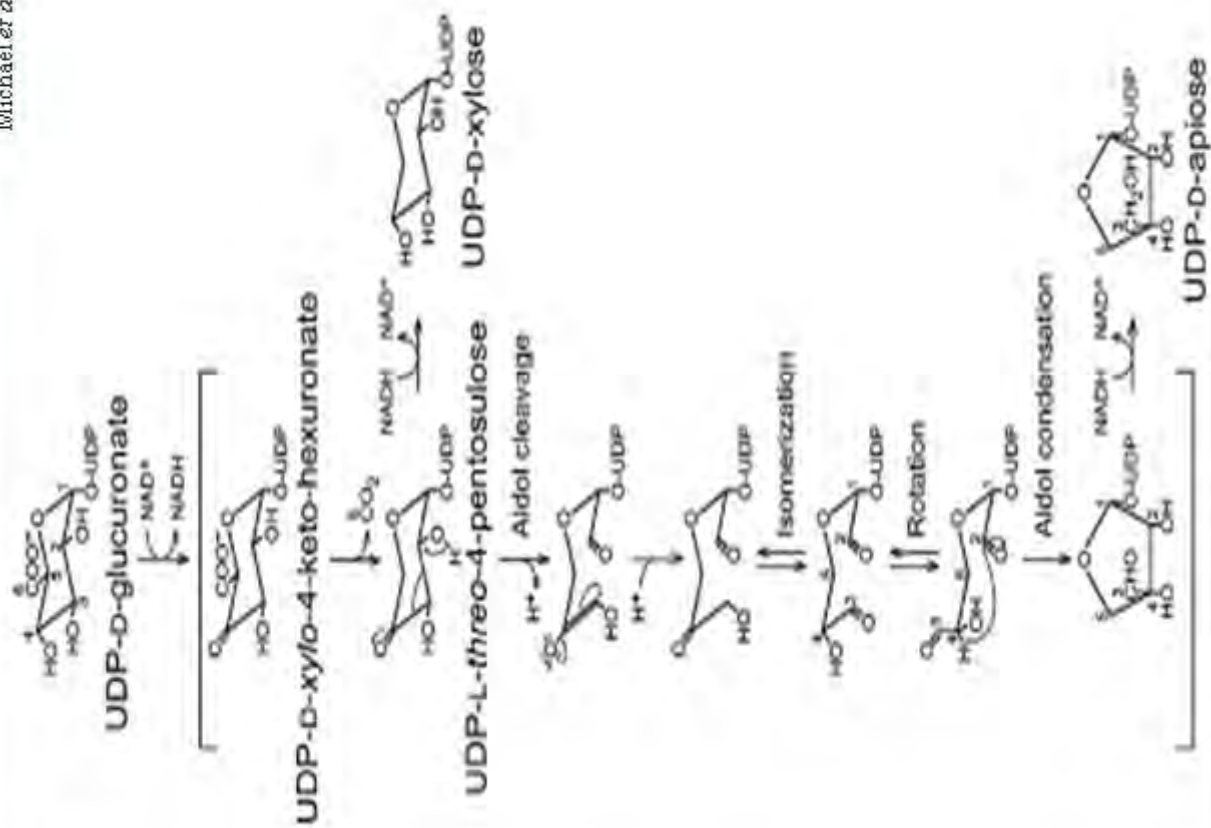
- la vulnérabilité à la cavitation + **faible** quand teneur en eau du sol + **faible**.
- P12** (*point d'entrée de l'air*) est fonction de ψ_{\min} .
- Les conditions de sécheresse induisent des modifications de la structure du **xylème**.
- Il n'est pas réaliste d'utiliser la densité du bois comme un indice de la vulnérabilité à la cavitation au niveau intraspécifique.

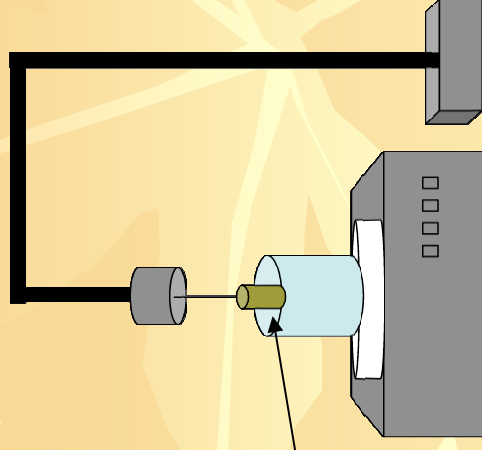
Les analyses de biologie moléculaire



- 1- UDP-Glucose dehydrogenase: conversion de UDP-Glucose à UDP-Glucuronate.
- 2- Pectinesterase: conversion de Protopectine à pectine and pectate.
- 3- Polygalacturonase: conversion de Pectate à Galacturonate.
- 4- Xylan 1,4- β -Xylosidase: conversion de 1,4- β -Xylan à xylose.
- 5- UDP-d-Apiose/UDP-d-Xylose synthase: conversion de UDP-D-Glucuronate à UDP-d-xylose and UDP-d-apiose.

Merçi





La masse sèche été déterminé après une nuit dans un four à convection par gravité à 104 ° C.

Le volume frais a été mesuré selon le principe d'Archimède par déplacement d'eau avec une balance de précision

$$d = \frac{M_0}{V_s}$$

PLC12=(PLC50+50)/slope

the "air entry point" (Sparks and Black 1999)

PLC88=(PLC50-50)/slope

the "full embolism point" (Domec and Gartner, 2001)

Drying without dying: survivorship and acclimation in potted saplings of *Fagus sylvatica* in response to gradual soil drought?

Barigah TS¹, Charrier O², S. Herbette², Cochard H¹

¹INRA, UMR547 PIAF, F-63100 Clermont-Ferrand, France

²Université Blaise Pascal, UMR547 PIAF, F-63177 Aubière, France.

Introduction

- ❖ **Recent climate projections → increase in frequency and duration of intense summer droughts** (Badeau et al., 2005; Salinger et al., 2005; IPCC, 2007).
- ❖ **Because water availability is required for regulating plant productivity and plant geographical distribution, our concerns are :**
 - 1. What about the fate of forests?**
 - 2. What inputs foresters and scientists do need for forests sustainability?**

A better understanding of the physiological and molecular basis of tree drought resistance is required to answer questions like:

- **Do foresters need to adopt right now new cultural practices?**
- **Can current species acclimate/adapt to drier conditions?**
- **Can we identify genotype/ecotype of current species more resistant to drought?**

Objective

Evaluate physiological responses in *Fagus sylvatica* saplings to increasingly drying soils

...
...mainly to check whether the individuals of this tree species can acclimate their hydraulic features to cope with dramatic drought conditions.

Thus, water relation parameters of beech saplings were investigated for two consecutive growing seasons

Material and methods



- **200 *Fagus sylvatica* saplings of 2 to 3 years old fed in 20-liter pot**
- **Relative radiation: 0 - 35% of full sunlight**
- **Temperature : 5 - 30 °C**
- **Couple day drip irrigation for control plants and water shortage for the others.**

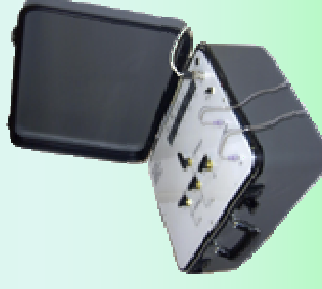
- **Soil moisture content**
(*Time domain reflectometer*)



- **Leaf and xylem water potential**
(*Pressure chamber*)



- **Xylem native steady-state embolism** (*Xyl'Em*)



- **Water potential inducing 50% loss of conductance** (*Cavitron*)

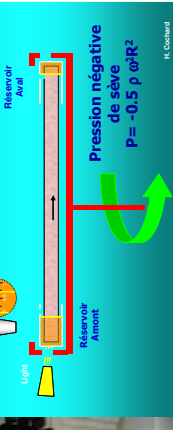


Utilisation de la force centrifuge

(Cochard 2002, 2005)

Conductance du segment :

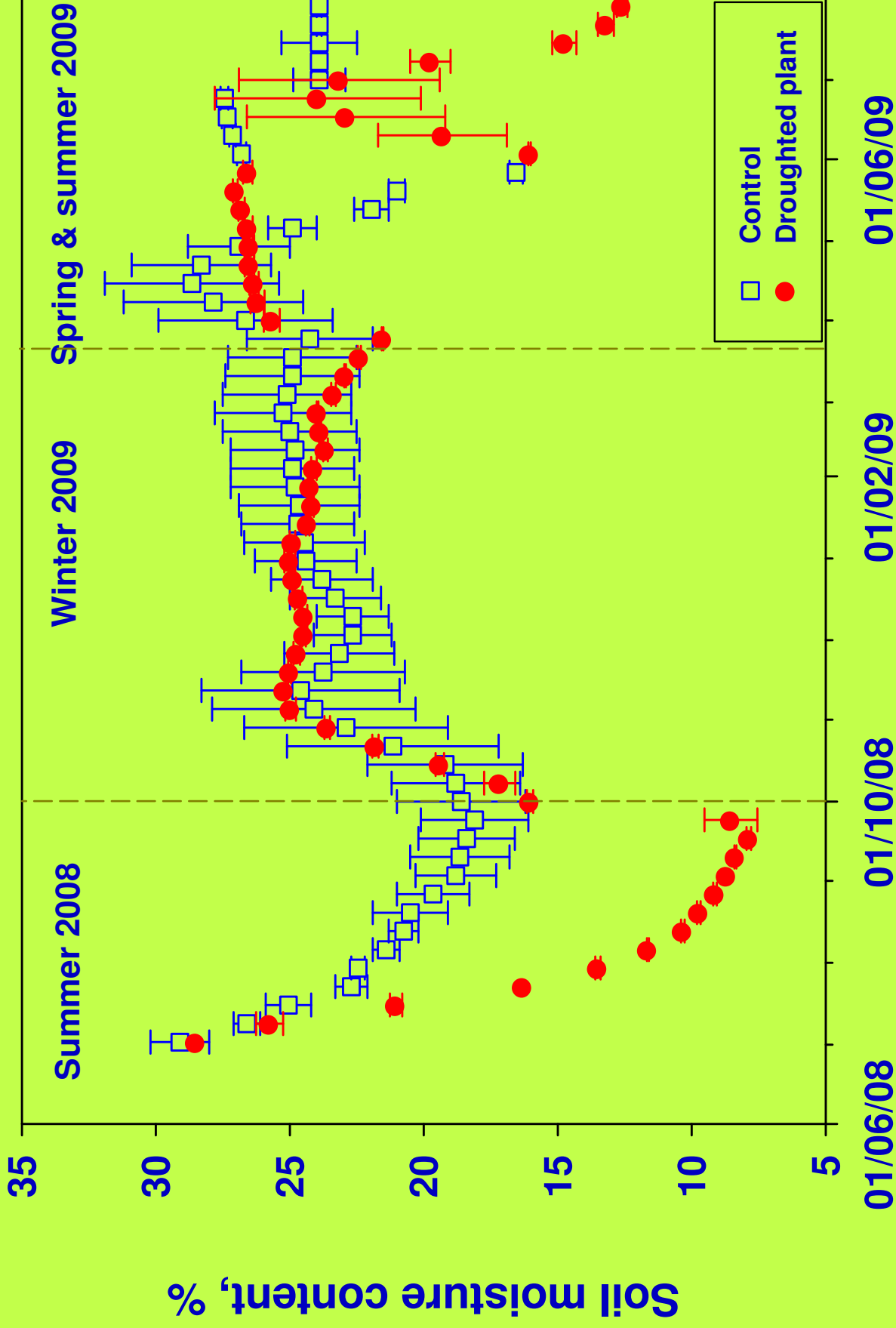
$$K = (dr/dt) / 0.5 \rho \omega^2 [R^2 - (R-r)^2]$$



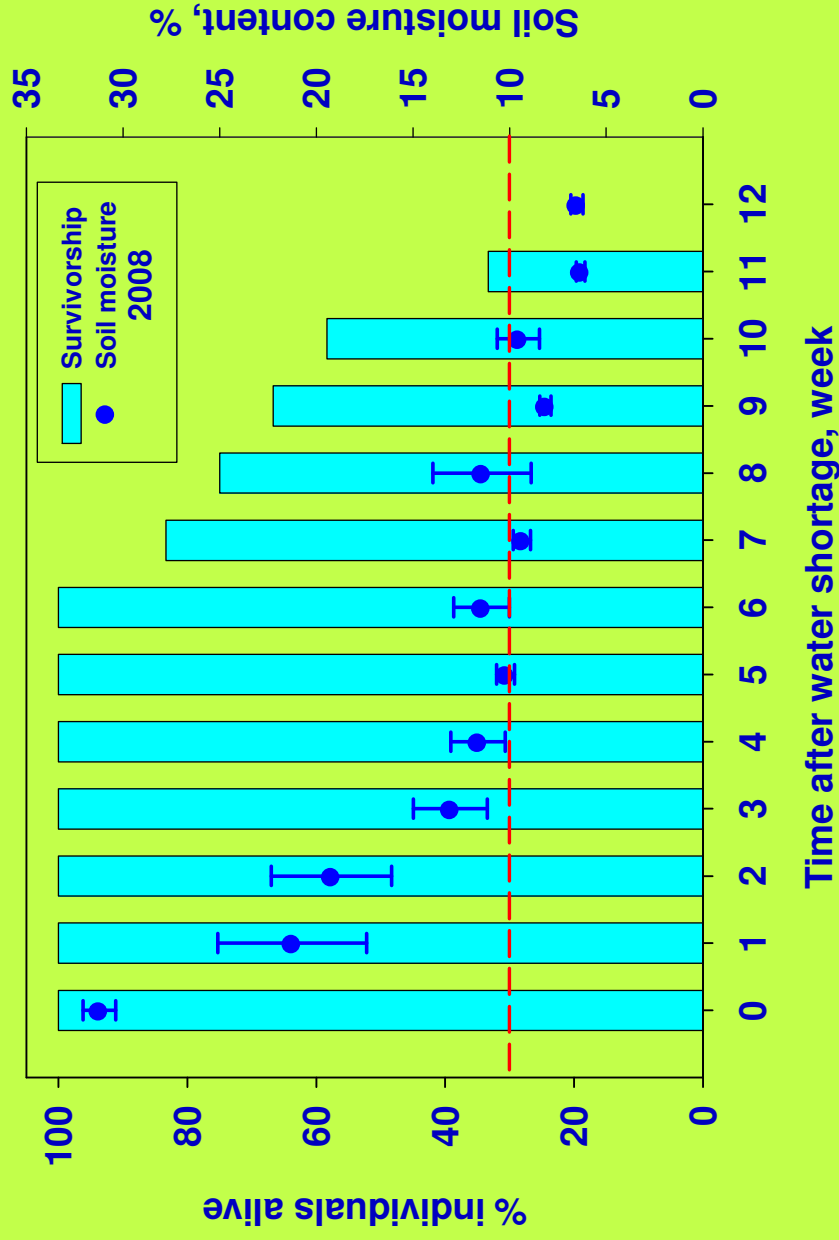
H. Cochard

Results

Survey of soil moisture content in potted *Fagus sylvatica* saplings

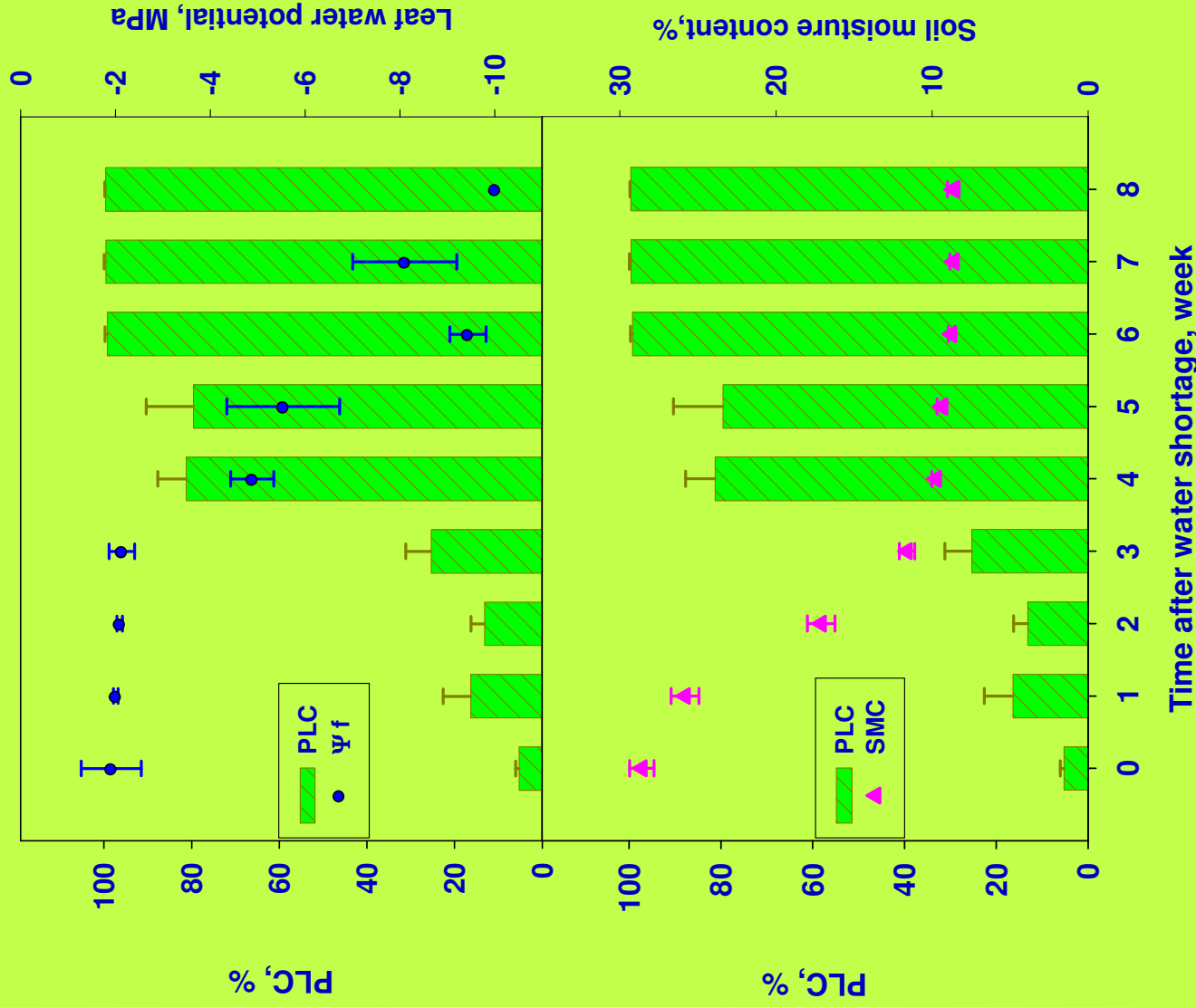


Survivorship of *Fagus sylvatica* saplings subjected to prolonged drought



- **Beech saplings can withstand more than 2 months with no water supply**
- **10% of saturated soil moisture look to constitute a critical threshold for sapling survivorship.**

Variation in time of soil moisture content, leaf water potential and PLC of *Fagus sylvatica* saplings subjected to water shortage

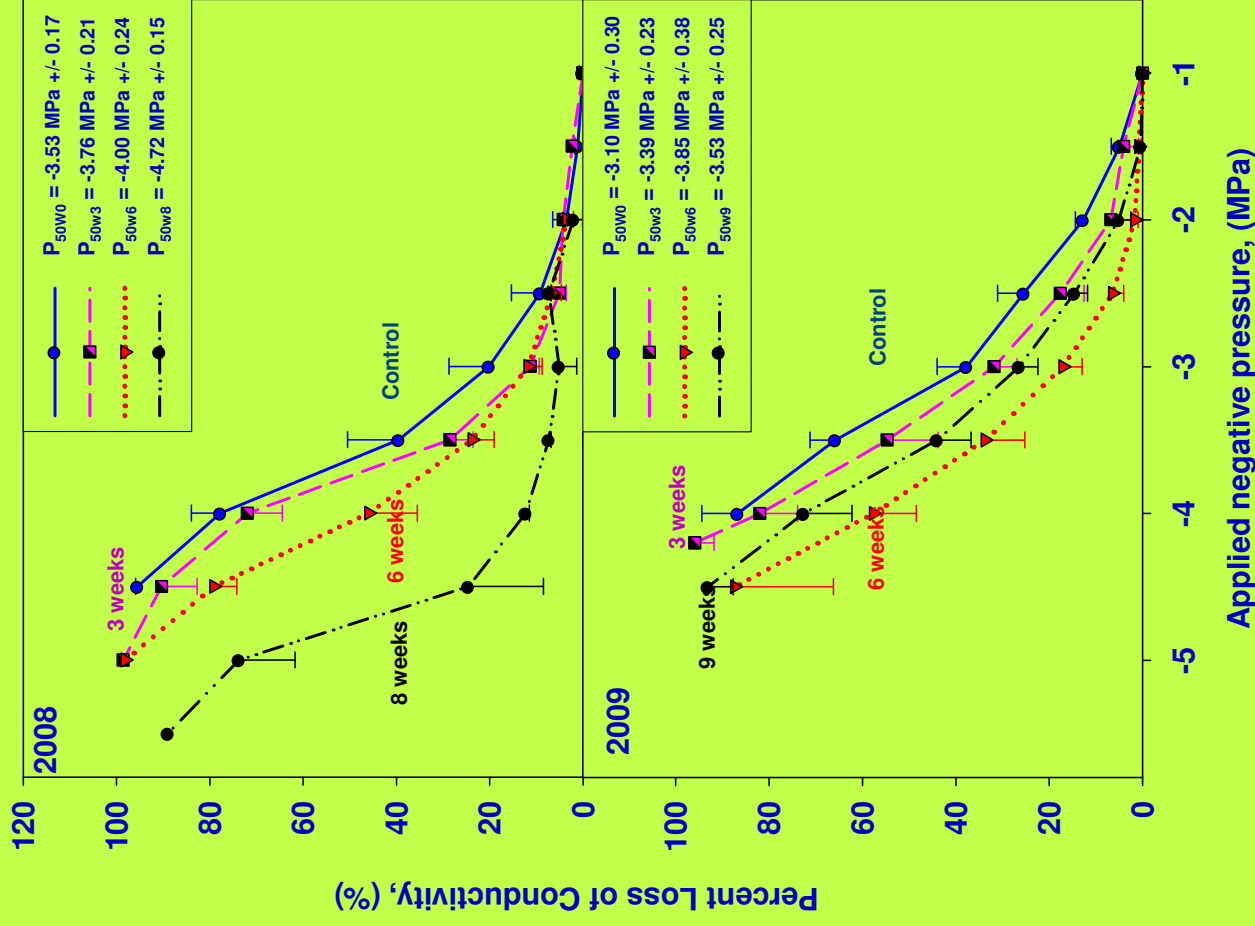


* Almost no changes in PLC as well as in Ψ_f was observed

* Meanwhile, SMC decreased consistently toward a threshold (10%) of full SMC within 3 weeks

* A 10% of SMC looked to be responsible for almost 80% PLC .

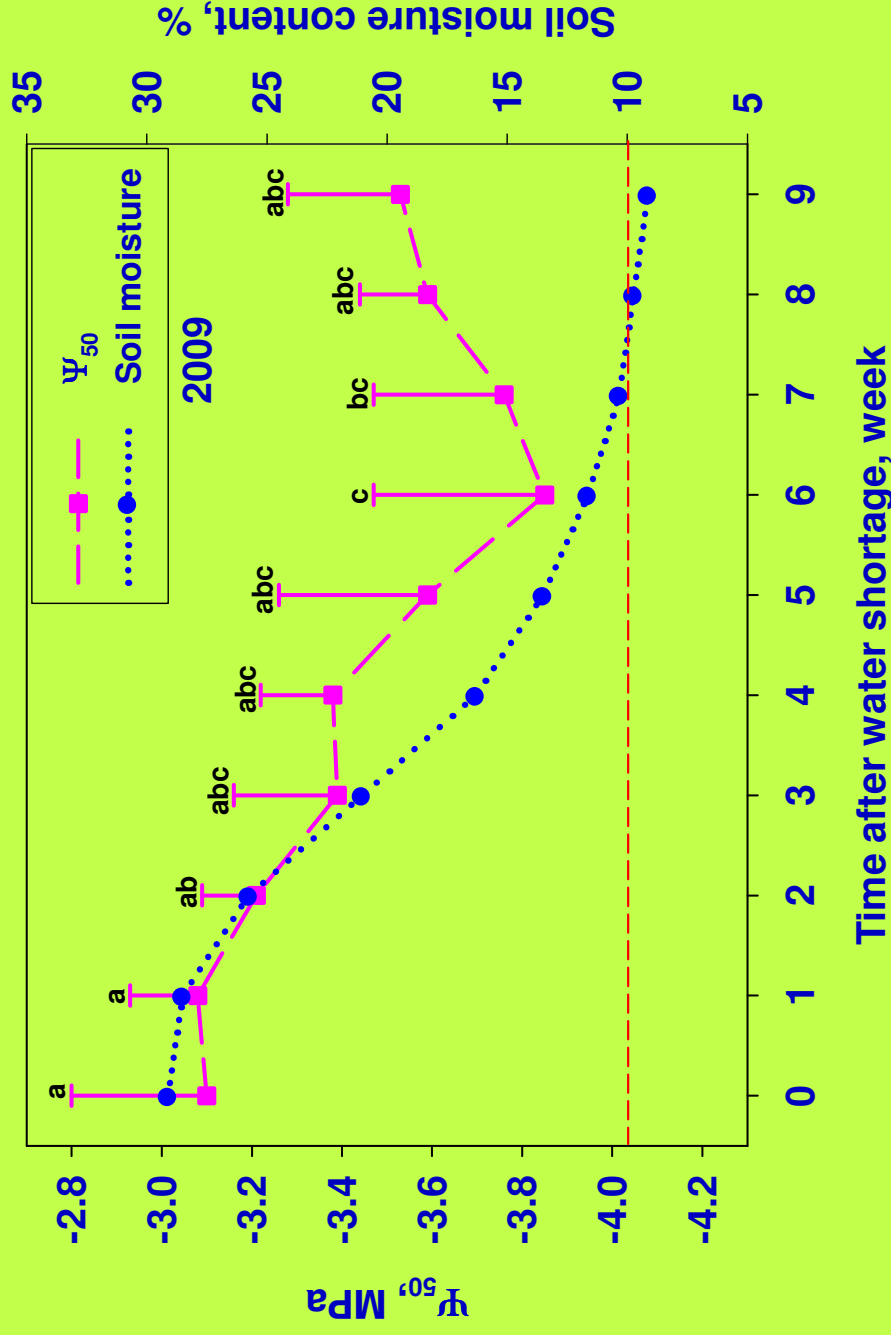
Variation of Ψ_{50} for branches of potted seedlings of *Fagus sylvatica* before and after prolonged drought



* In 2008, apparent plasticity of hydraulic features was observed. In fact, less resistant conduits were prone to cavitate and probably did so early.

* While in 2009, the plasticity were probably true as measurements were made on current year branches.

Variation in time of Ψ_{50} of *Fagus sylvatica* saplings subjected to water shortage



Ψ_{50} decreased progressively along with the severity of the water stress the plants were submitted to during the previous growing season if the SMC > 12% of saturated soil. Beyond this threshold, Ψ_{50} tended to increase toward the values of control plants.

Conclusion

- Beech saplings showed clearly a potential to acclimate to soil drought, but to a certain limit. Otherwise, the saplings tended to lose this capability when the soil dryness nearly reaches the dead point.
- **Thus, if predictions of global warming come true**
...
beech saplings seem to be able to withstand long lasting drying soil for weeks without dying as far as the soil moisture content remains above at least 10% of saturated SMC.

Perspectives

- ❖ One of the next step is to check whether the 'acclimated' plants keep their resistance to cavitation for awhile mainly in case of repeated drought episodes
- ❖ A second step is to get a proof of our findings in field stand and/or natural environment conditions
- ❖ Does the long lasting water stress induced any anatomical changes in the xylem vessel structures mainly in the pit membrane (Coll. S Herbette)?

**Many thanks for
your attention**

and

**Our acknowledgements to C.
Bodet, C Serre and P.
Conchon for their field
assistance!**

Conductivité hydraulique des aiguilles de conifères

Katline Charra-Vaskou, Stefan Mayr

24 Novembre 2009

Colloque Xylème, Bordeaux



Institut de Botanique,
Université d'Innsbruck, Autriche



introduction

Architecture hydraulique

● Le continuum sol-plante-atmosphère

● Efficience du système hydraulique de la plante

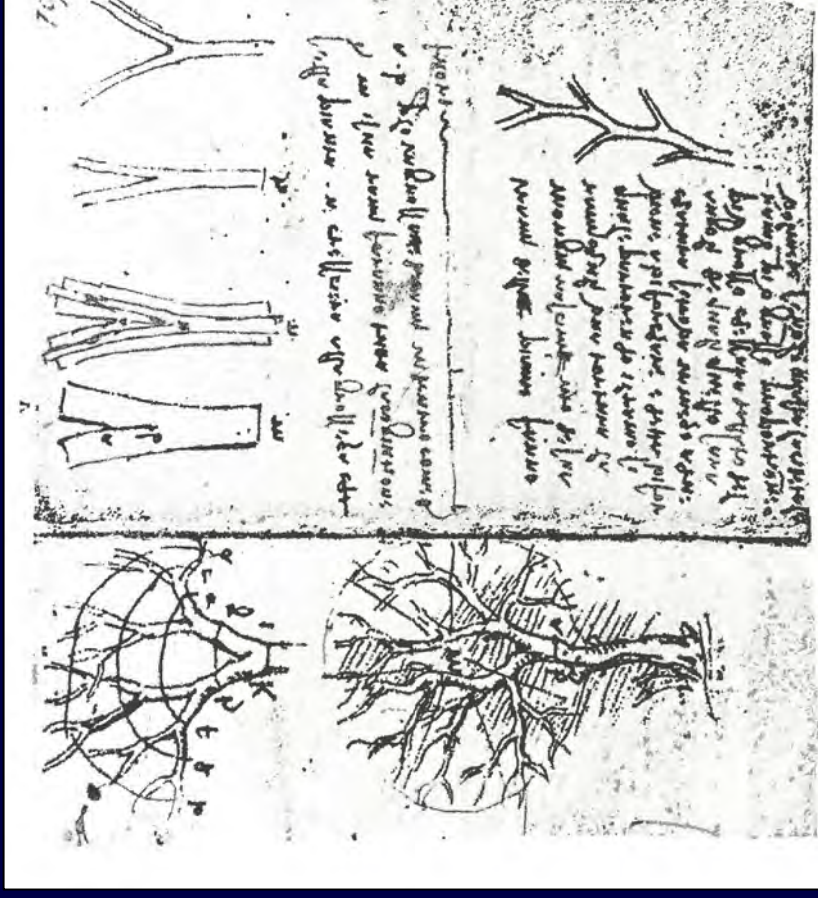
● Résistance hydraulique de la plante:

↳ influence le potentiel hydrique de l'ensemble de la plante

↳ Conditionne l'approvisionnement en eau des tissus

● Objectif:

Caractériser la résistance hydraulique au niveau des feuilles



Leonardo da Vinci

Objectif

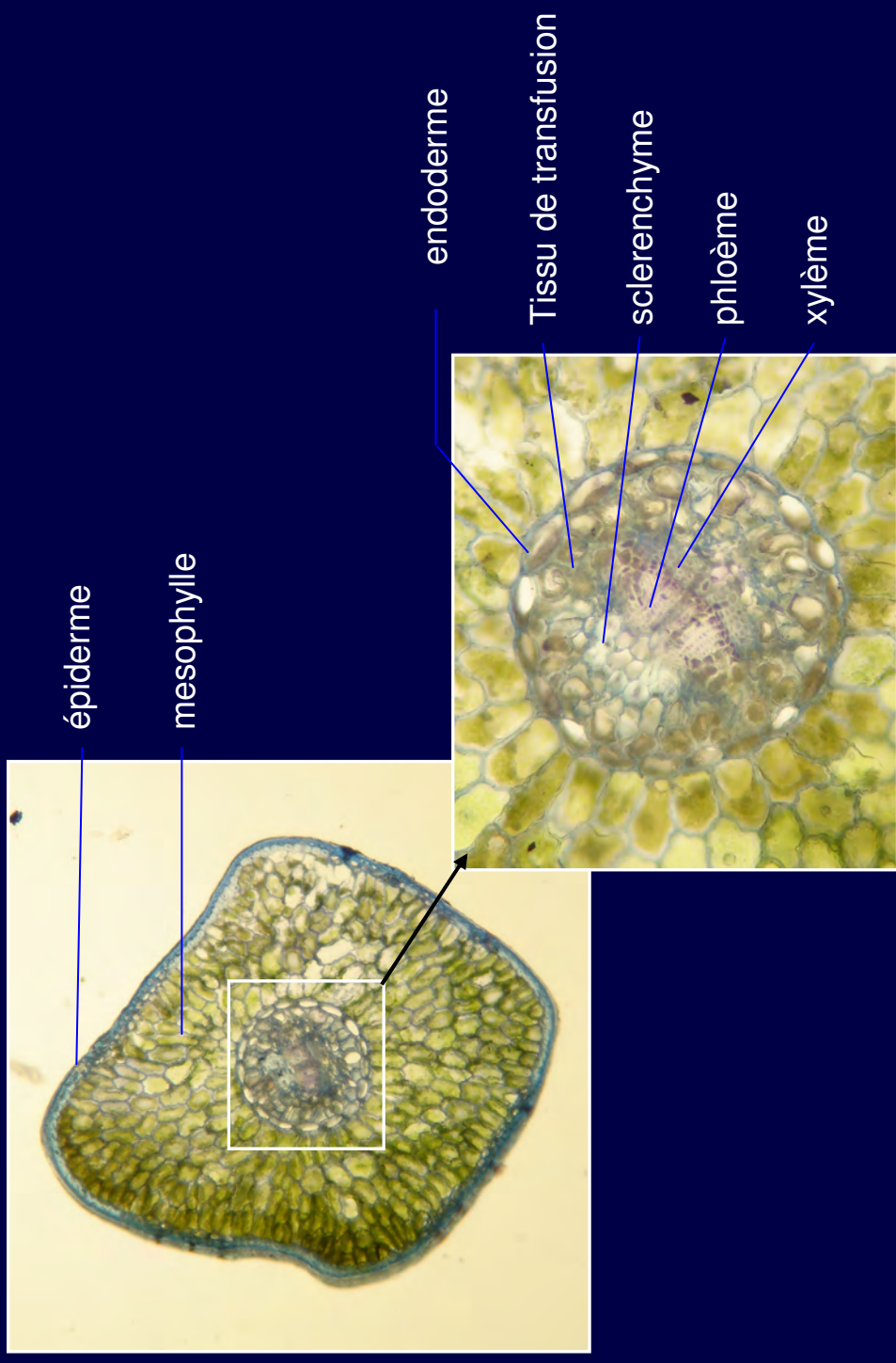


- Étude basée sur les conifères:
les aiguilles

- Déterminer la conductivité
hydraulique spécifique au niveau
du xylème des aiguilles



Conductivité hydraulique des aiguilles



La conductivité du xylème est influencée par le diamètre des trachéides, leur longueur et le nombre de ponctuations aréolées

Matériel et méthode

Matériel végétal



Picea abies L. Karst



Utilisation des aiguilles et des branches de l'année, d'un et deux ans



Pinus mugo



Utilisation des aiguilles de l'année et d'un an



jardin botanique d'Innsbruck
(Tyrol, 575m d'altitude)



Une nouvelle méthode pour mesurer la conductivité hydraulique des aiguilles



les aiguilles sont résolées le matin

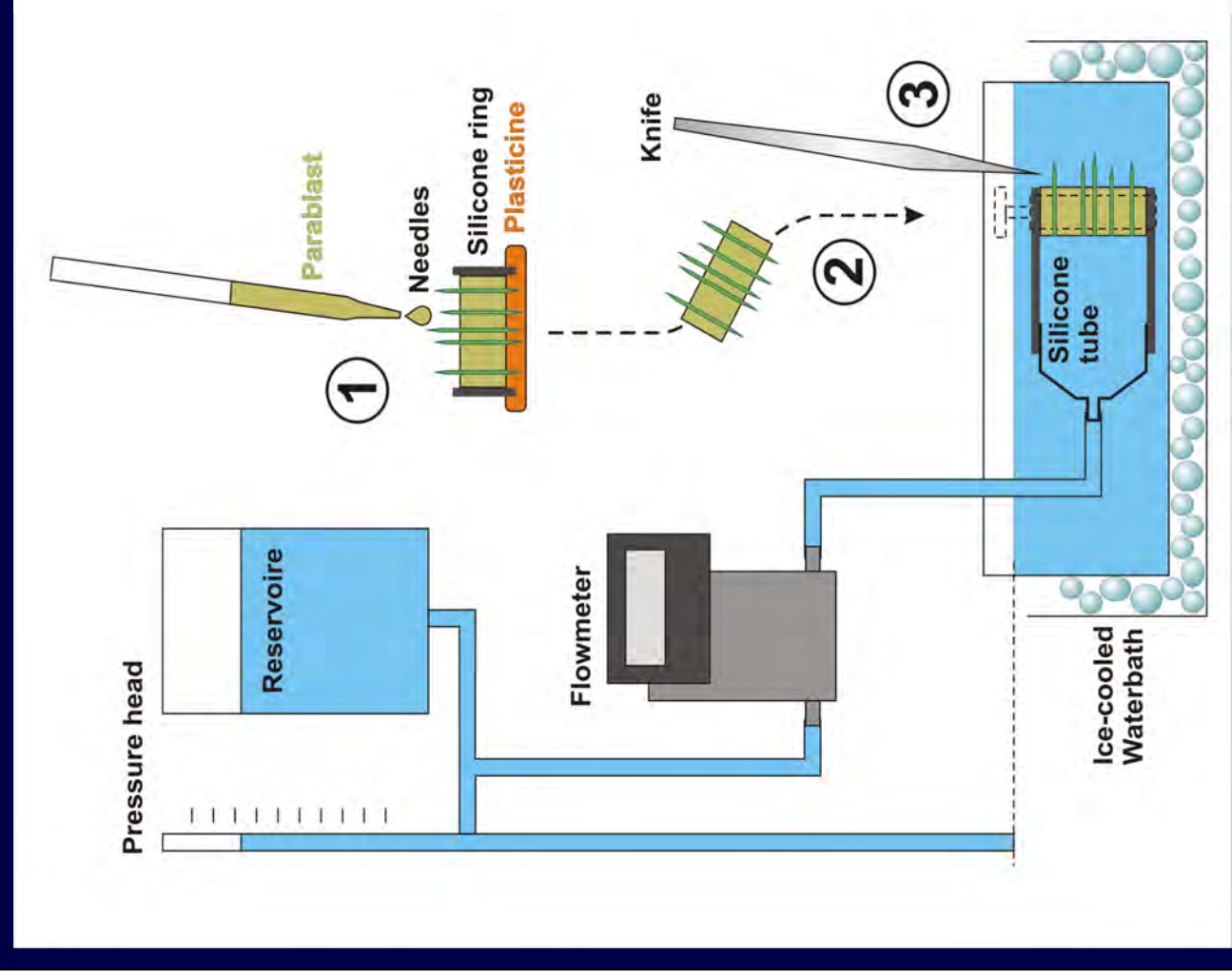


les aiguilles sont scellées dans un bloc de paraffine



Les blocs ont été mis au réfrigérateur (6 °C) pour leur solidification

Une nouvelle méthode pour mesurer la conductivité hydraulique des aiguilles



Mesure de la conductivité hydraulique du xylème:

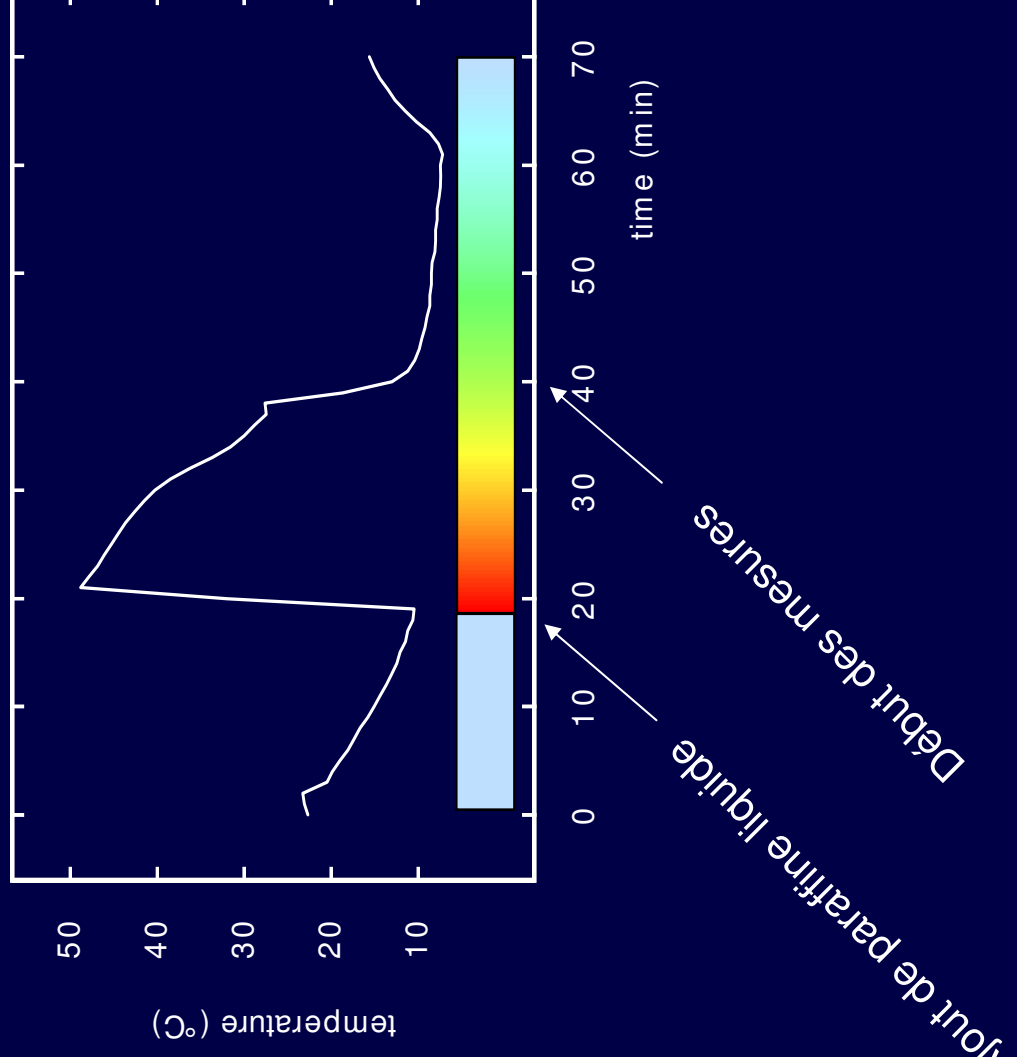
● Première mesure (contrôle) :
flux nul

● mesures suivantes:
flux net de la section centrale de
l'aiguille

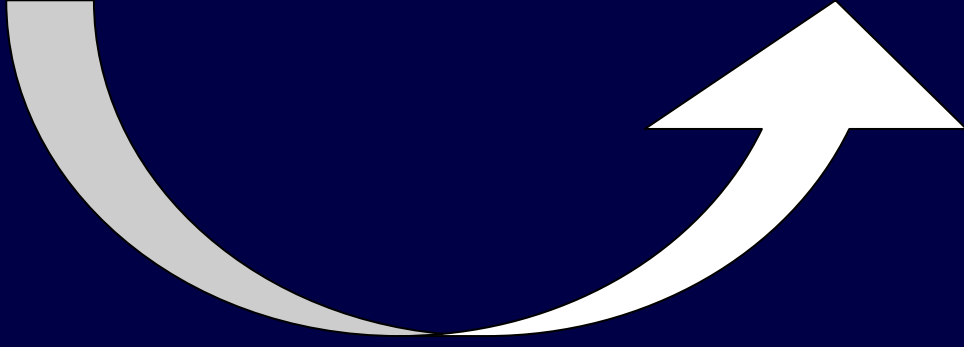
Matériel et méthode

Une nouvelle méthode pour mesurer la conductivité hydraulique des aiguilles

Evolution de la température des aiguilles lors de la préparation et de la mesure du flux hydraulique



Une nouvelle méthode pour mesurer la conductivité hydraulique des aiguilles



Flux net à travers l'échantillon (mg/h)

- Température de l'eau (3 à 10 °C)
- Nombre d'aiguilles par bloc de paraffine
- Pression (entre 0,007 et 0,02 Mpa)
- Longueur du bloc (mm)

$$K_{X_{\text{needle}}} = \text{Flux} * \text{longueur échantillon} / \text{pression}$$

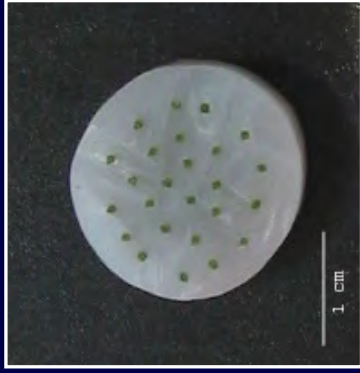
- Xylem area (μm^2)

Conductivité spécifique des aiguilles ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{MPa}^{-1}$)

$$K_s = K_{X_{\text{needle}}} / X_{\text{ylem area}}$$

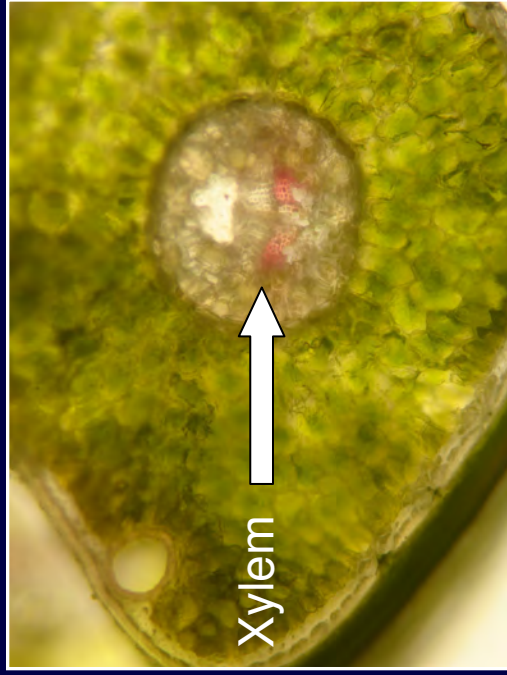
Matériel et méthode

Une nouvelle méthode pour mesurer la conductivité hydraulique des aiguilles



● Coloration avec Phloxin B (1% w/v)

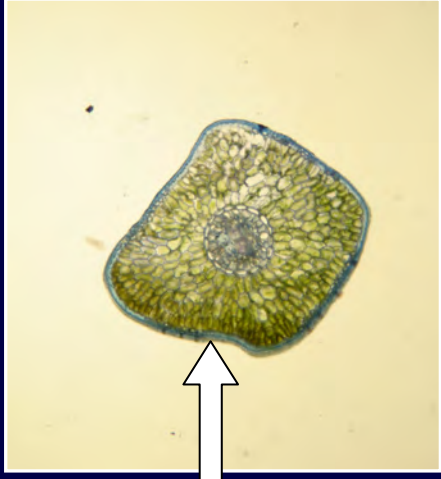
● Coupe transversale des aiguilles au milieu du bloc de paraffine



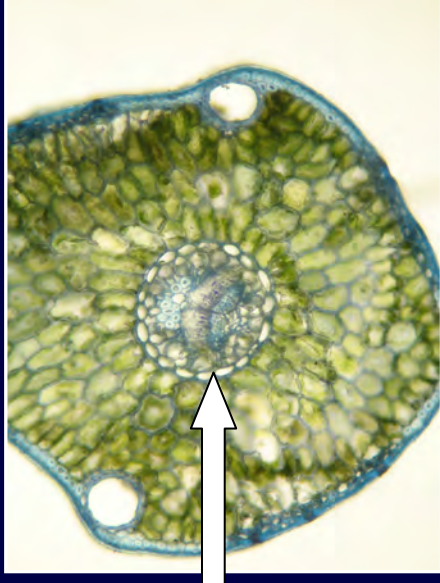
L'aire colorée indique les passages de flux d'eau lors des mesures

L'aire du xylème (μm^2)

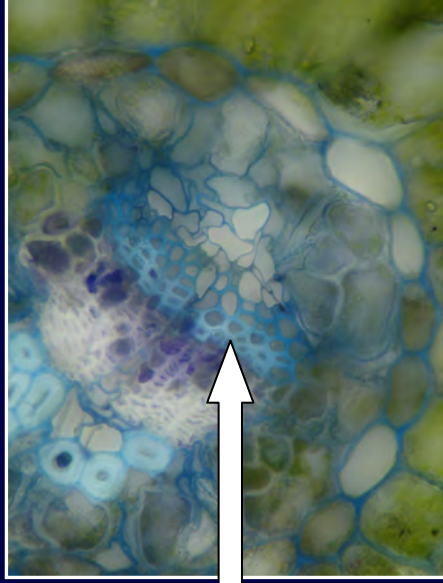
Utilisation d'un programme d'analyse de l'image (Image J, National Institutes of Health, USA) pour déterminer l'aire xylémique



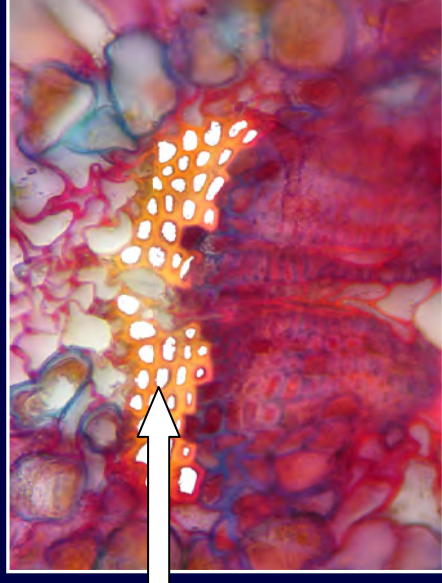
Aire de l'aiguille



Aire interne à l'endoderme



Aire xylémique



Aire des trachéides

Mesures de conductivités

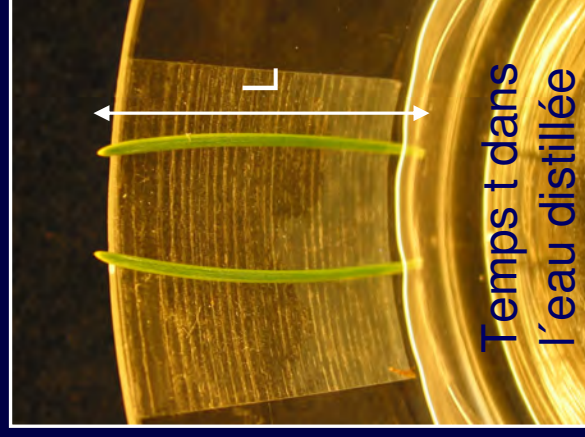


● Mesures de la conductivité des branches de l'épicéa avec « XYL'EM »



● Mesures de conductivité des aiguilles entières de *Pinus mugo* avec la méthode de réhydratation :

Mesure initiale du potentiel hydrique



Mesure finale du potentiel hydrique

Capacitance C des aiguilles de *Pin mugo*

Conductivité K_s de l'aiguille de pin mugo
[$m^2 \cdot s^{-1} \cdot MPa^{-1}$]

Matériel et méthode

Mesures de conductivités

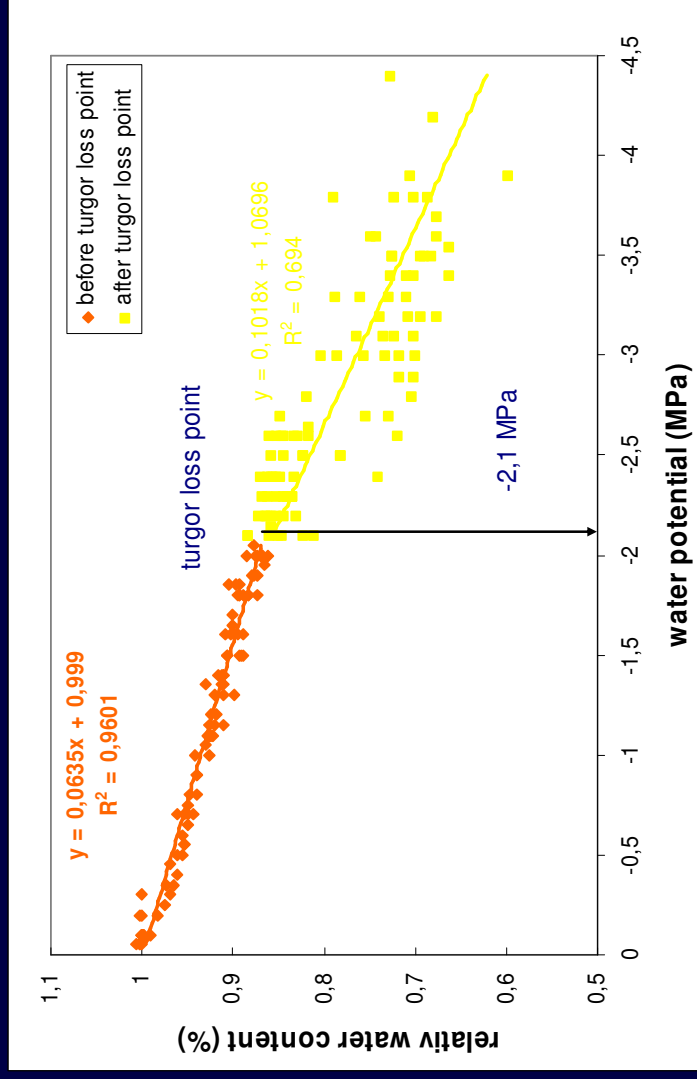


Capacitance C des aiguilles de *Pin mugo*:

$$C = \Delta RWC / \Delta \Psi * WW * 1/Xa * „1/2L“$$



Pinus mugo



Two-phase function fitted to pressure volume data for *Pinus Mugo* Needles (RWC Threshold 0,87)



Conductivité des aiguilles de *Pin mugo*:

$$K_s = C * \ln (\Psi_0 / \Psi_f) / t$$

Picea abies: conductivité



Picea abies

needles	N0	N1	N2
$K_{X_{needle}} [m^4 \cdot s^{-1} \cdot MPa^{-1} \cdot needle^{-1} \cdot 10^{-12}]$	0.88 ± 0.14^a	1.00 ± 0.21^a	0.55 ± 0.11^a
$K_s [m^2 \cdot s^{-1} \cdot MPa^{-1} \cdot 10^{-4}]$	4.08 ± 0.65^a	4.64 ± 0.96^a	2.18 ± 0.43^a
axes	A0	A1	A2
$K_s [m^2 \cdot s^{-1} \cdot MPa^{-1} \cdot 10^{-4}]$	4.82 ± 0.57^a	5.65 ± 0.36^a	$4.86 \pm 0.74^{a*}$

- La conductivité diminue fortement dans les aiguilles de 2 ans
- Les aiguilles montrent une conductivité 29% inférieure à celle des branches

Picea abies: anatomie



Picea abies

needles	N0	N1	N2
needle area [mm ²]	0.75 ± 0.001 ^a	0.59 ± 0.001 ^b	0.60 ± 0.003 ^b
xylem area [μm ²]	2288 ± 102 ^a	2200 ± 80 ^a	2521 ± 99 ^a
tracheid diameter d [μm]	3.91 ± 0.05 ^a	3.72 ± 0.05 ^b	3.67 ± 0.05 ^b
hydraulic diameter dh [μm]	5.39 ± 0.01 ^a	5.39 ± 0.01 ^a	5.45 ± 0.01 ^b
axes	A0	A1	A2
tracheid diameter d [μm]	6.57 ± 0.04 ^{a*}	7.25 ± 0.03 ^{b*}	7.31 ± 0.04 ^{b*}
hydraulic diameter dh [μm]	8.84 ± 0.01 ^{a*}	10.11 ± 0.01 ^{b*}	11.01 ± 0.01 ^{c*}

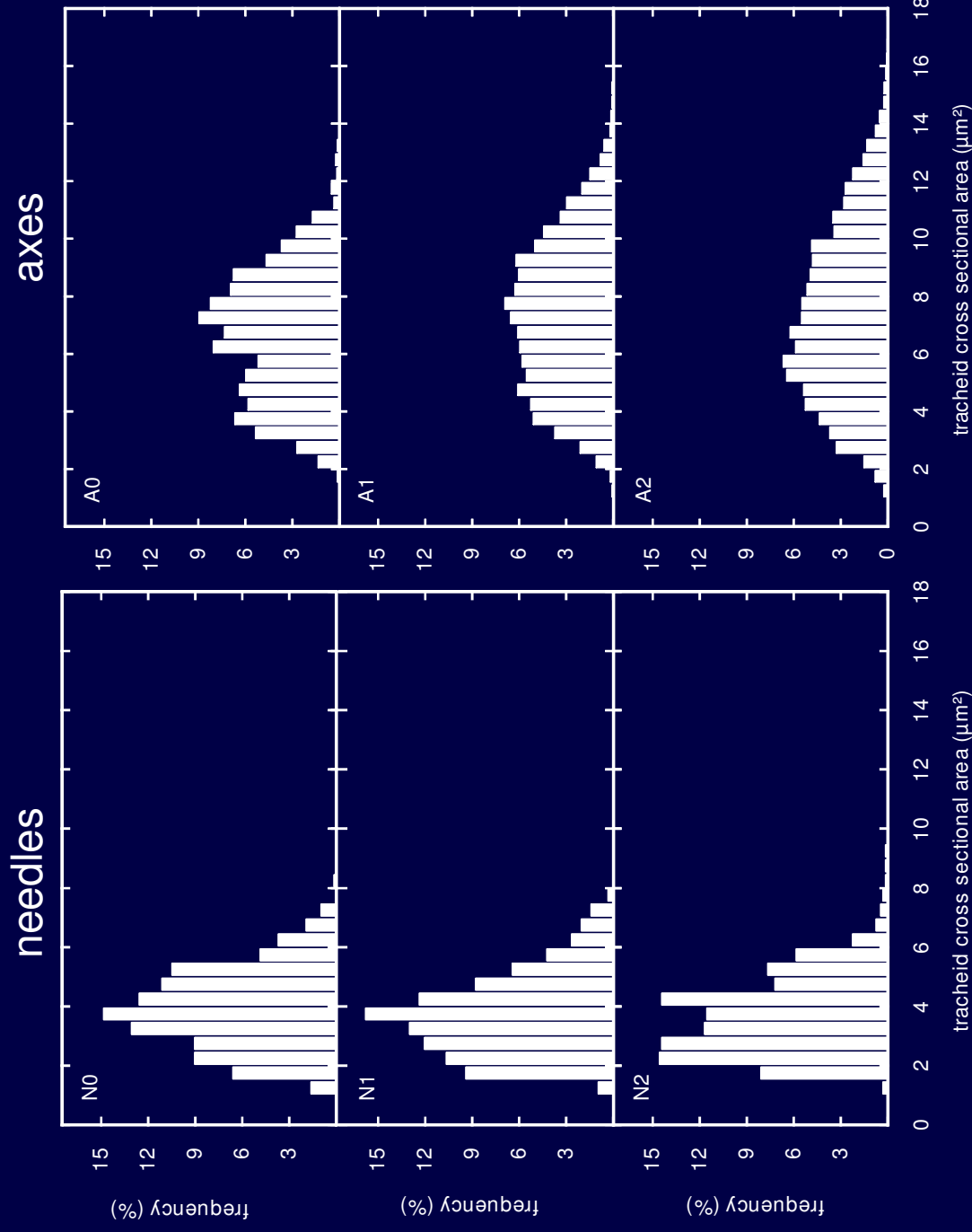
- Pas d'évolution nette dans les aire ou diamètres mesurés
- Le diamètre des trachéides ainsi que leur diamètre hydraulique sont significativement plus petits (46%) dans les aiguilles que dans les branches

Résultats

Picea abies: anatomie



Picea abies



 Pas d'évolution avec le temps

 Conductivité plus faible des aiguilles

Résultats

Picea abies: anatomie

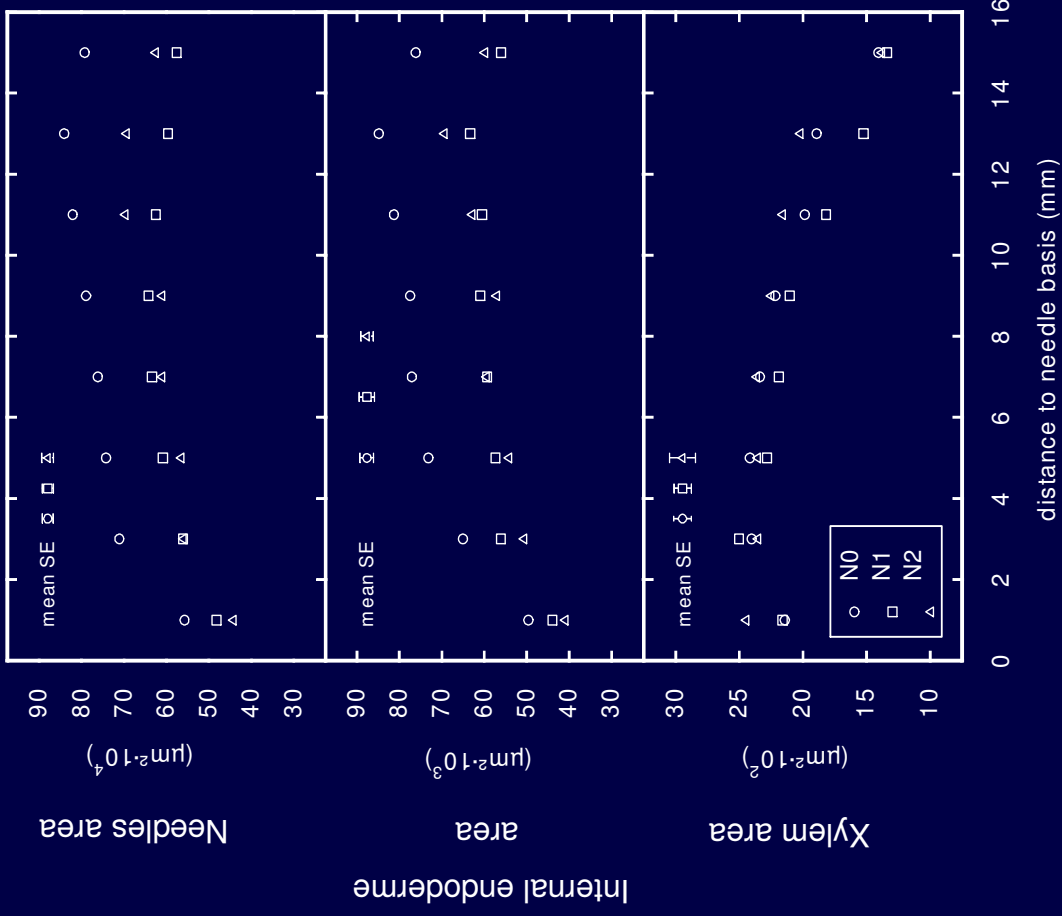


Picea abies

Tandis que l'aire de l'aiguille et l'aire interne à l'endoderme augmentent le long de l'aiguille, l'aire xylémique diminue



Diminution des besoins en eau à l'extrémité finale de l'aiguille



Pinus mugo: conductivité



Pinus mugo

needles	Xylem conductivity	rehydration
K_s [$m^2 \cdot s^{-1} \cdot MPa^{-1} \cdot 10^{-4}$]	0.899 ± 0.152	0.0159 ± 0.003

🌲 Conductivité xylémique $K_s \gg$ conductivité de l'aiguille entière

↳ La conductivité xylémique représente 98,2% de la conductivité globale de l'aiguille

La résistance xylémique est moindre, voire insignifiante par rapport à la résistance du tissu de transfusion et du mésophylle

Discussion / Conclusion



Conductivité chez l'épicéa

Les aiguilles présentent une conductivité xylémique globalement inférieure à celle des branches



Conductivité chez le pin mugo

En dehors du xylème, l'aiguille présente une résistance hydraulique très importante



Evolution, perspectives:

Quelle efficacité hydraulique pour les aiguilles?

Remerciements:



Fonds zur Förderung der Wissenschaft Forschung



Universität d'Innsbruck



Projet Amadeus (Egide, ÖAD)



Stefan Mayr



Guillaume Charrier, Hervé Cochard et Thierry Améglio



Collègues et amis de l'institut de Botanique d'Innsbruck

Merci de votre attention !





Ultrasonic Acoustic Emissions in xylem of angiosperms during freeze/thaw events

Charrier Guillaume, Charra-Vaskou Katline, Mayr
Stephan, Cochard Hervé et Améglio Thierry.

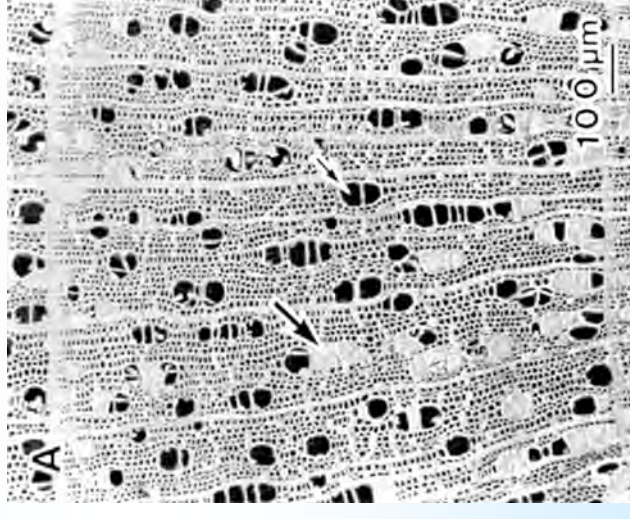
Winter embolism

During winter, succession of freezing/thawing (FT) events generates embolism formation in xylem vessels and in tracheids too.

Summer



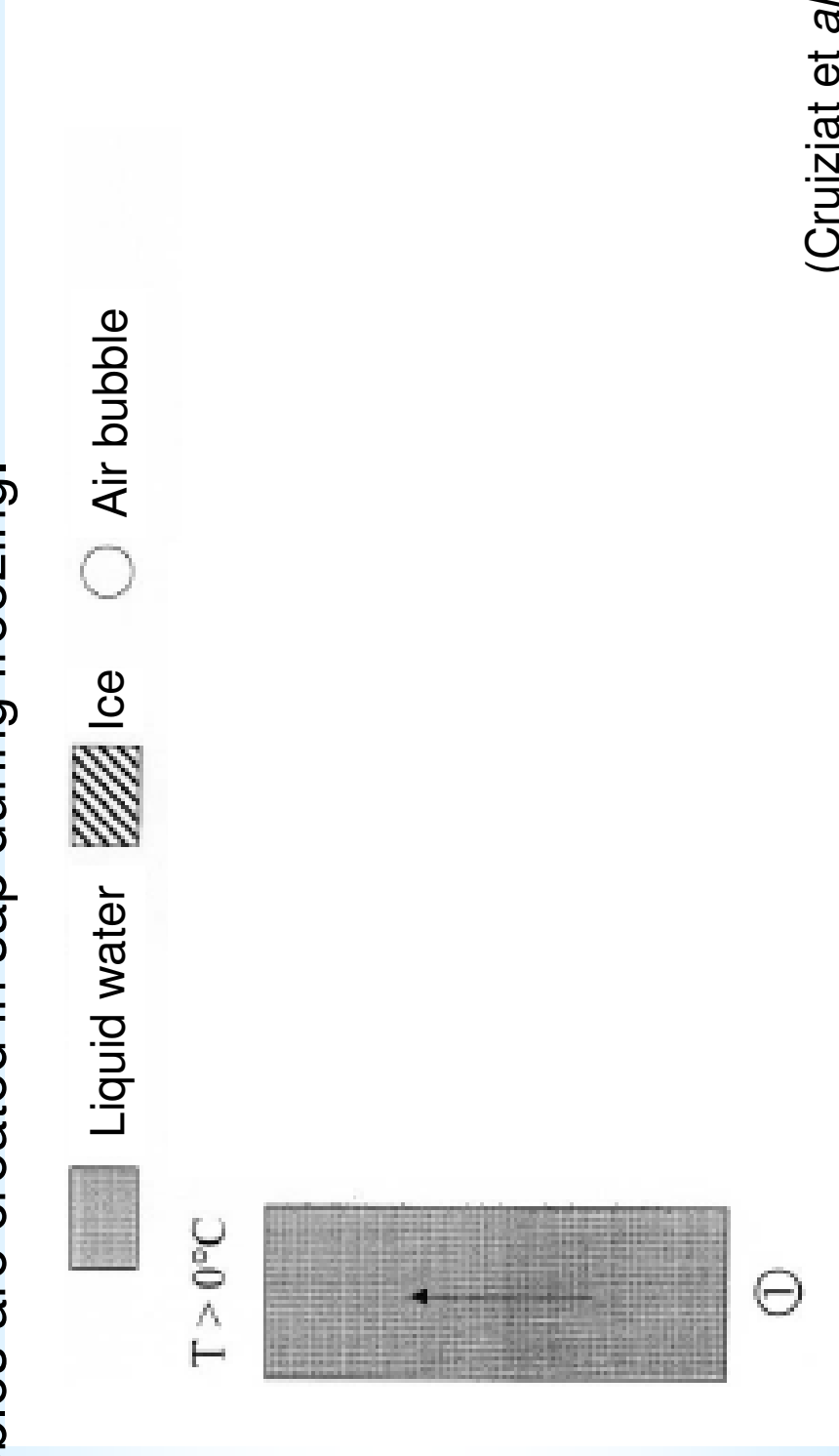
Winter



Betula platyphylla, (Utsumi *et al.*, 1998)

How embolism happens ?

The common hypothesis explaining this phenomenon is that air bubbles are created in sap during freezing.



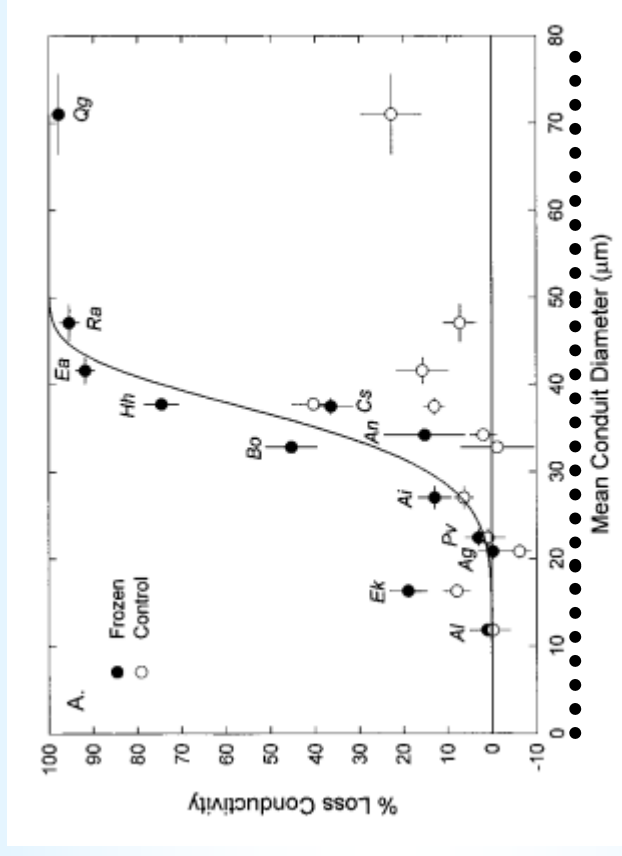
(Cruiziat et al., 2002)

At thawing, 2 possibilities (related to bubble size and water potential of the sap):

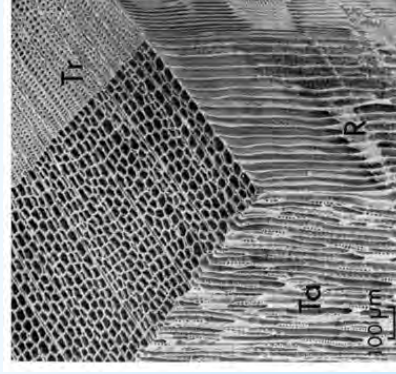
- Sap dissolution No Embolism
- Expansion and cavitation in vessel Embolism

Mean Conduit Diameter

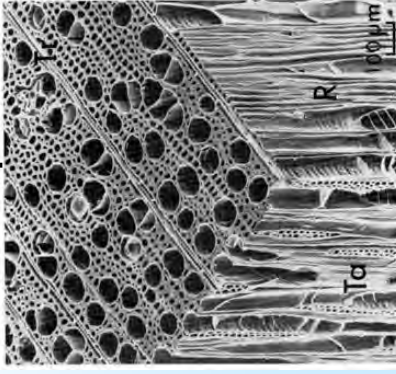
One main factor is the conduit diameter as it was shown by after one freeze/thaw event (Davis et al., 1999).



Tracheids



Diffuse porous

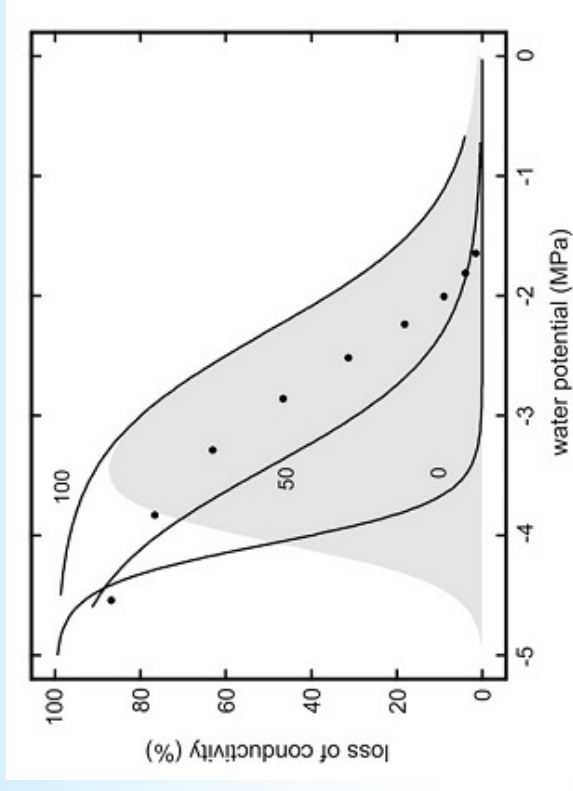


Porous zone

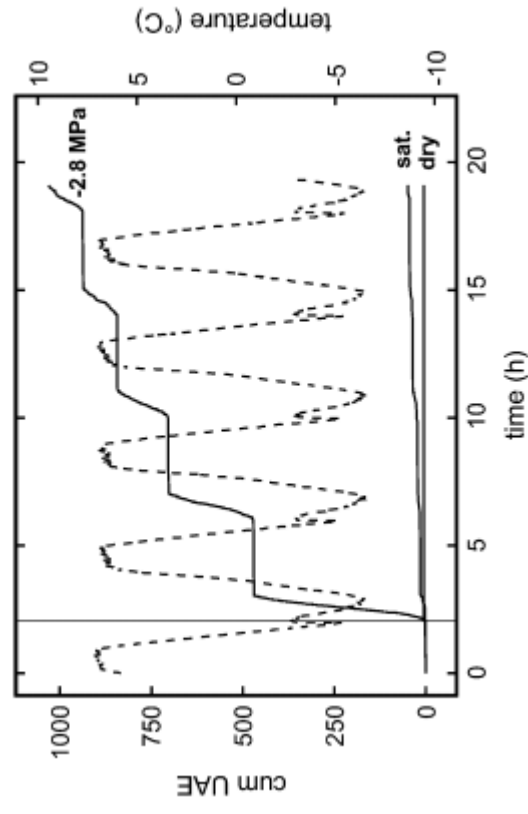


Water Potential

- Another important factor is the water potential of sap and the number of Freeze/Thaw Cycles.



Mayr et al., 2007



- In the same study, it was shown that Ultrasonic Acoustic Emissions (UAE) was generated only on partially deshydrated stems.

Acoustic Emission

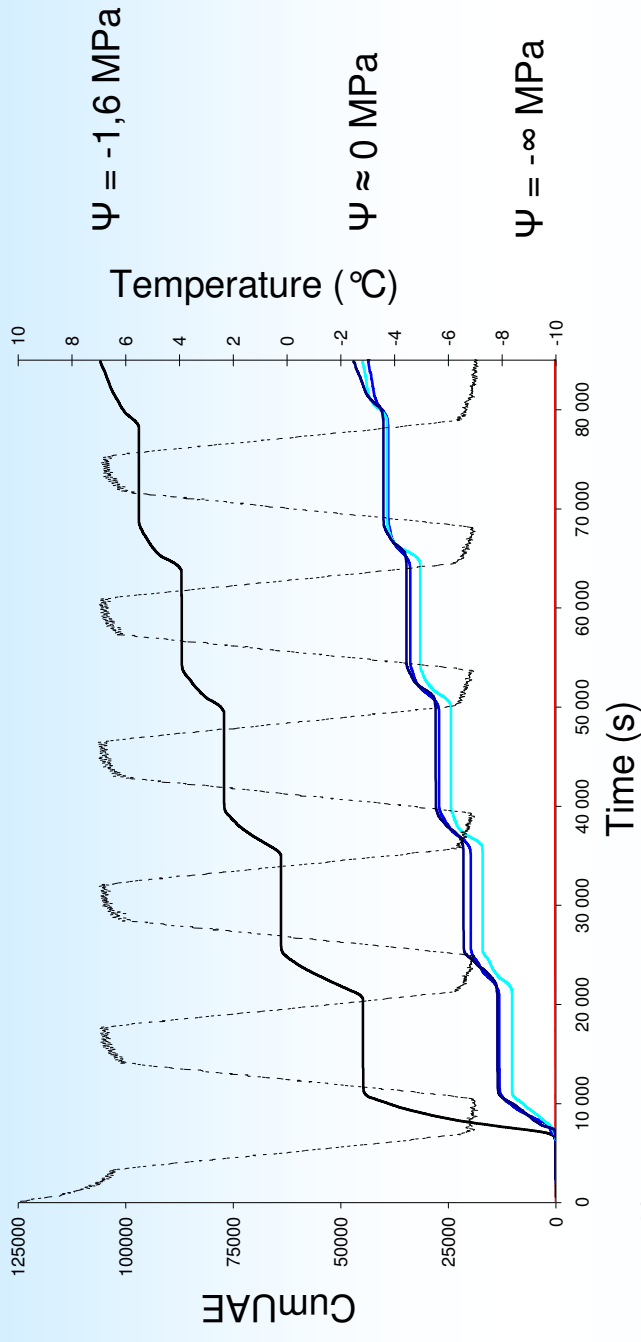
- Acoustic emission detection had permitted a great forward step in understanding cavitation phenomenon since Milburn (1966) with earable signals and Tyree & Dixon (1983) on ultrasonic's.
- During dehydration :
 - When cavitation occurs, there is a rapid relaxation of a liquid tension that produces an acoustic emission of energy.
 - During dehydration, number of total recorded emissions is different to number of vessels.
- During freezing :
 - ultrasonic acoustic emission are detected but not during thawing.
 - acoustic emission could be detected from stems only from moderately deshydrated samples.
 - number of total recorded emissions is much higher than the number of vessels (UAE from other tissues, cell wall).

Method

- In this study, we wanted to check results greatly obtained on conifers, on angiosperm species with different histological characteristics :
 - *Fagus sylvatica*
 - *Sorbus aucuparia*
 - *Juglans regia*
- Peak detection parameters were :
 - preamplification gain : 40dB
 - acquisition threshold : 45dB
 - Time threshold : 400 μ s
- Effect of freeze/thaw cycles were measured on 30cm length stems for *Fagus sp* and *Sorbus sp* and 50cm stems for *Juglans sp*, envelopped in parafilms.

Repeated FT Cycles (+7 / -7°C)

Juglans regia



Similar results that conifers :

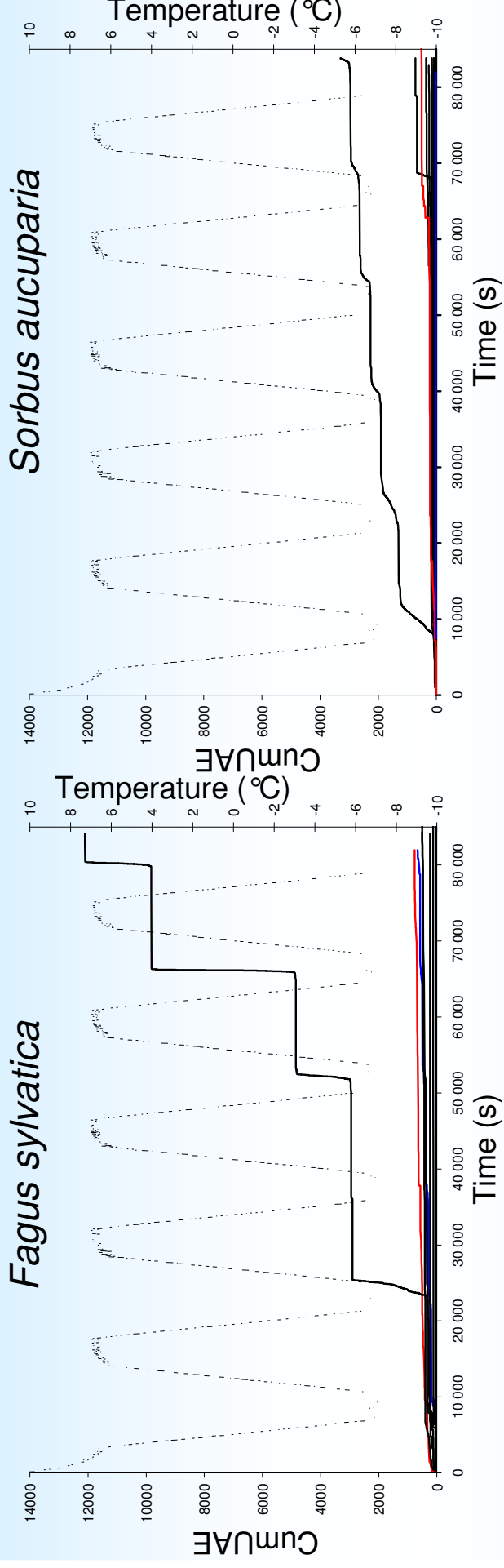
- No UAE in dry samples.
- Few UAE in fully hydrated samples.
- No difference between fully hydrated samples flushed with air, with water or not flushed.
- UAE occurred only during freezing.
- Number of UAE decreased with the number of cycles.
- More UAE than the number of vessels we can expect in the stem.

Not directly embolism measure, this method might reveal sound caused by bubble formation (cavitation) in freeze sap ?

Will it be the same behaviour on other species of angiosperms ?

Repeated FT Cycles (+7 / -7°C)

We made the same experiment on :



Only one sample for each species showed significant UAE :

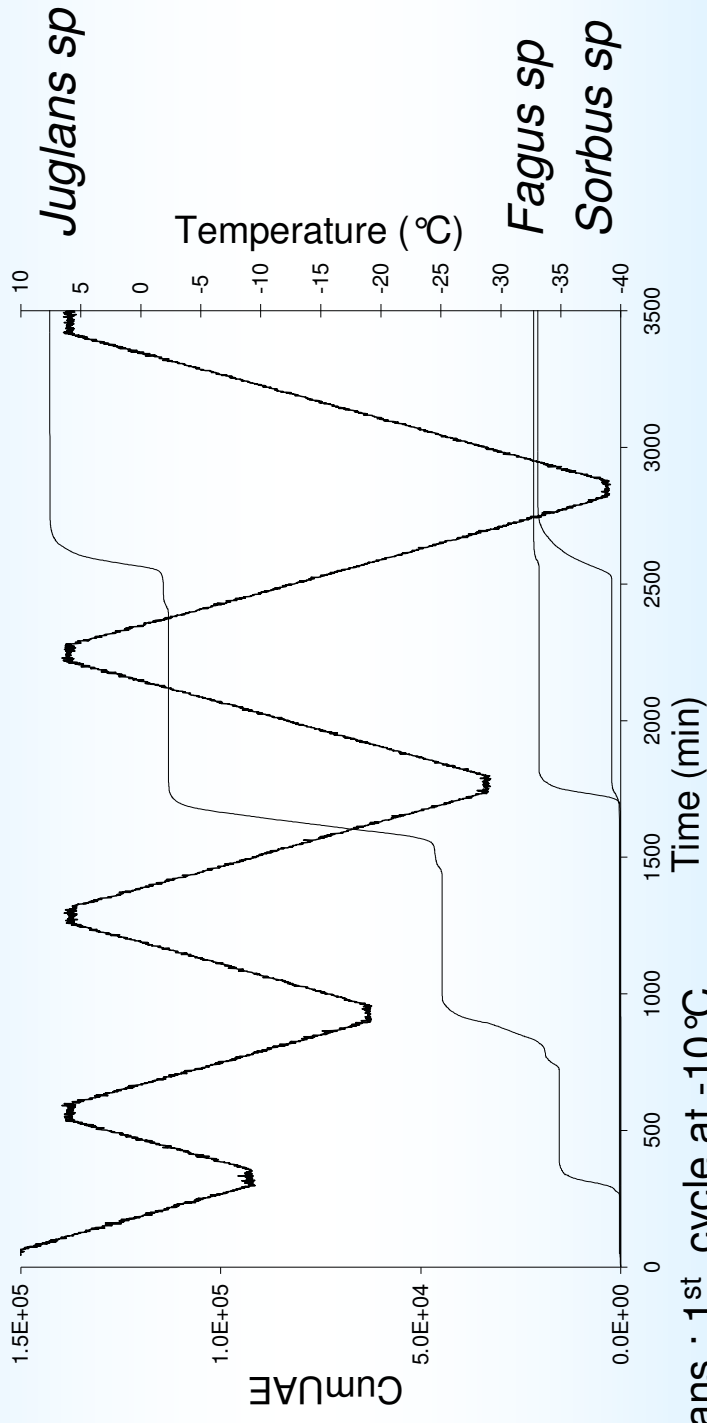
On *Fagus* sp it was for a $\Psi = -1,6$ MPa

On *Sorbus* sp we tried 16 different Ψ between -0,45 and -2,0 MPa, but only one sample at -1,0 MPa generated UAE.

- Others Ψ ?
- Effect of freezing temperature ?

Lower FT Cycles

- The effect of freezing temperature on UAE was tested.
- Different samples were progressively freeze/thaw cycles.
- For *Sorbus sp* and *Fagus sp*, UAE is initiated for significantly lower temperatures than for *Juglans sp* :



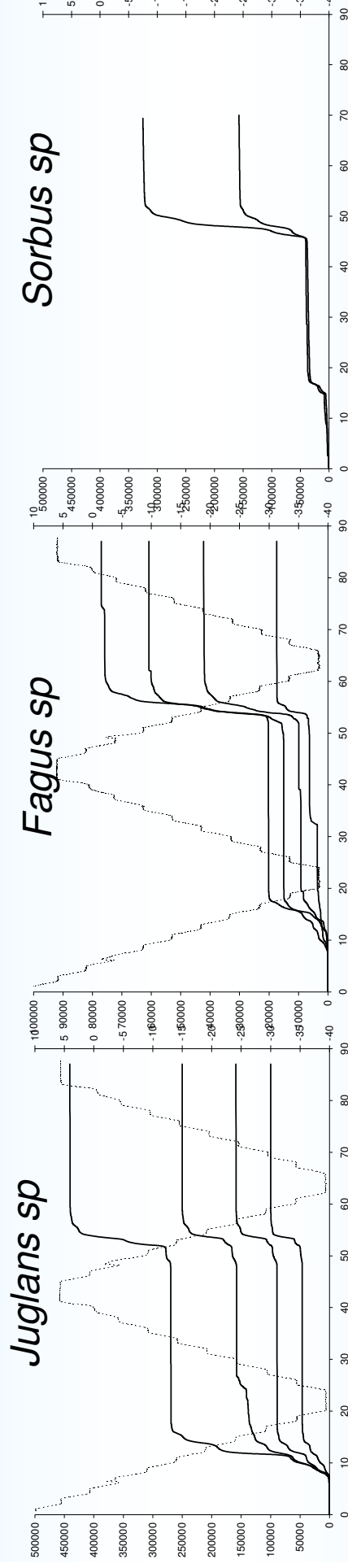
- *Juglans* : 1st cycle at -10 °C
- *Fagus* : 3rd cycle at -30 °C
- *Sorbus* : 3rd at -30°C with a few UAE but much more at -40 °C

These temperatures are really lower than Sap congelation point \approx -5 °C.

Differential Thermic Analysis for determination of Low Temperature Exotherm ?

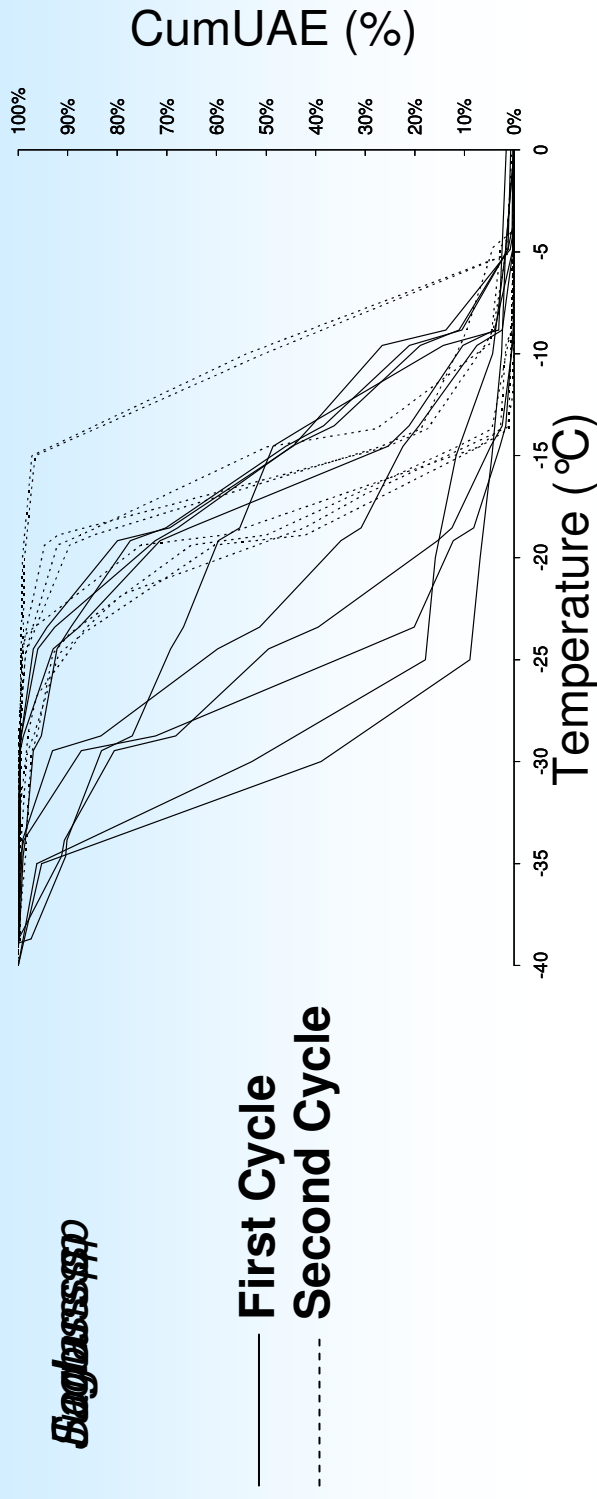
Progressive Freezing

- The difference between species established in term of relationship between freezing temperature and UAE, we wanted to characterize it more precisely.
- A progressive freezing and thawing was made by 5°C steps.



1. Since -10°C, we were able to detect UAE on *Juglans sp*.
On *Fagus sp* it was between -10 and -20°C and on *Sorbus sp* at freezing temperature lower than -25°C
2. On the second cycle the pattern is the similar for *Juglans* while other species showed a shift :
Water flux between tissues ?

CumUAE and freezing temperature



Species	Temperature of 50% UAE Cycle 1	Temperature of 50% UAE Cycle 2
Juglans (n=4)	-16,27 +/- 1,07	-15,80 +/- 0,29
Fagus (n=4)	-22,22 +/- 2,04	-18,39 +/- 0,90
Sorbus (n=2)	-29,88 +/- 0,78	-9,91 +/- 0,08
Significative difference	+	+ Sorbus / 2 others (UAE) + Fagus / 2 others (Energy)

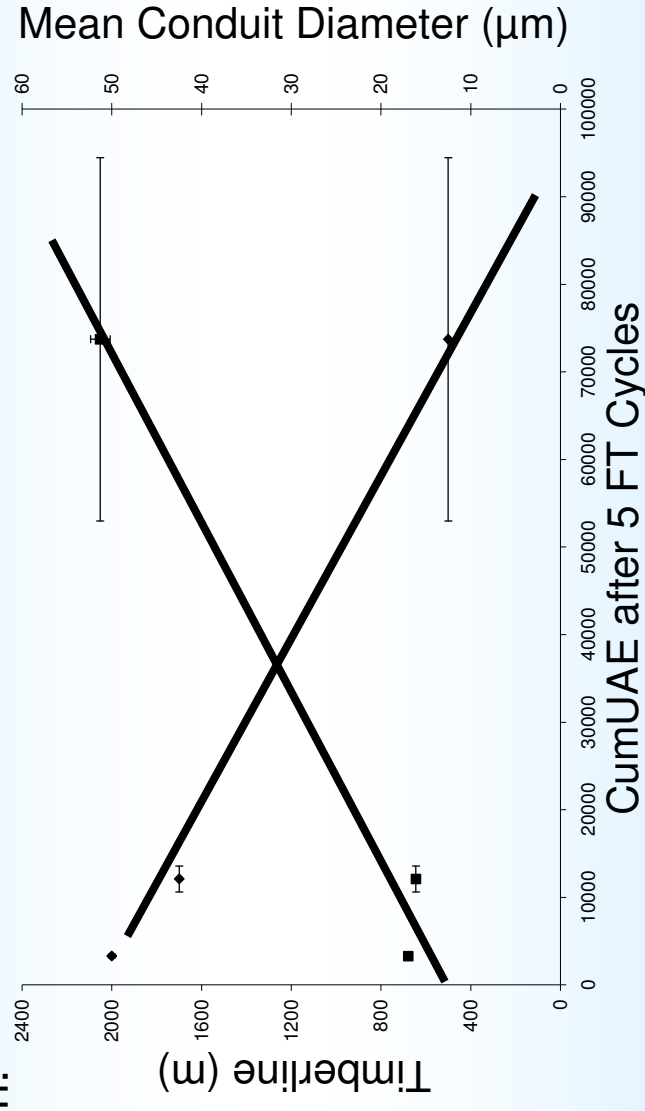
Ice formation in cambial zone generated a water flux affecting the behaviour on the second cycle.

Differences of water flux from xylem to wood between species is shown during first cycle

On the second one, Water is located in cambial zone and didn't diffuse back to wood.

Some reflexion elements

- Despite not enough repetition for powerful statistic tests, we had a look for correlation between UAE and histological, ecological or physiological parameters.
- Some correlated datas are coming from literature, from sampling at different time or different trees, but giving some elements for interspecific comparison.



Larger vessels making more UAE

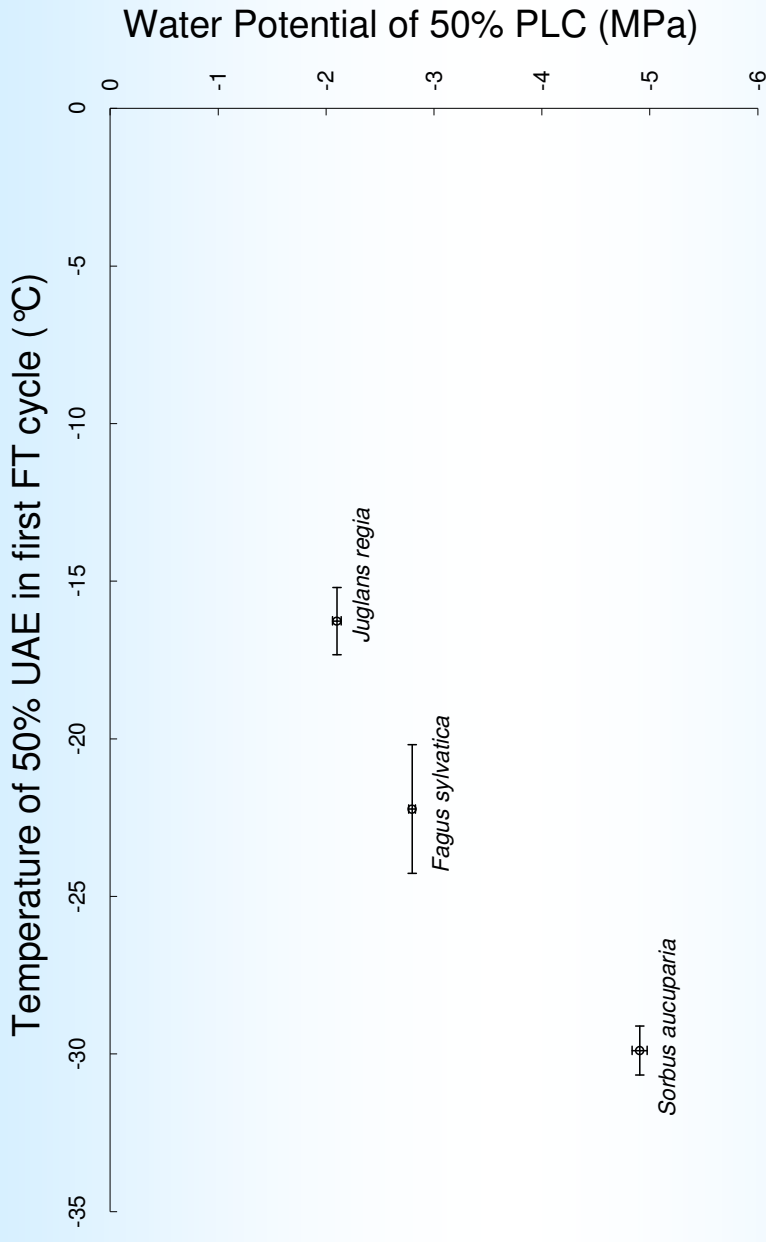
Total number of UAE higher than total number of vessels

UAE only on freezing

Ability to support winter/embolism is probably a key for survival at higher limits

Are UAE coming from air
bubble formation in
frozen sap or
embolized vessel ?

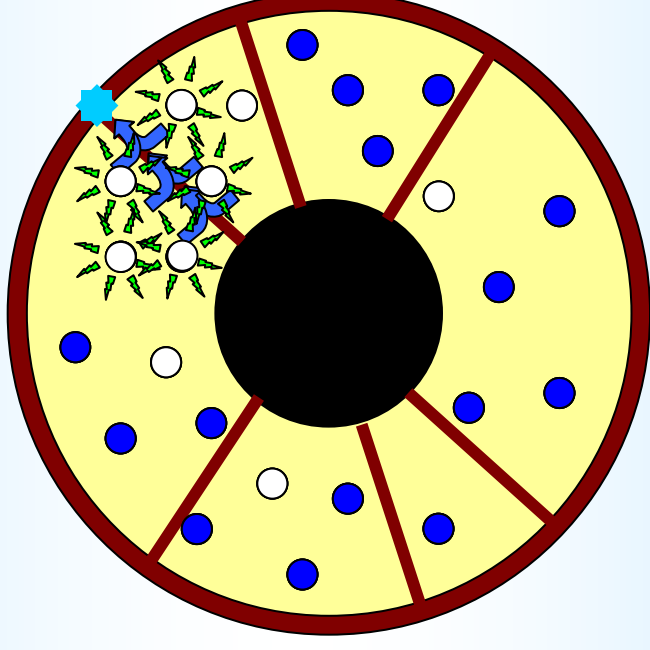
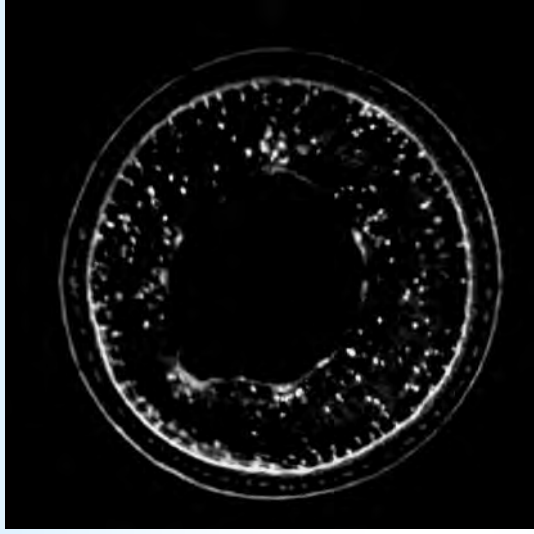
Some reflexion elements



- The temperature generating 50% of UAE seems to be correlated :
 - With Water potential generating 50% of embolism on a first Freeze/Thaw cycle.
- Ice by dehydration of adjacent tissues may generate a similar phenomenon as summer embolism.

Some reflexion elements

Beddy, Hydratation des Systèmes / MPA 2 MPa



Visualisation en RMN :

Juglans regia (pores diffus)

1 cycle Gel/Dégel :

+15°C/-10°C/+15°C

⇒ Nbr. vaisseaux ↗ 67%

(Améglio et al. : en préparation)

Freezing

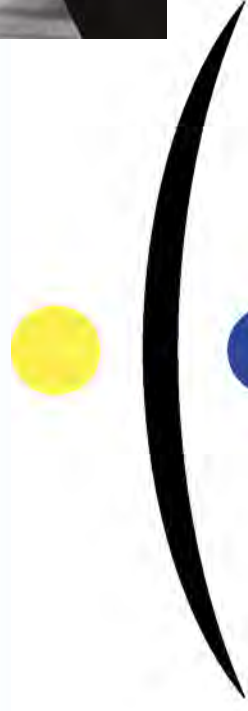
No difference of water potential
between tissues → No water fluxes
→ No UAE

Conclusions and perspectives

- This technique permits phenotyping different species or varieties in term of behaviour in freezing.
 - UAE are generated
 - at freezing,
 - at different temperature depending on the species
 - Number of total UAE seems to be reliable with mean conduit diameter.
 - UAE along a temperature gradient seems to be comparable with vulnerability curves.
- But lots of questions are still unanswered and the first is :
 - What is this measured signal ?
 - Can it be reliable to winter embolism ?
 - Why UAE ignition's temperature is lower for some species than ice formation in xylem's sap ?
 - What are the effects of repeated freezing on water fluxes between tissues and how is it quantifiable by UAE ?
 - Can we extend those results on other species contrasted between drought sensitivity, frost sensitivity and mechanisms of embolism reparation ?
 - Birch freezing resistant and cavitation sensitive, able to make root pressure
 - Oak freezing sensitive and embolism sensitive, no winter embolism resorption
 - Other intermediate species
 - Winter embolism is generated during freezing or thawing ?
- We need to repeat experiments with LT50, vulnerability curve, vessels size measurements, wood density and UAE on the same trees, at the same time in deep winter.

Acknowledgements

- This Amadeus project was possible with help of Egide and ÖAD in a partnership Hubert Curien.



Influence des phases de la lune sur la cavitation



Hervé Cochard

UMR-PIAF, INRA, Clermont-Fd

Groupe Xyleme 2009

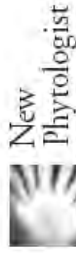
Trees

DOI 10.1007/s00468-009-0376-2

ORIGINAL PAPER

Looking for differences in wood properties as a function of the felling date: lunar phase-correlated variations in the drying behavior of Norway Spruce (*Picea abies* Karst.) and Sweet Chestnut (*Castanea sativa* Mill.)

Effets de la lune?



Research

Des-astres ?

Rapid report

A relationship between galactic cosmic radiation and tree rings

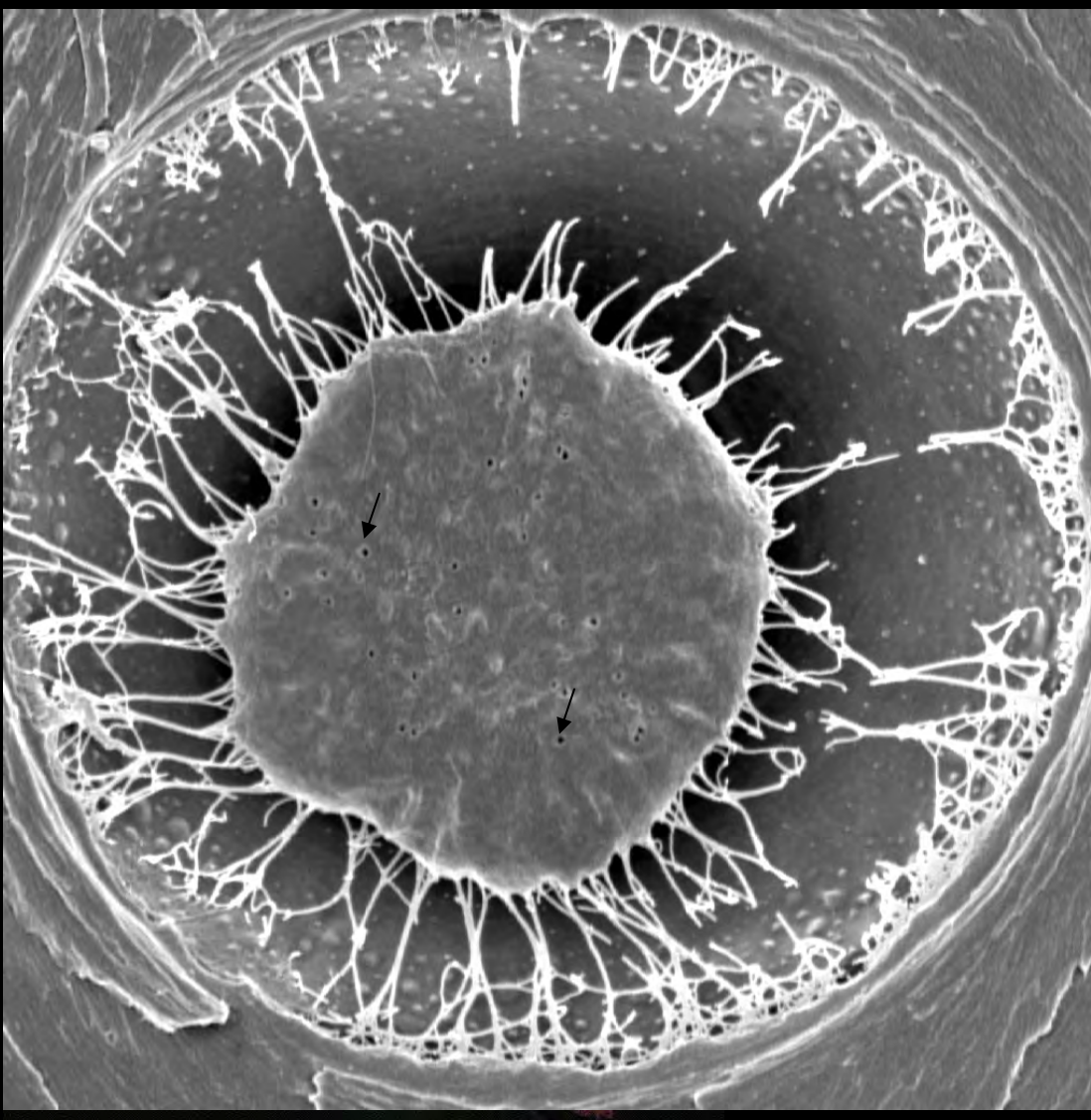
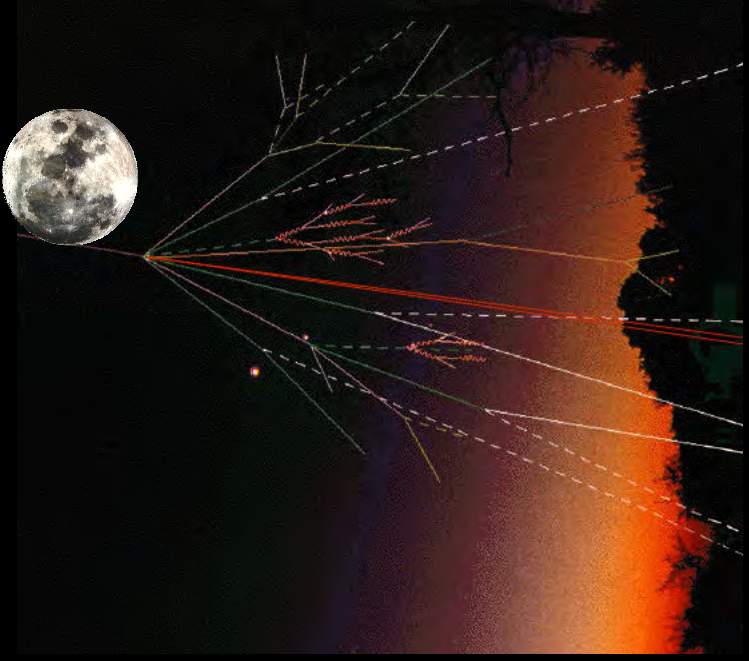
NATURE | VOL 392 | 16 APRIL 1998

scientific correspondence

Tree stem diameters fluctuate with tide

« High energy cosmic rays make pores in tree pit membranes »

NATURE 2011



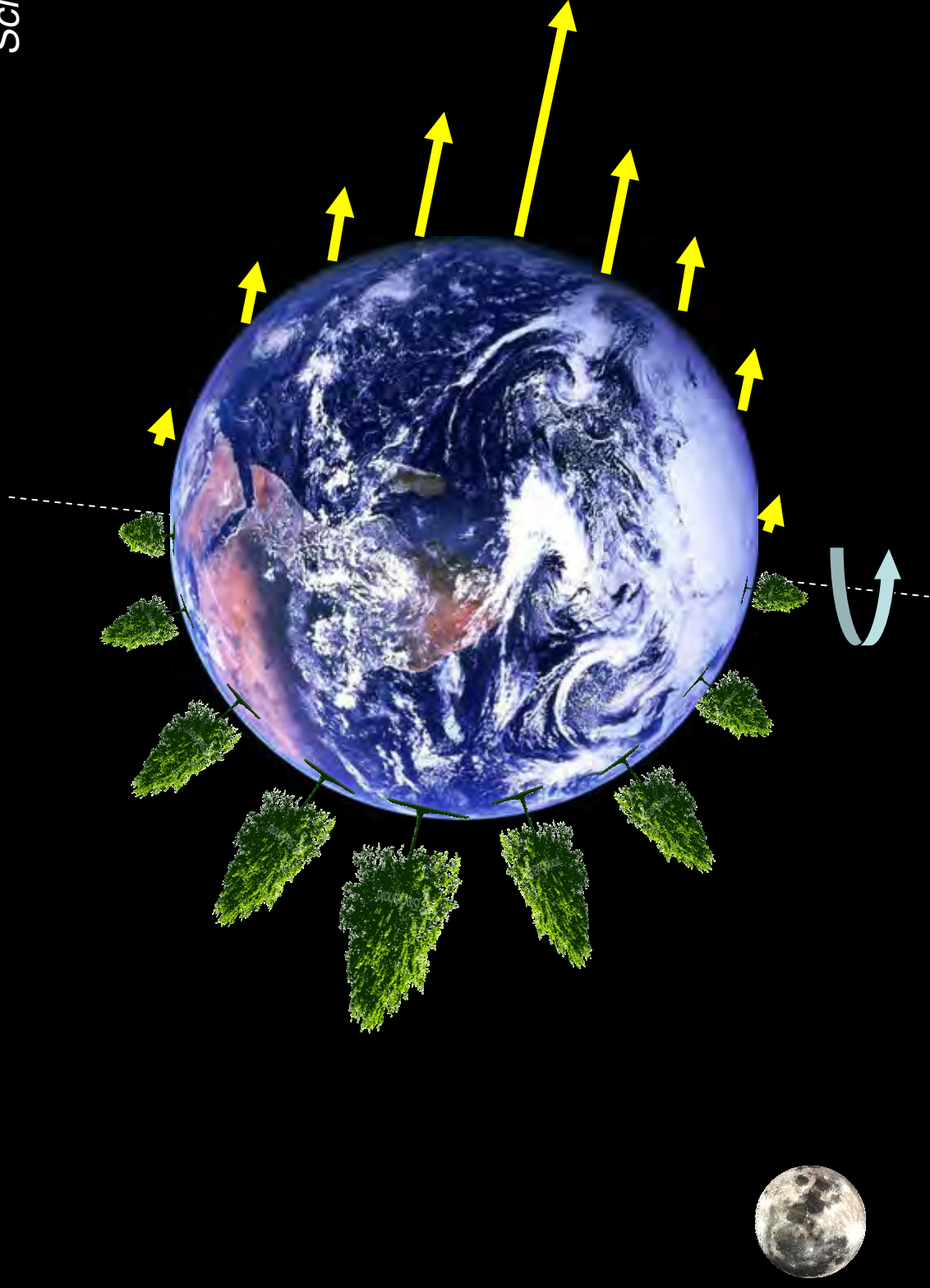
The « rare pore »
hypothesis finally
explained!

Delzon's "overlap" hypothesis
definitively rejected

(Photo S Jansen et al)

Earth rotational force sets maximum tree height !

Science 2012



Delzon retracts his papers on the effects of tree hydraulics on height

Drought sensitivity shapes species distribution patterns in tropical forests

Engelbrecht BMJ, Comita LS, Condit R, Tyree MT et al. 2007
NATURE : 7140 80-82

Times Cited: **43**

Hydrogel control of xylem hydraulic resistance in plants

Zwieniecki MA, Melcher PJ, Holbrook NM. 2001

SCIENCE : 5506 1059-1062

Times Cited: **155**

Sustained and significant negative water-pressure in xylem

Pockwan WT, Sperry JS, Oleary JW 1995

NATURE : 6558 715-716

Times Cited: **135**

Tree stem diameters fluctuate with tide

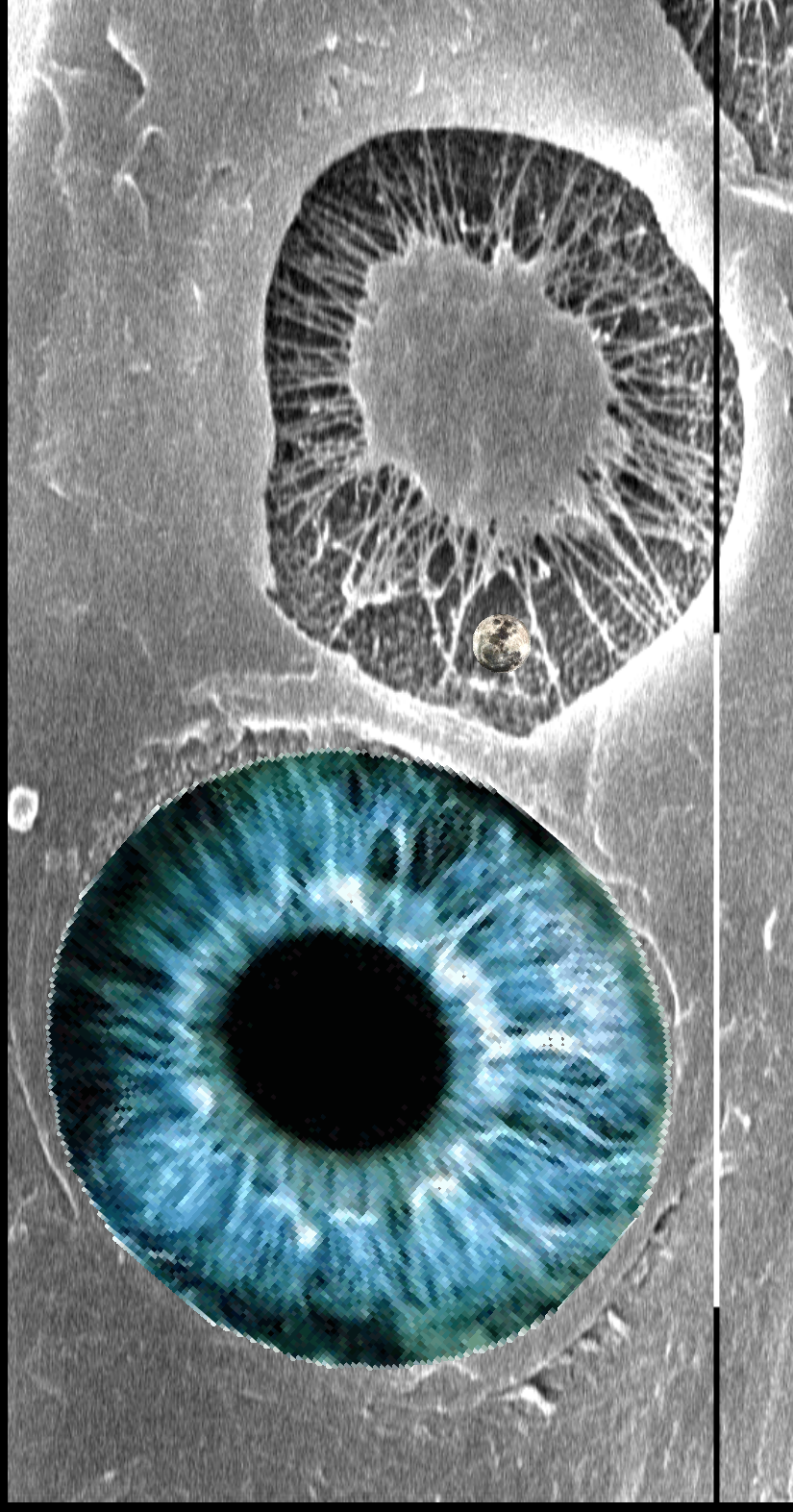
Zurcher E, Cantiani MG, Sorbetti-Guerri F, et al. 1998

NATURE 6677: 665-666

Times Cited: **8**



D'autres pistes de recherches à explorer sur la cavitation

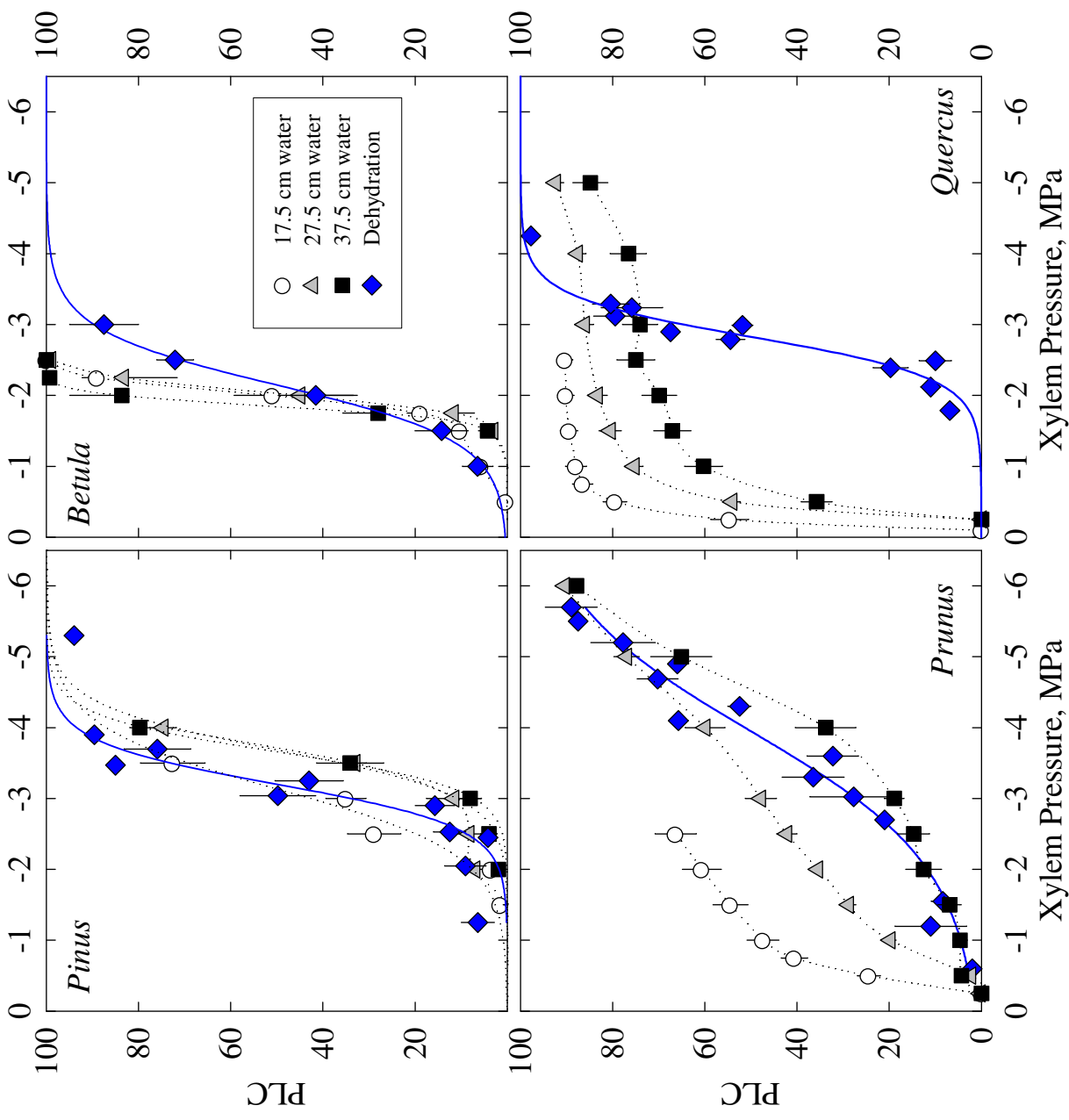


Fiabiliser nos techniques de mesure



Fiabilité des méthodes de centrifugation?

Artéfact du à la longueur des vaisseaux?

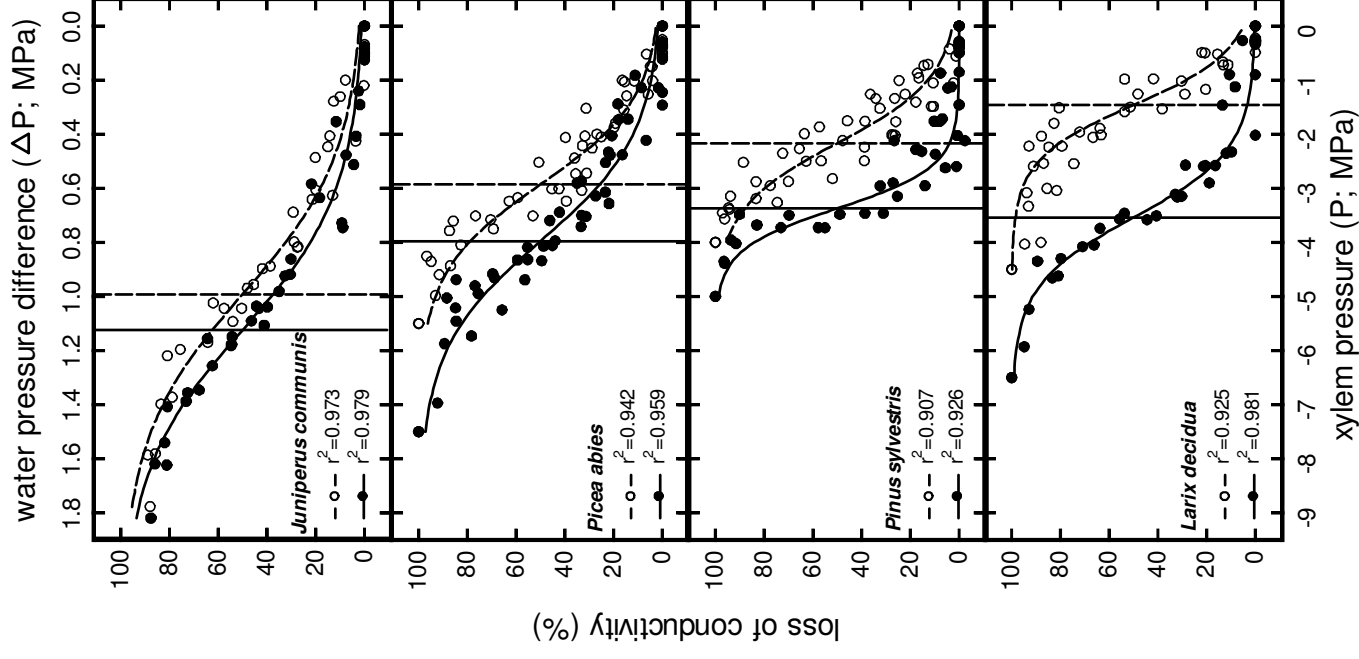


Fiabilité des méthodes de centrifugation?

Artéfact du à l'effet 'valve' des ponctuations?

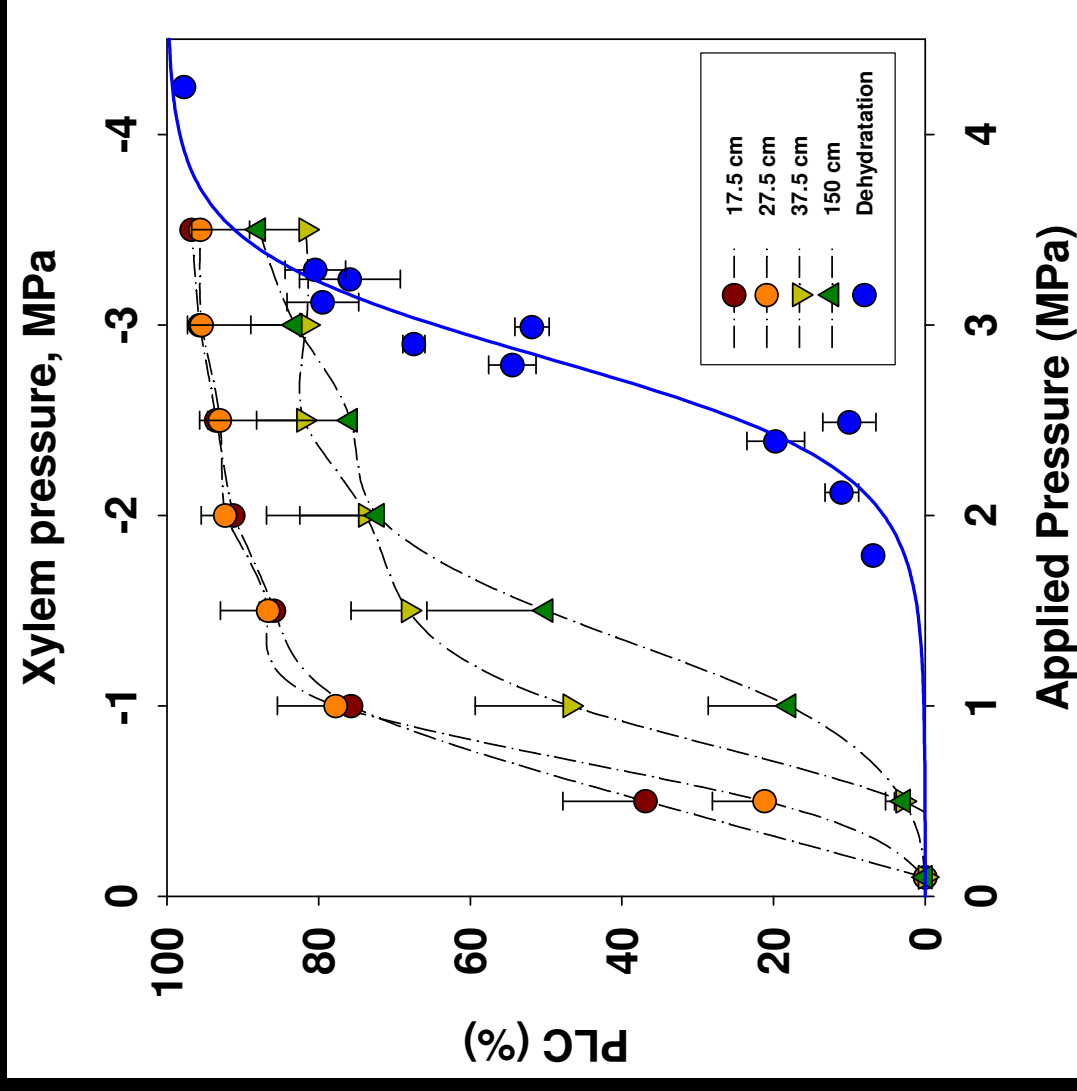


Beikircher et al,
presque soumis



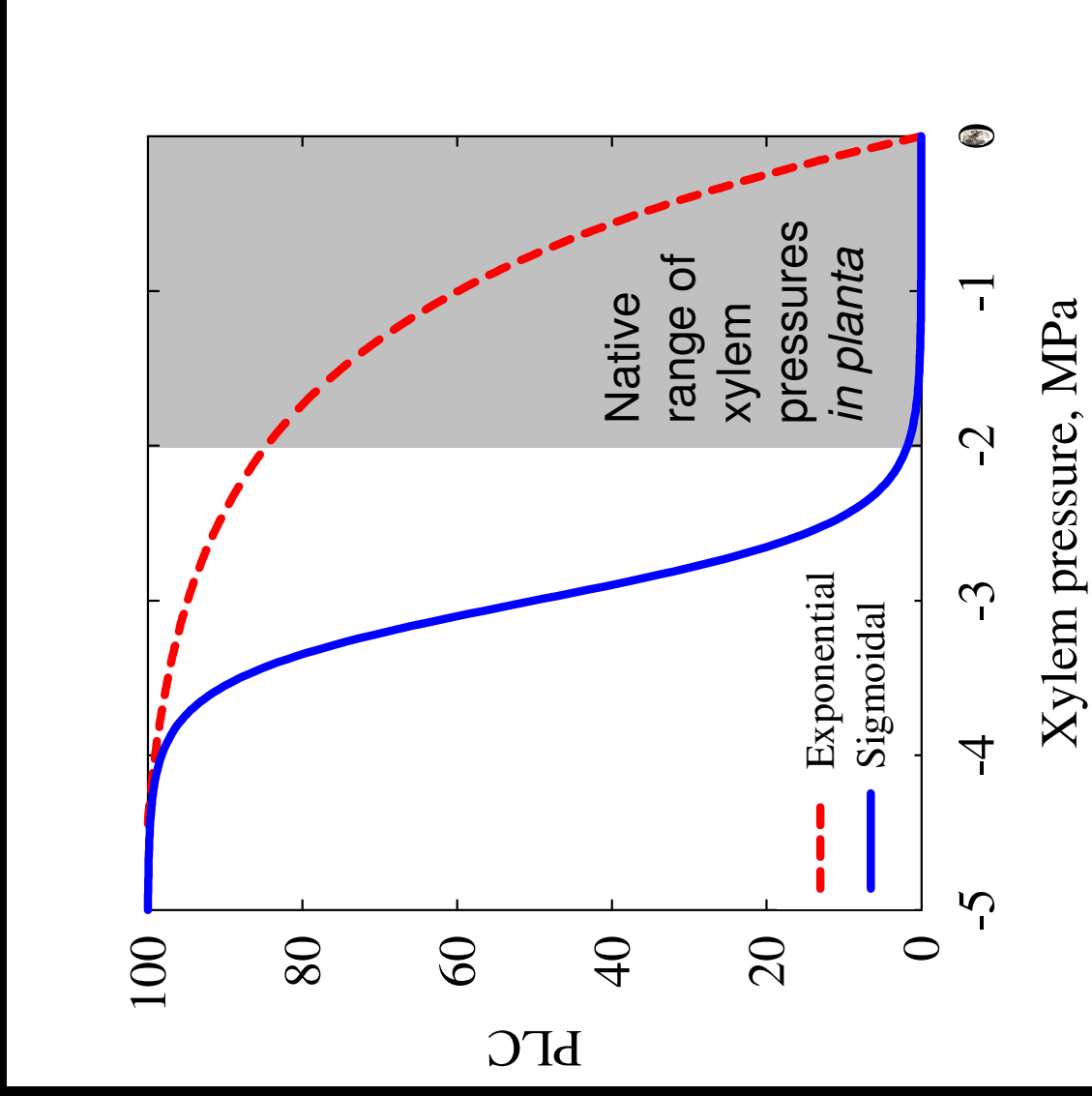
Fiabilité des méthodes d'injection d'air?

Artéfact du à la longueur des vaisseaux ?

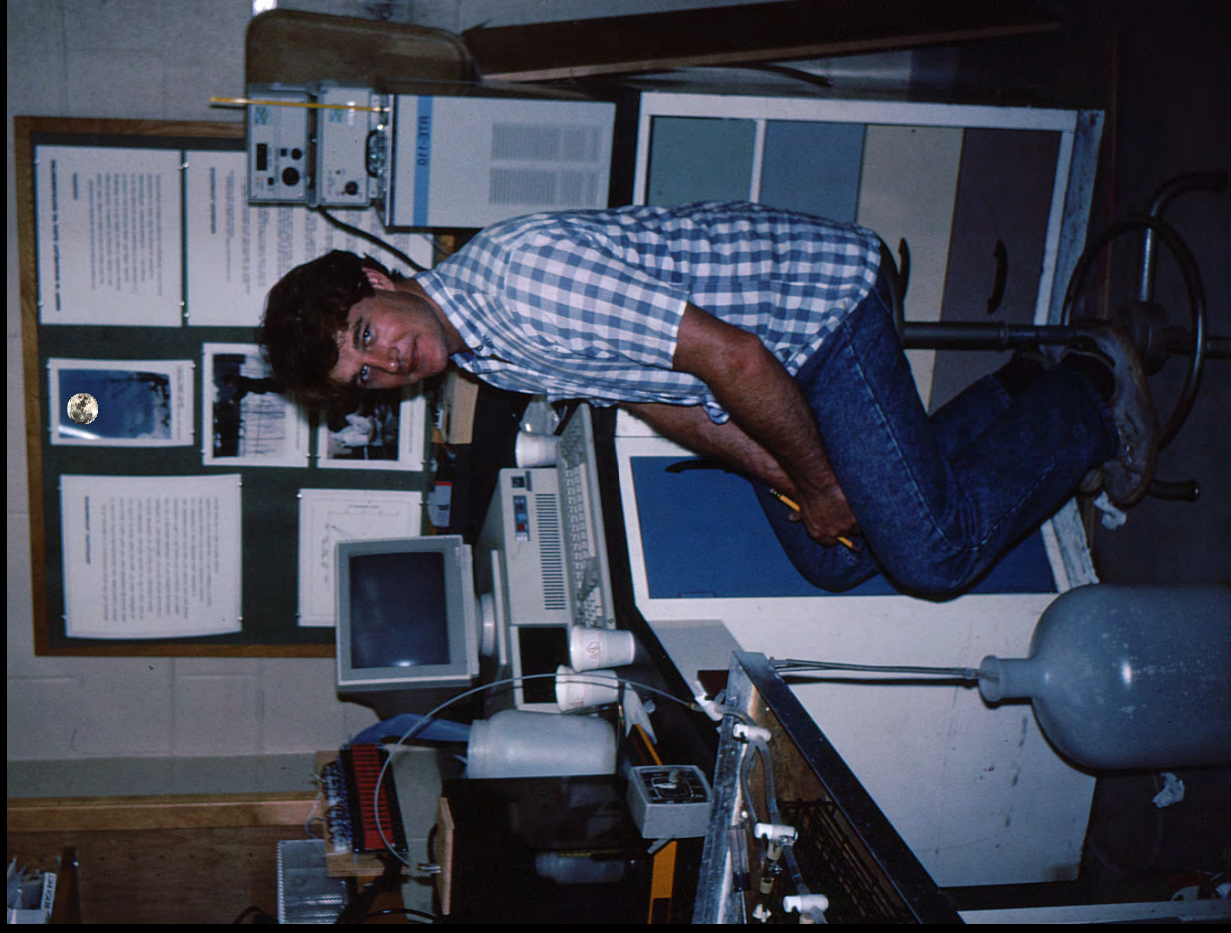
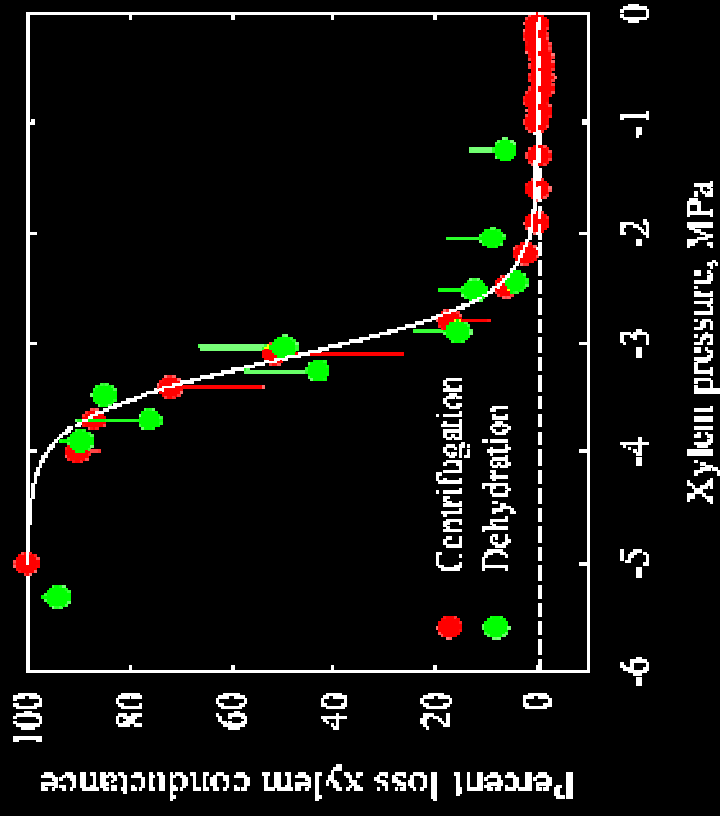


Ennajeh et al (en préparation)

Understanding the “incompetent” species

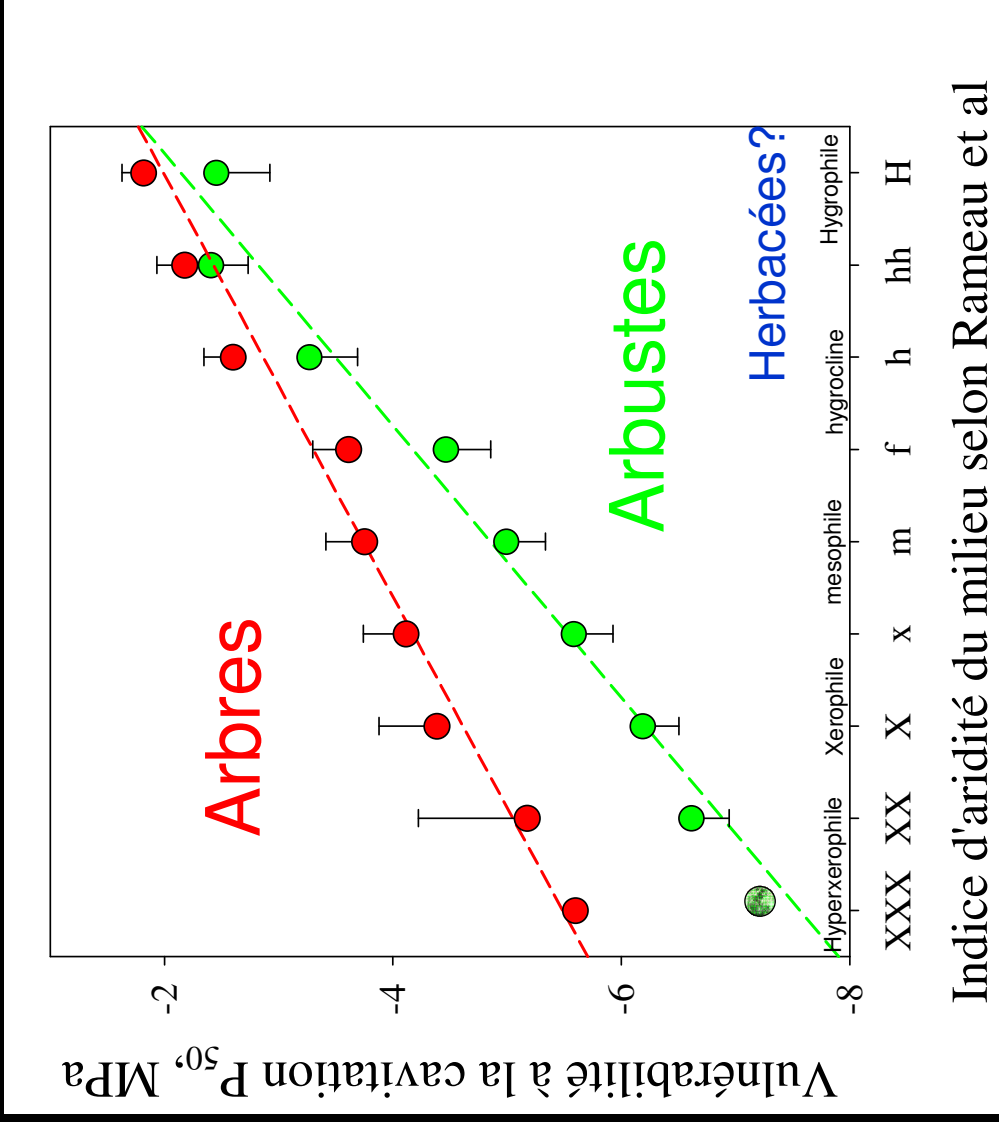


Sperry et al 1998: Méthode de référence

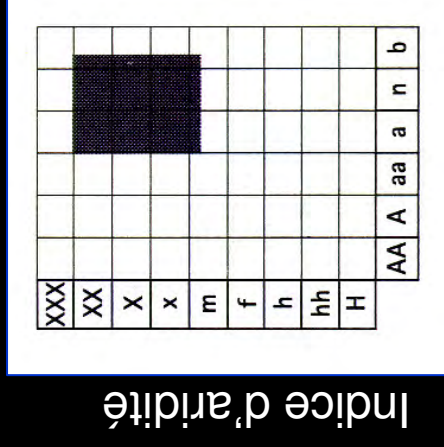


Hypothèse de travail :

Cavitation = caractère adaptatif pour la survie à la sécheresse



Indice d'aridité du milieu selon Rameau et al



Indice d'acidité

Rameau *et al*
 Flore Forestière
 Française

Cavitation = critère de sélection pour la tolérance à la sécheresse.
 Toujours vrai en intra-spécifique ?

Cochard et al, toujours pas publié

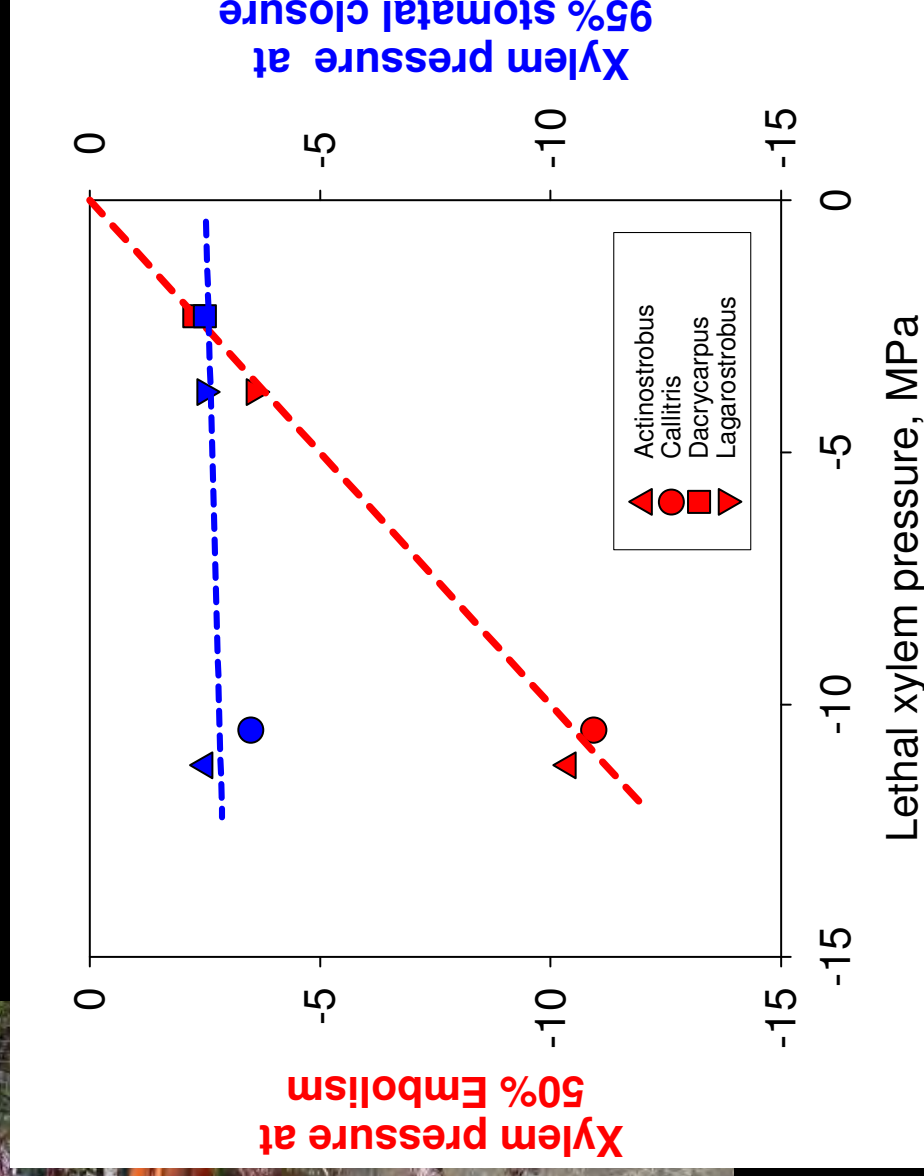
Comment la cavitation est-elle reliée à la survie à la sécheresse?

Relations causales ou corrélative ?

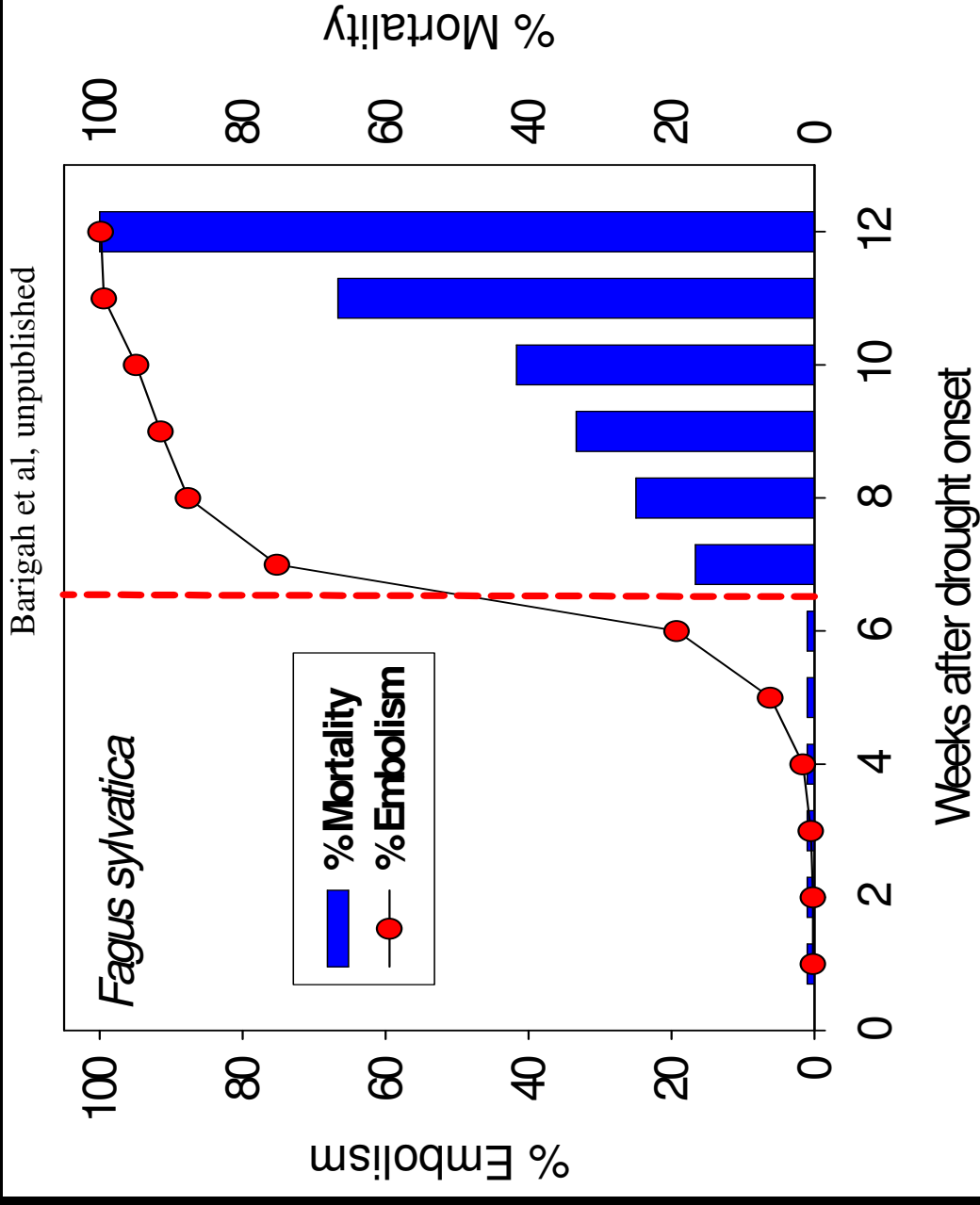
La cavitation cause t'elle la mort de l'arbre? L'inverse?



Conifères

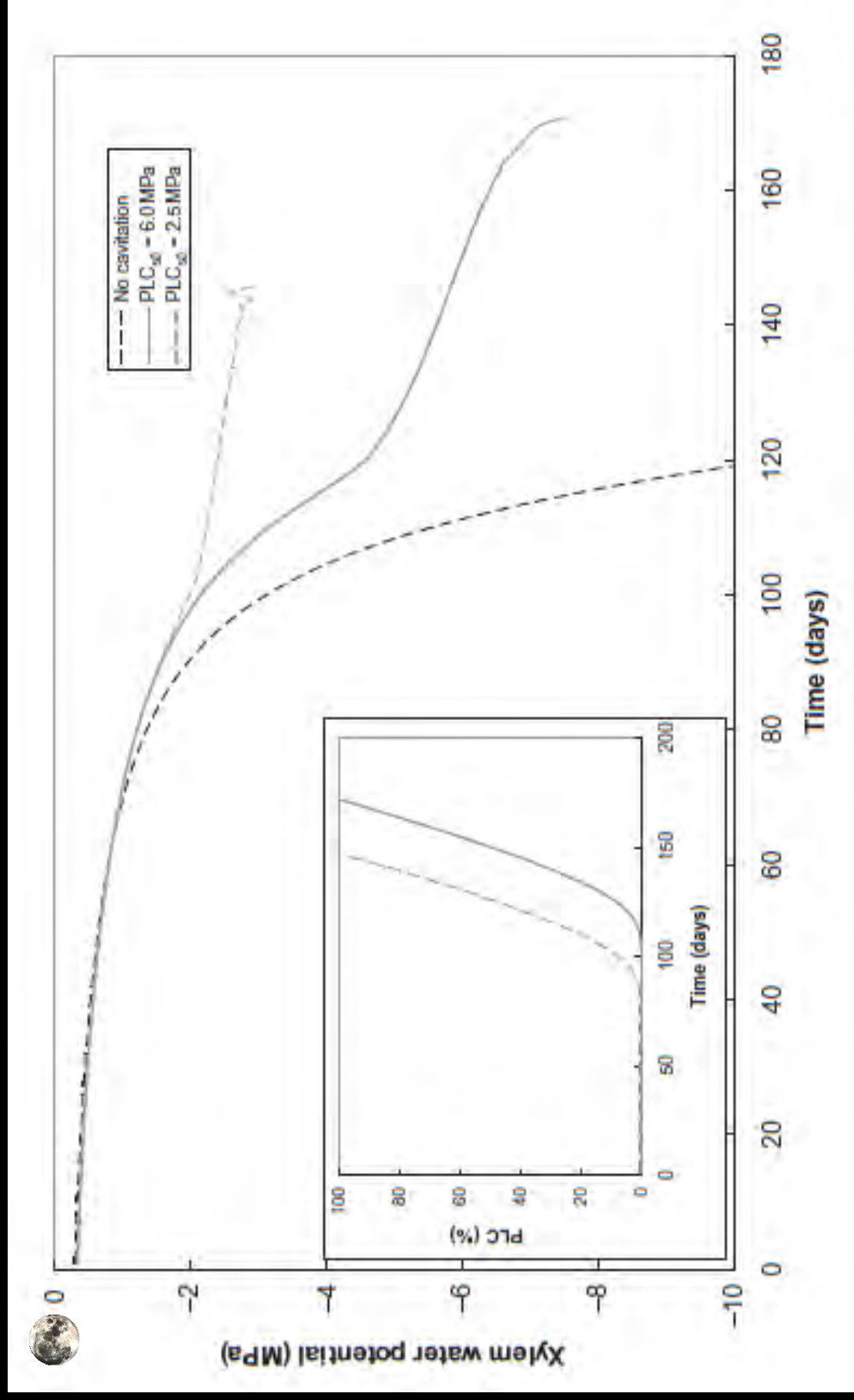


Feuillu (hêtre)



Comment la cavitation induirait la mort de l'arbre?

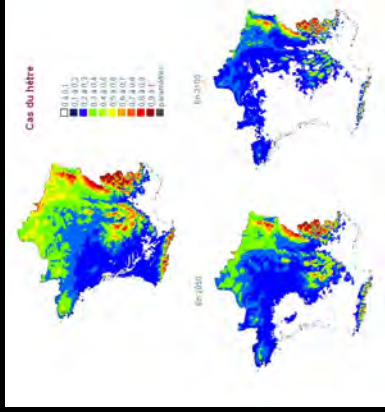
Effet capacitif de la cavitation



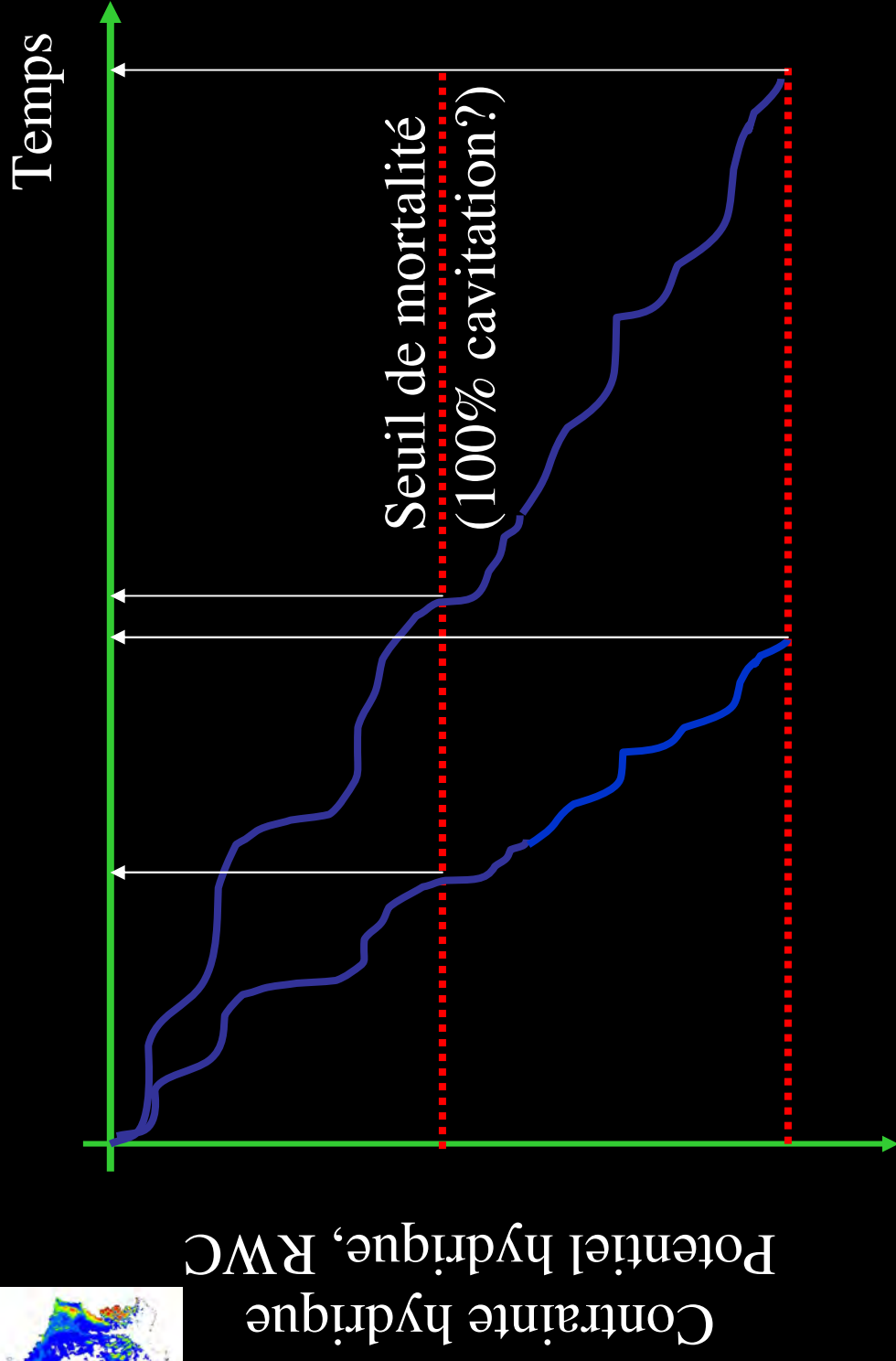
Holttta et al 2008

A valider...

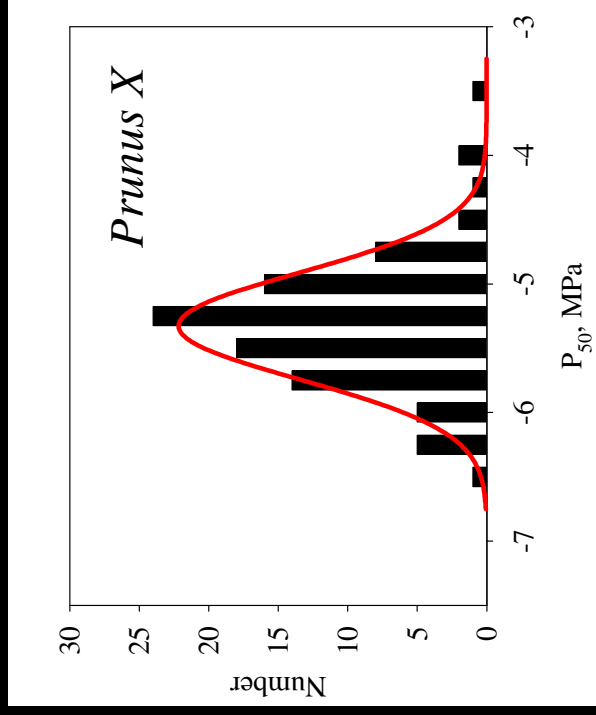
Développer des modèles mécanistes de survie à la sécheresse Pour alimenter des modèles de répartition des espèces



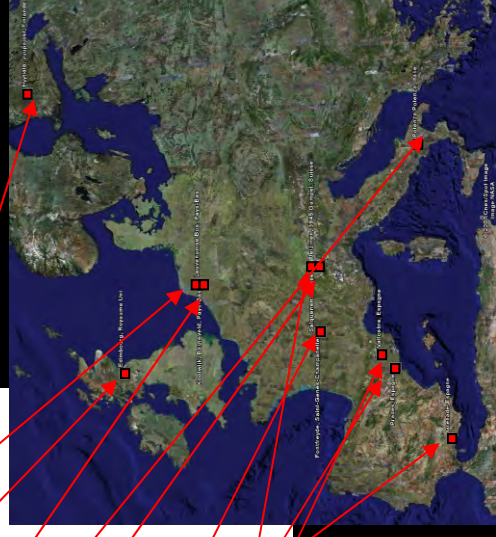
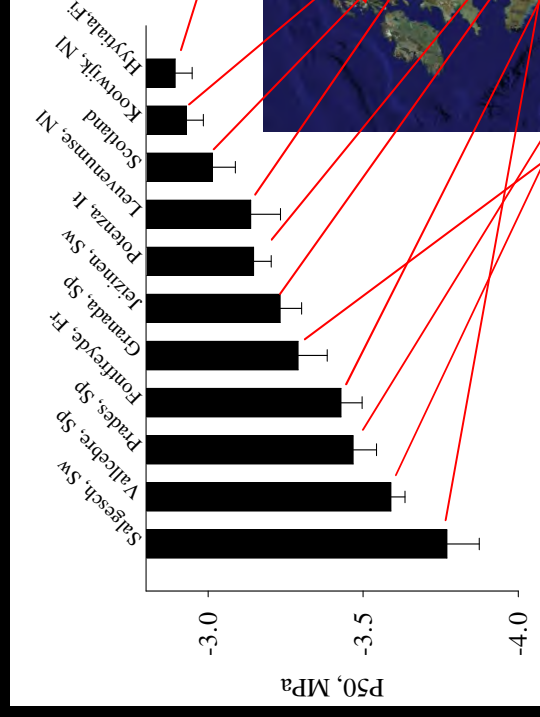
Coupler des modèles de bilan hydrique et des modèles de fonctionnement hydrique/hydraulique de l'arbre



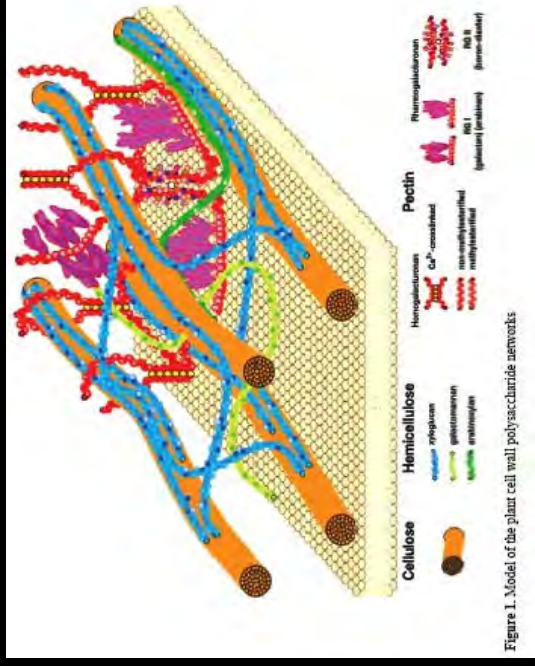
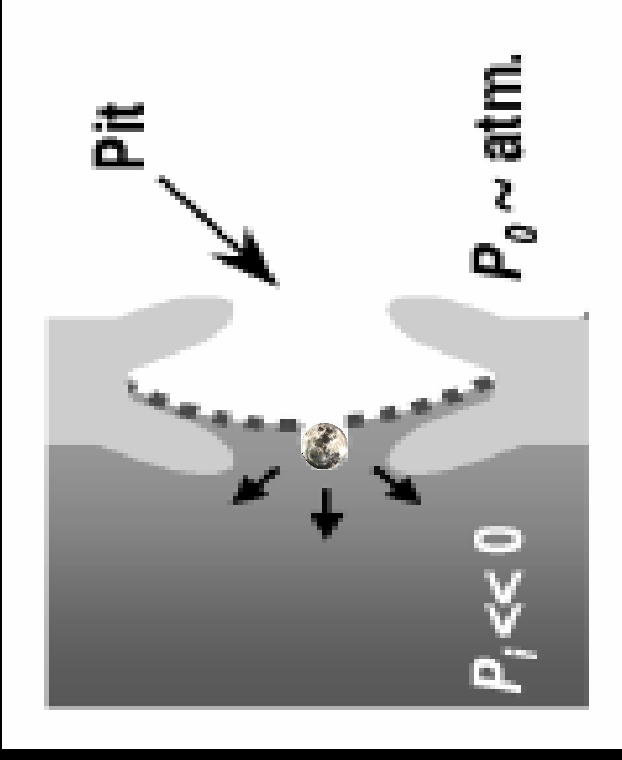
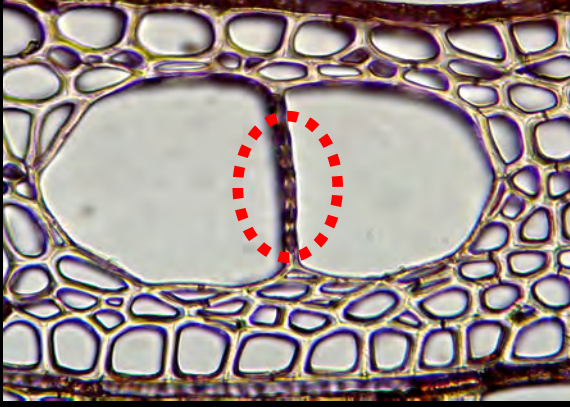
Explorer la variabilité génétique et la plasticité phénotypique de la cavitation



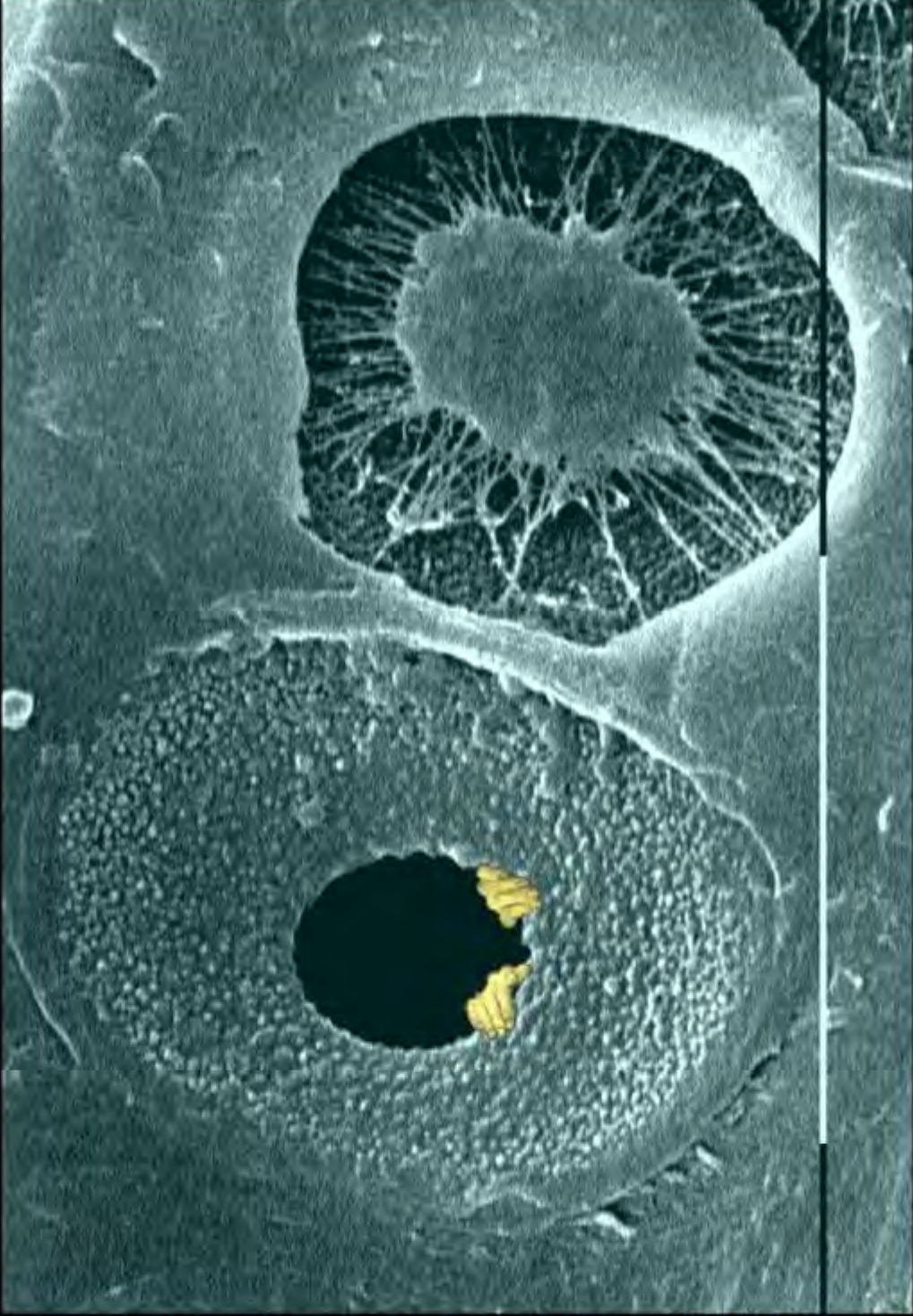
- Quel capacité d'acclimatation?
- Variabilité intra *versus* inter populations?
- Des géotypes plus résistant à la cavitation?
- Résistance à la Cavitation et tolérance à la sécheresse des géotypes ?
- Pression de sélection, caractère adaptatif?
- Hybrides interspécifiques?



Identifier les bases génétiques de la cavitation

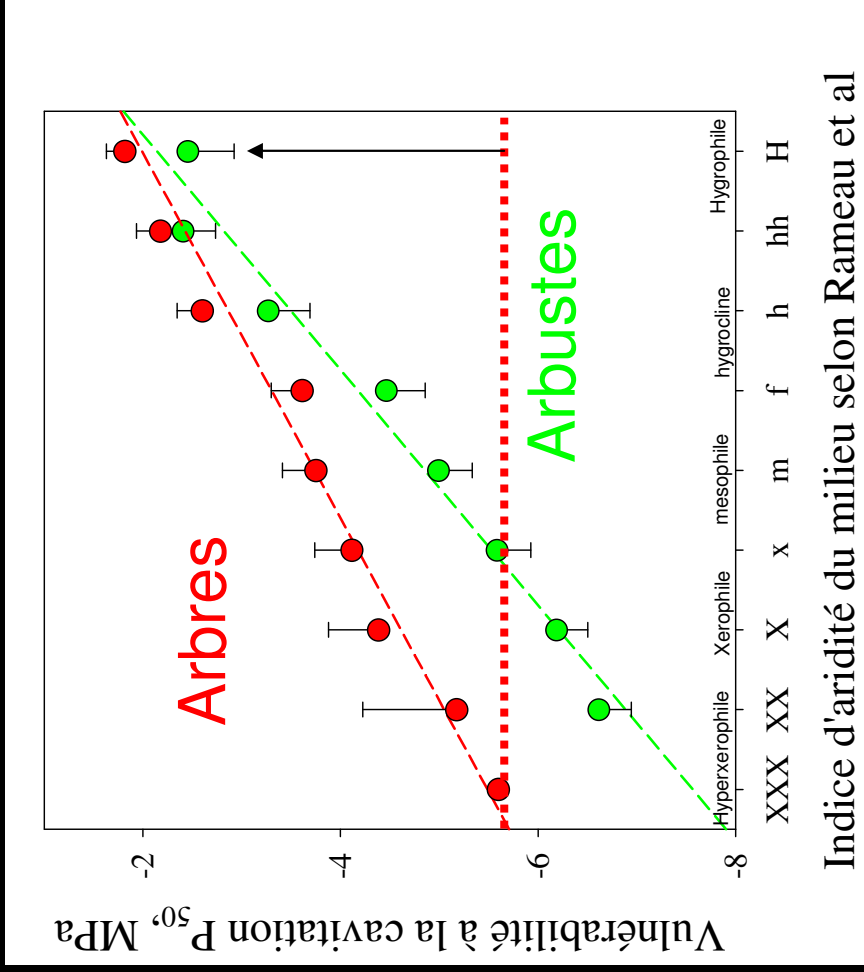


Quels mécanismes précis ?
Quelles structure impliquée ?
Quels gènes ?



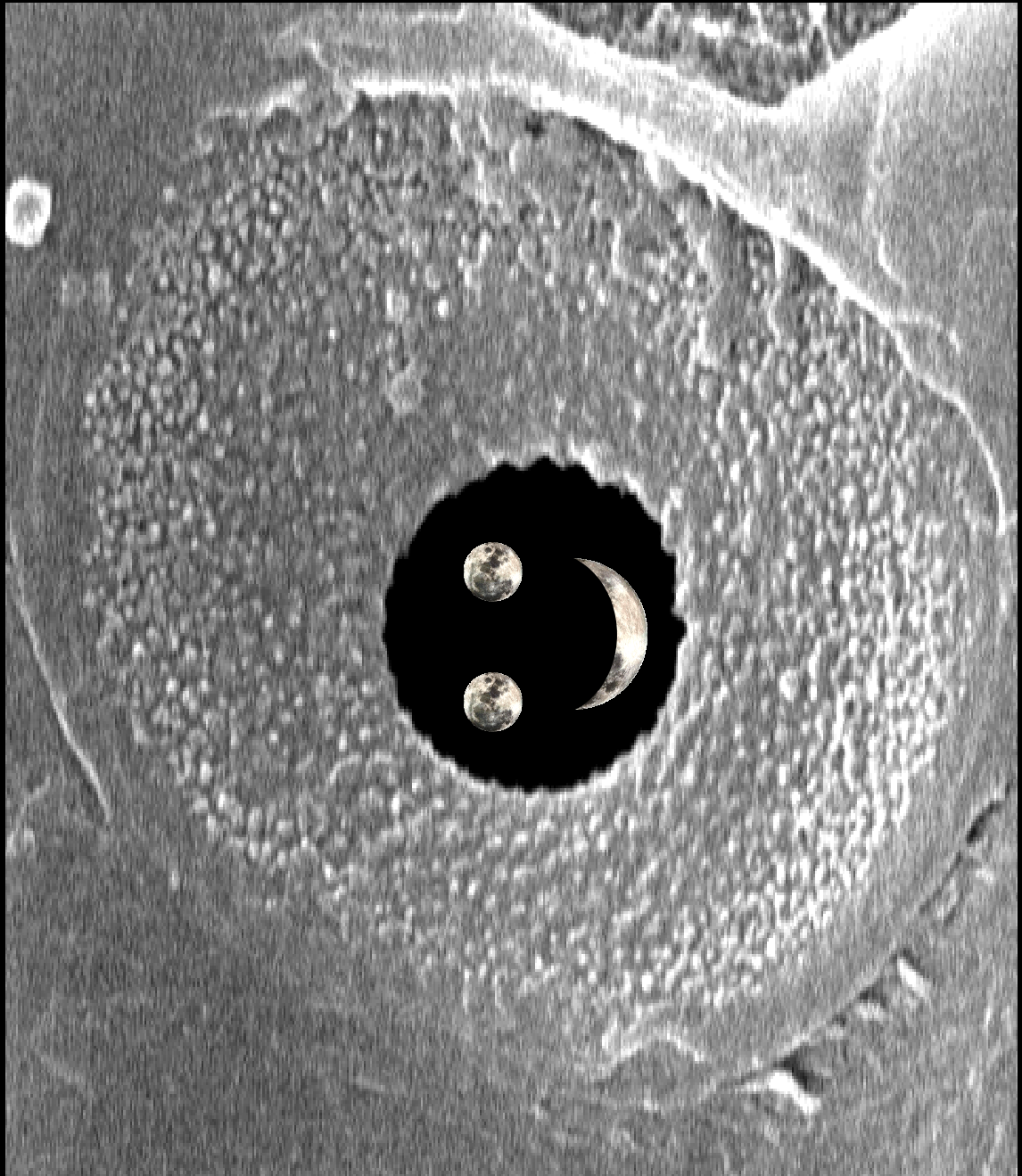
PITBULLE: A step forward in the understanding of pit structure and function

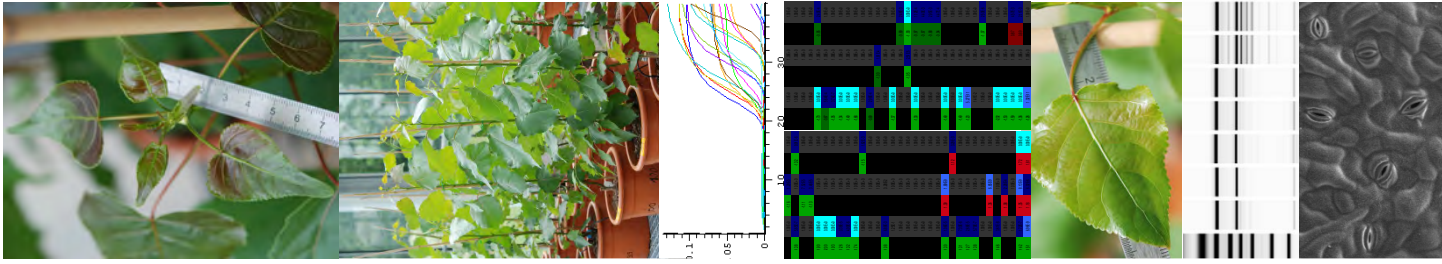
Les « tradeoffs » à la cavitation



Tradeoffs mécaniques, efficacité hydraulique, couts de construction, croissance, réserves, résistance au froid, aux pathogènes etc.

Modèle intégré de fonctionnement du xylème



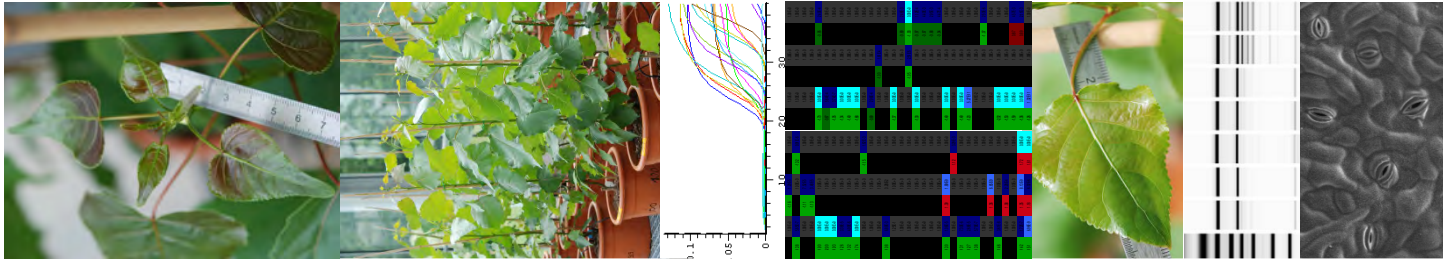


Régulation transcriptionnelle des aquaporines en réponse au déficit hydrique chez le Peuplier

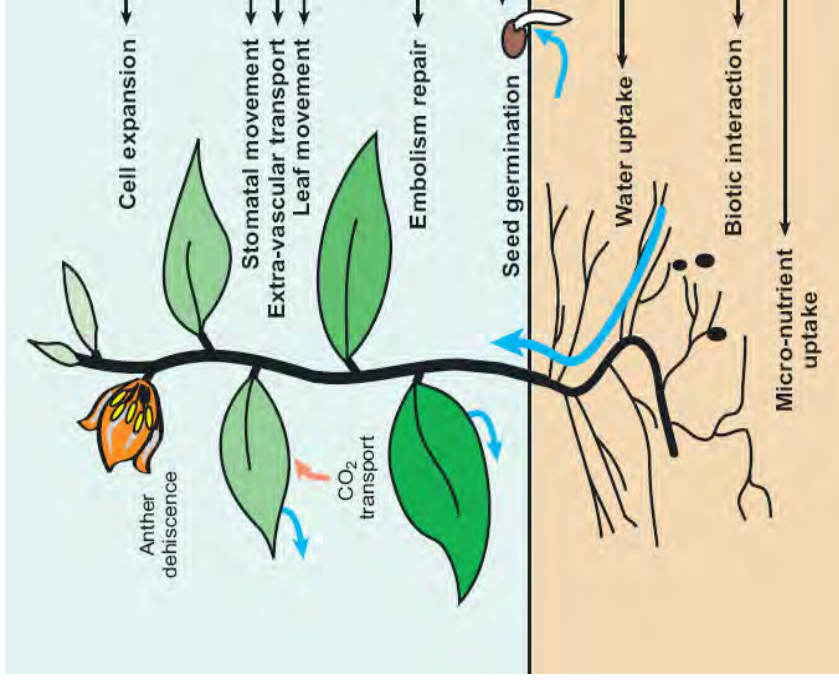
D. Cohen, R. Merret, I. Hummel, E. Tisserant, M-B Bogeat-Triboulot

Novembre 2009 - Bordeaux

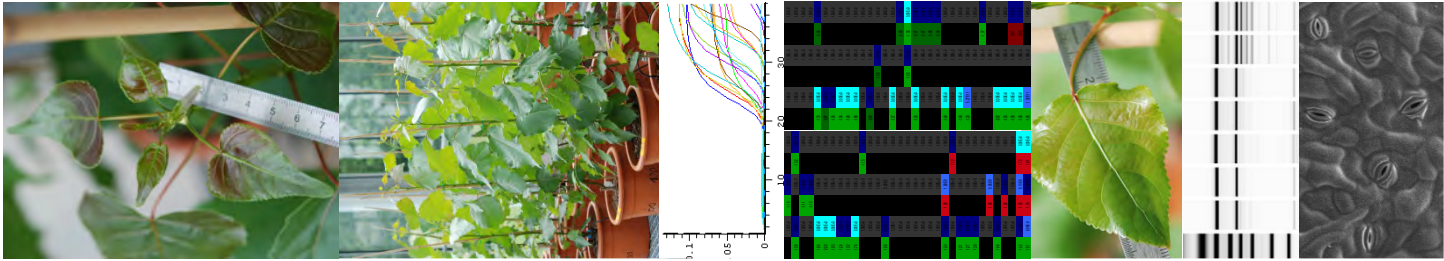




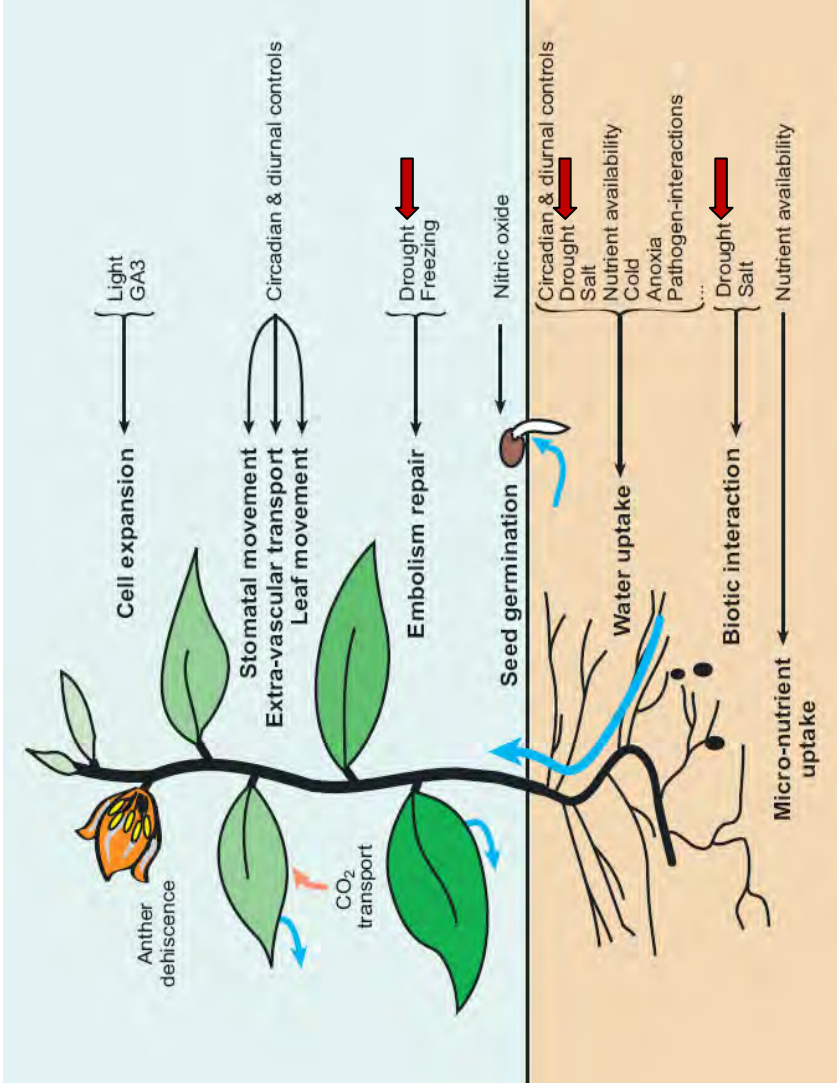
Fonctions des aquaporines chez les plantes



Facilitation des transferts d'eau
 => absorption, transpiration, croissance, mouvements
 Rôle multiple dans l'assimilation du C et N

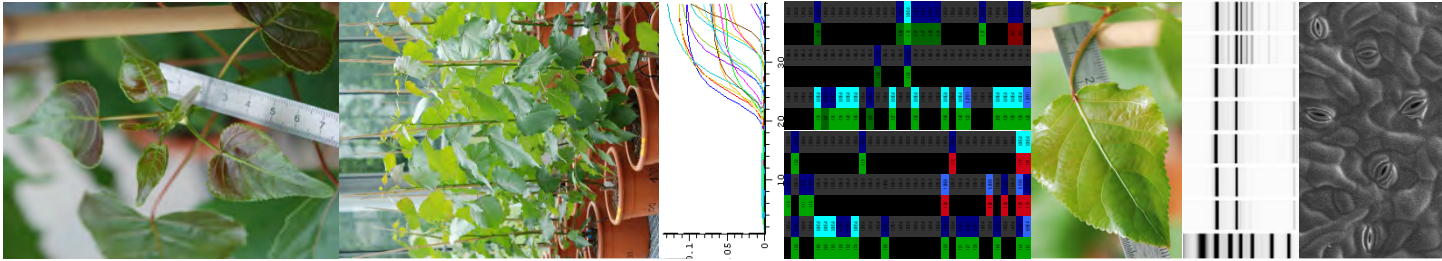


Fonctions des aquaporines chez les plantes



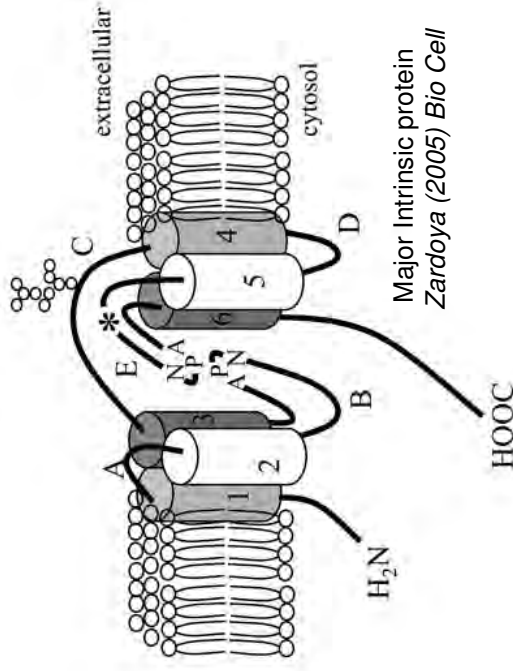
Facilitation des transferts d'eau
 => absorption, transpiration, croissance, mouvements
 Rôle multiple dans l'assimilation du C et N

Régulées en réponse aux stimuli environnementaux

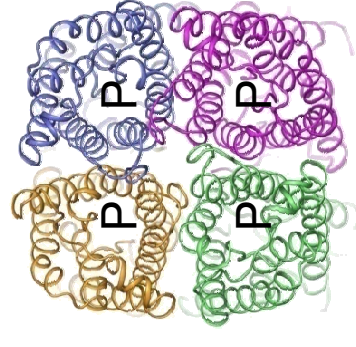


Aquaporines : protéines de 25 à 30 kDa

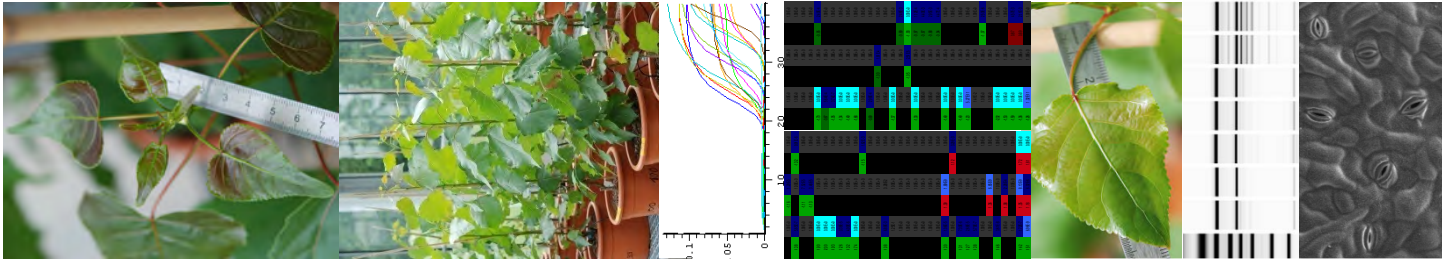
- Monomère formant un canal dans membranes plasmiques ou intracellulaires
- Transport d'eau et/ou petits solutés (glycerol, urée, ac. borique) ou gaz (NH_3 , CO_2) via le pore central (P).



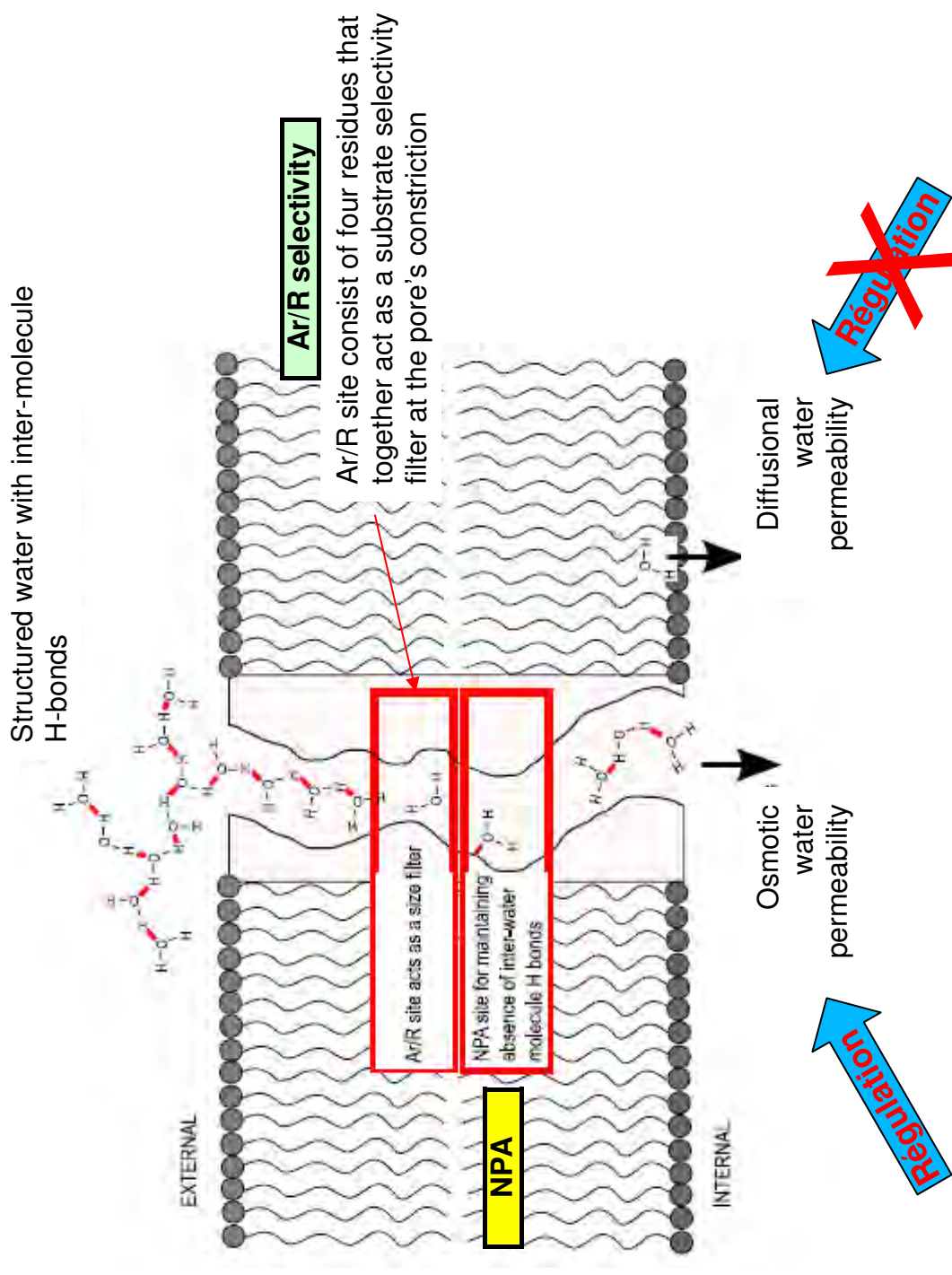
- 6 domaines transmembranaires connectés par 5 boucles délimitent un pore central (P)
- Présence de motifs NPA en interaction et motif Ar/R

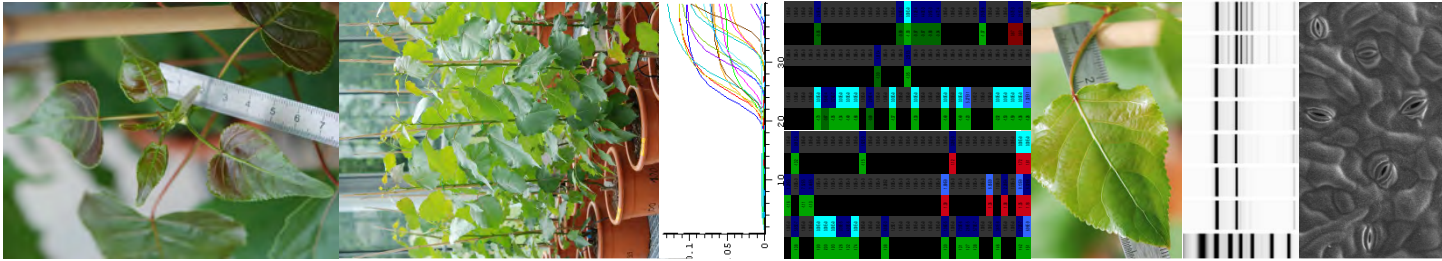


- La structure quaternaire de la protéine est un tétramère (interactions hydrophobes entre monomères)



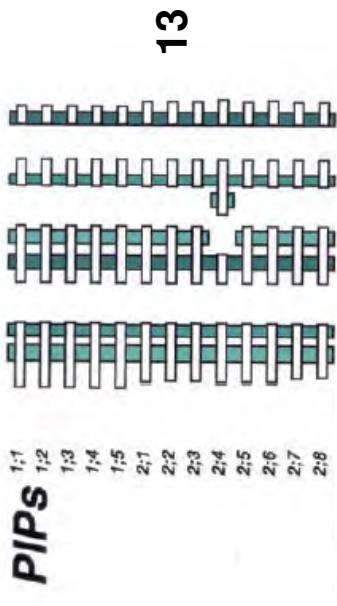
Transport de l'eau via une AQP



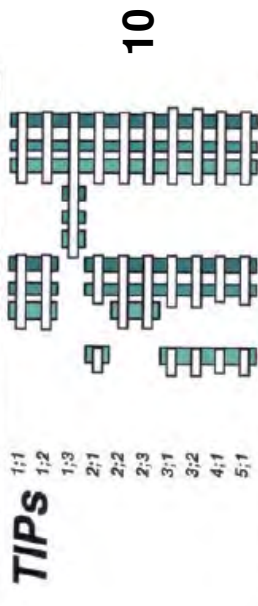


Classifications des aquaporines: 4 sous-familles

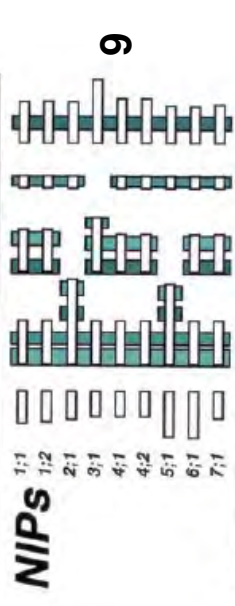
Plasma membrane intrinsic proteins



Tonoplast intrinsic proteins



Nodulin-26 like intrinsic proteins

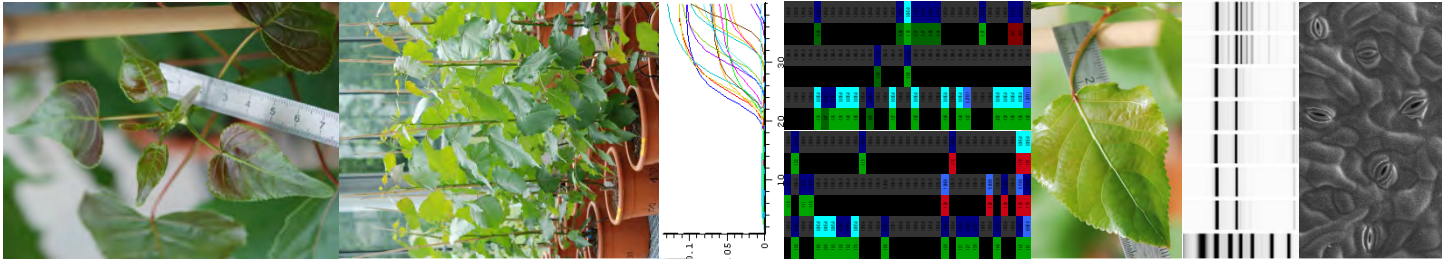


Small basic intrinsic proteins



Arabidopsis thaliana, Johanson et al (2001).

Conservation de la structure exon/intron au sein des 4 principales sous-familles d'AQPs

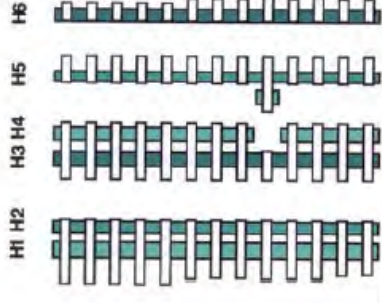


Classifications des aquaporines: 4 sous-familles

Plasma membrane intrinsic proteins

PIPs

1:1
1:2
1:3
1:4
1:5
2:1
2:2
2:3
2:4
2:5
2:6
2:7
2:8

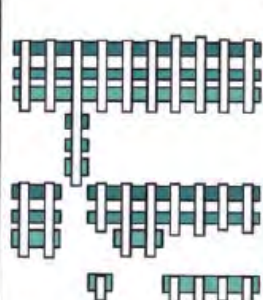


13

Tonoplast intrinsic proteins

TIPs

1:1
1:2
1:3
2:1
2:2
2:3
3:1
3:2
4:1
5:1

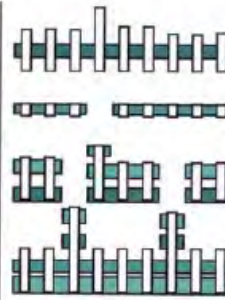


10

Nodulin-26 like intrinsic proteins

NIPs

1:1
1:2
2:1
3:1
4:1
4:2
5:1
6:1
7:1



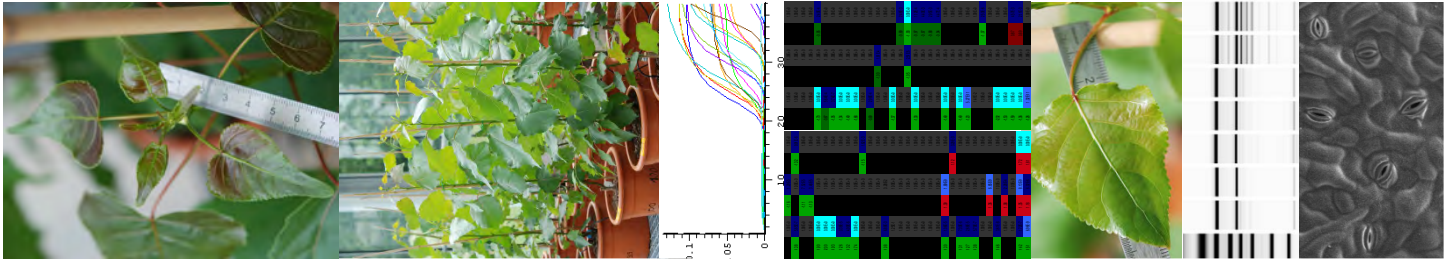
9

Autres sous-familles décrites

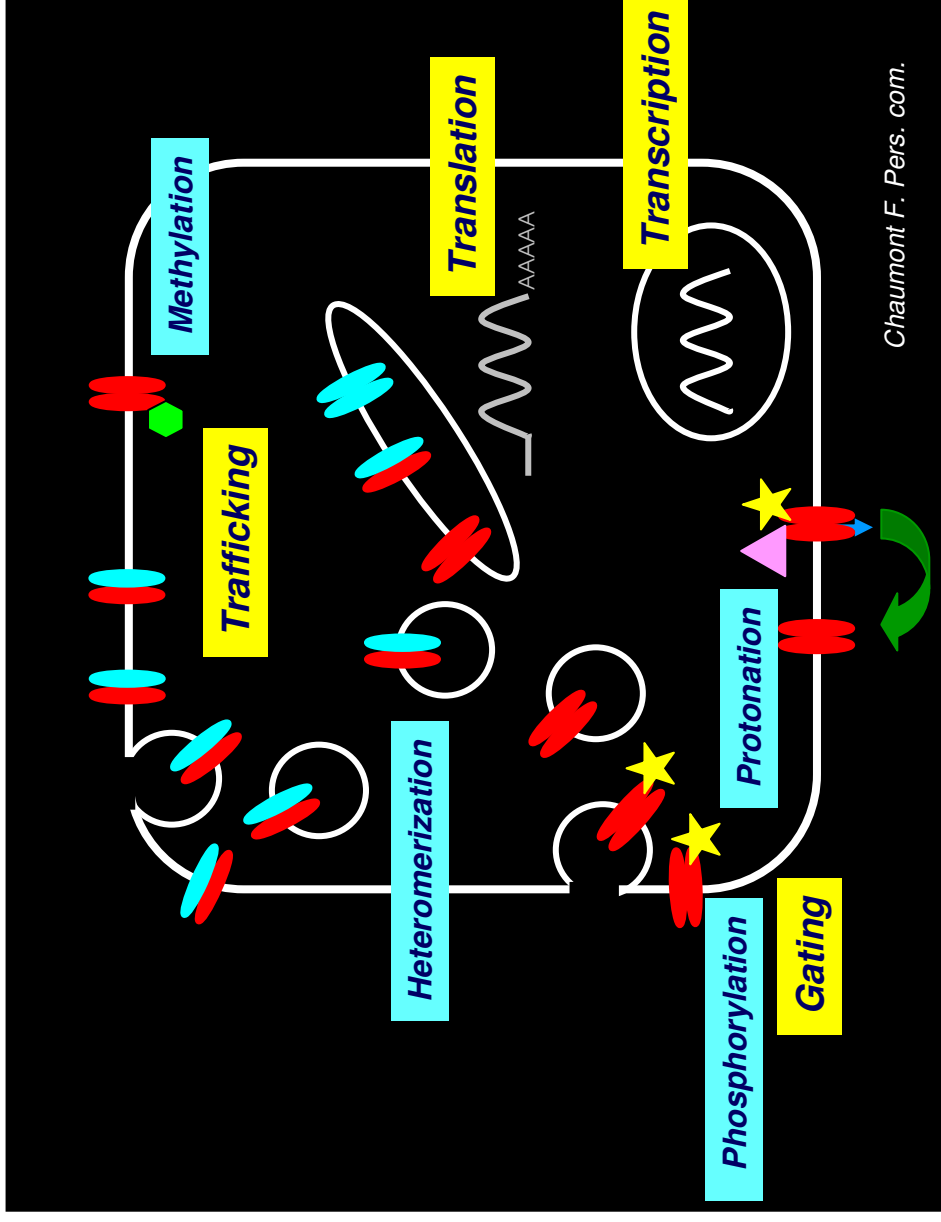
Ex: Mousse (*Physcomitrella patens*) => GIPs, HIPs et XIPs

XIPs également présentes chez le peuplier.

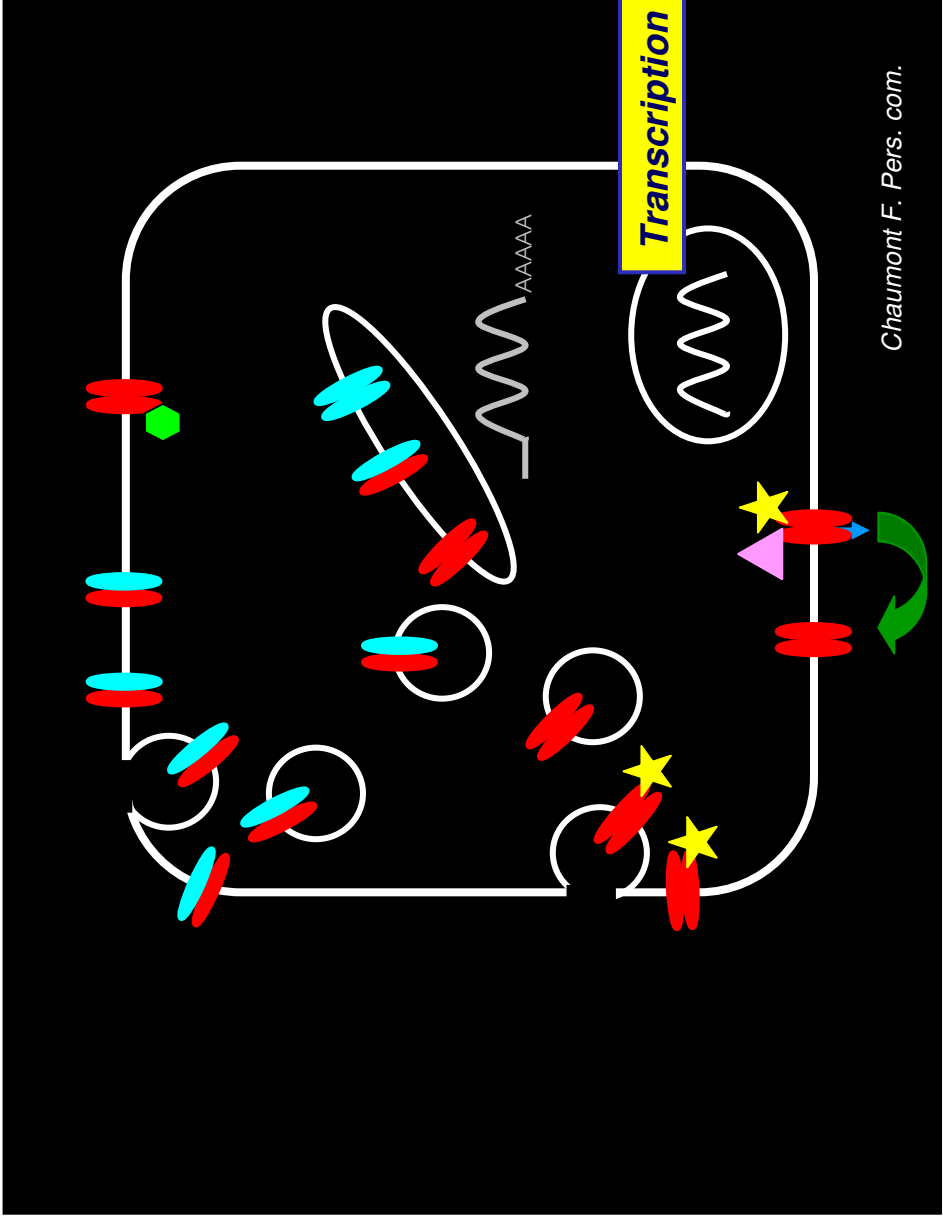
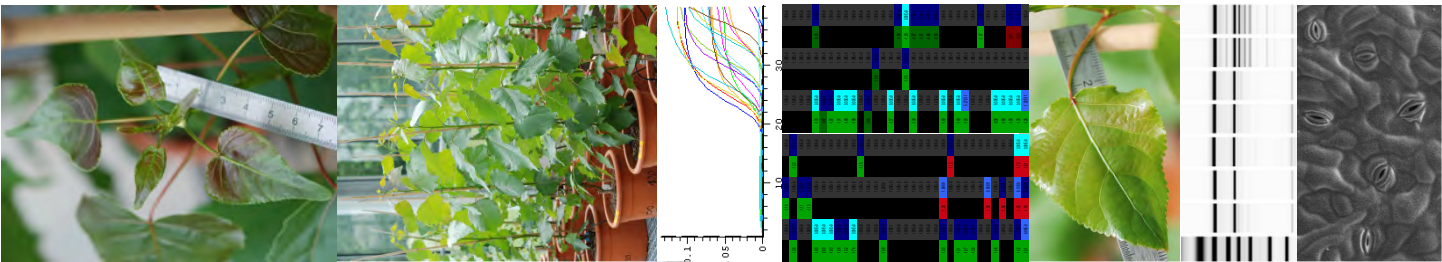
(Danielson et Johanson. 2008)



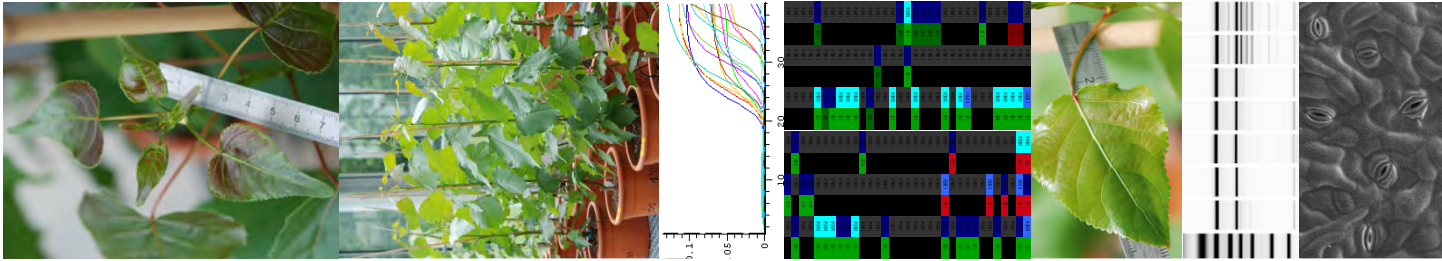
Régulations des fonctions des AQP



Transcription/traduction (Hachez et al; 2000)
Post-traduction (Guenther et al; 2003, Santoni et al; 2006)
Ouverture/fermeture du pore (Törnroth et al; 2006)
Addressage (Fetter et al; 2004, Zelazny et al; 2007)



Régulation transcriptionnelle des aquaporines en réponse au déficit hydrique chez le Peuplier



OBJECTIFS

Génome du peuplier version 1.1 (Tuskan et al., 2006)

1- Analyse *in silico* des séquences: validation des AQP

Puce génome entier (Affymetrix, Gene Chip Poplar Arrays, 2005)

2- Recherche et analyse *in silico* des sondes AQPs

ANR POPSEC: Etude de la réponse au déficit hydrique (Nancy, 2007)

3- Patron d'expression des AQP et régulation transcriptionnelle en réponse à la sécheresse chez le peuplier

1- Analyse *in silico* des séquences génomiques: validation des AQP

Génome du peuplier version 1.1 (Tuskan et al., 2006)

=> *P. trichocarpa* : 63 séquences annotées AQP



51 Séquences
« pleine longueur »

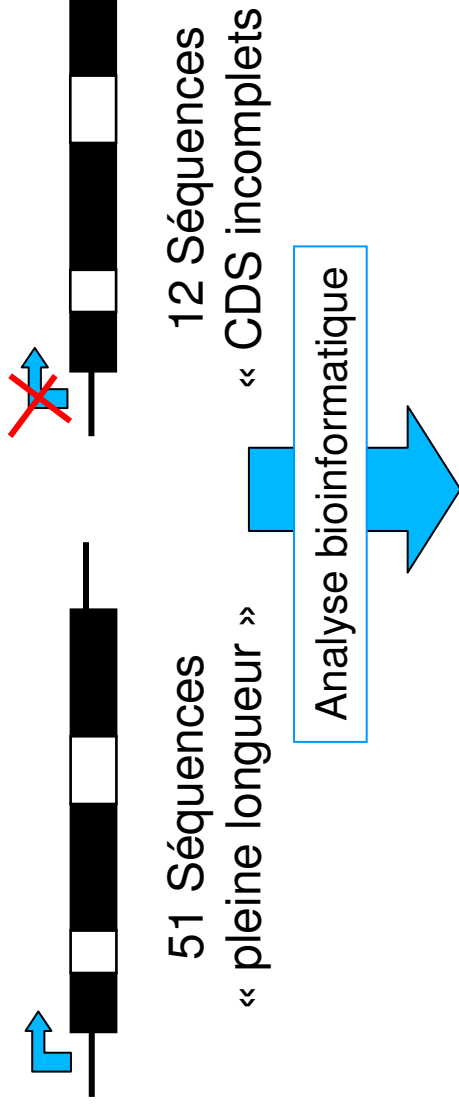


12 Séquences
« CDS incomplets »

1- Analyse *in silico* des séquences génomiques: validation des AQP

Génome du peuplier version 1.1 (Tuskan et al., 2006)

=> *P. trichocarpa* : 63 séquences annotées AQP



- Recherche d'ESTs chez *Populus sp.* = vérification de l'expression
- Caractérisation des CDS (prédiction exons, introns et UTR)
- Recherche d'artefacts de séquençage et/ou d'assemblage

1- Analyse *in silico* des séquences génomiques: validation des AQP

Génome du peuplier version 1.1 (Tuskan et al., 2006)

=> *P. trichocarpa* : 63 séquences annotées AQP



51 Séquences
« pleine longueur »

12 Séquences
« CDS incomplets »

Analyse bioinformatique

5 pseudogènes
4 séquences redondantes
1 séquence bactérienne

=> **10 séquences invalides**

50 séquences « pleine longueur »
+3 CDS corrigés
+1 nouvelle séquence (non prédite)

=> **54 séquences AQP**

Les 54 AQPs

prot	ide. Gen	LB	LE	H2	H5	LE1	LE2
PIP1	AIP1			F	H	T	R
				F	H	T	R
				F	H	T	R
				F	H	T	R
				F	H	T	R
				F	H	T	R
				F	H	T	R
				F	H	T	R
PIP2	AIP2			F	H	T	R
				F	H	T	R
				F	H	T	R
				F	H	T	R
				F	H	T	R
				F	H	T	R
				F	H	T	R
				F	H	T	R
PIP	AIP3			N	H	T	R
				F	H	T	R
TIPI	AIP1			H	I	A	V
				H	I	A	V
				H	I	A	V
				H	I	A	V
				H	I	A	V
				H	I	A	V
				H	I	A	V
				H	I	A	V
TIPIA	AIP2			H	I	G	R
				H	I	G	R
				H	I	G	R
				H	I	G	R
TIPIB	AIP3			H	I	A	R
				H	I	A	R
				H	I	A	R
TIPII				N	/	G	C
				N	/	G	C
SIPI	PpSIPI			A	V	P	N
				A	V	P	N
				V	V	P	S
				V	V	P	S
SIPII				S	H	G	S
				T	H	G	F
				W	V	A	R
				W	V	A	R
NIPI	ANIP1,2,3,4			W	V	A	R
				W	V	A	R
				W	V	A	R
				W	V	A	R
				W	V	A	R
NIPII	ANIP5,6,7			A	I	G	R
				A	I	G	R
				A	I	G	R
NIP	ZmNIP2			G	S	G	R
				T	I	A	R
				S	I	A	R
XIP				V	V	A	R
				V	V	A	R
				V	V	A	R
				V	V	A	R

Peuplier

PIP	15
TIP	17
SIP	6
NIP	11
XIP	5

Arabidopsis** Mais***

13	13
10	12
3	3
9	5
0	0

=> 5 sous-familles

** Johanson et al; 2001

***Chaumont et al; 2001

=> Permet la classification en sous-groupes (signatures et/ou typologie des gènes)

Ar/R selectivity

NPA

Wallace et Roberts; 2004

*Secchi et al 2009

2- Recherche et analyse *in silico* des sondes AQPs



Puce génome entier (Gene Chip Poplar Arrays, 2005)

Accès à la régulation du transcriptome entier

Analyse conjointe des membres d'une famille multigénique

Accès à plusieurs expérimentations via bases de données (GEO,...)



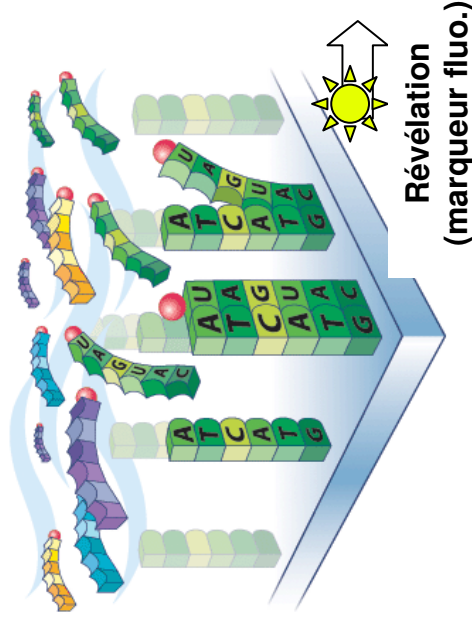
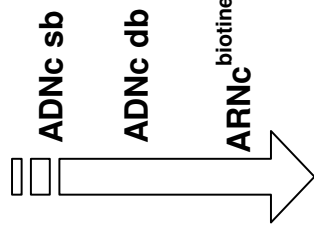
2- Recherche et analyse *in silico* des sondes AQPs

Puce génome entier (Gene Chip Poplar Arrays, 2005)

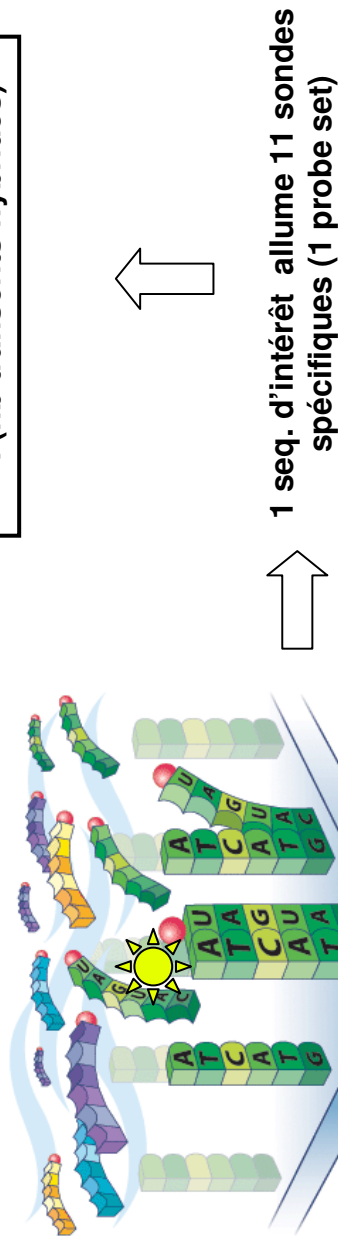
Accès à la régulation du transcriptome entier

Analyse conjointe des membres d'une famille multigénique

Accès à plusieurs expérimentations via bases de données (GEO,...)



Intensité du signal fluo.
= F(nb transcrits hybridés)



~ 61 000 probe sets
spécifique à un gène ou à une famille multigénique

2- Recherche et analyse *in silico* des sondes AQP

Extraction des probe sets ciblant les transcrits des 54 AQPs

- Annotation NetAffx
- BLASTn séquences cibles vs séquences AQP (JGI)

=> **au maximum 106 probe sets**

Annotation NetAffx (www.affymetrix.com/analysis)

Probe Set Summary		Gene	
Probe Set ID	FP_383331.51_a1	Annotation	POPTRICART_032813
GeneChip Array	Human Genome Array	Gene	A
Organism	Human	Assembly	2004-06-01 (DBT 1.0)
RefSeq	XW_002314165	Annotation Version	na25.3a.13.2009
All Transcripts	2 Total	Gene Ontology	Biological Process 1 Total Cellular Component 2 Total Molecular Function 1 Total
	1 Total	Orthologs	None

Transcripts Detected by FP_383331.51_a1

Annotation Grade A FP_383331.51_a1 was annotated using the Matching Probes based pipeline to a Entrez Gene identifier using 1 Transcript(s).

Partial	Description	Matching Probes	Related Probesets by Grade
<input checked="" type="checkbox"/>	EF14387 [NCBI] Populus euphratica clone W591111_H13 unknown gene	1/111	EntrezGene:112055.L SL_3_38 (A)
<input checked="" type="checkbox"/>	XM_002314165 [NCBI] Populus euphratica unicon. MFP family, MFP subfamily, MFP	9/111	EntrezGene:112055.L SL_3_38 (A)
<input checked="" type="checkbox"/>	Predicted	Matching Probes	Related Probesets by Grade

Gene-hybridizing Transcripts (None)

2- Recherche et analyse *in silico* des sondes AQPs

Extraction des probe sets ciblant les transcrits des 54 AQPs

- Annotation NetAffx
- BLASTn séquences cibles vs séquences AQP (JGI)

=> **au maximum 106 probe sets**

Analyse *in silico* des probe sets

- Détection des séquences inversées
- Hybridation croisée
- Qualité d'hybridation sur *P. trichocarpa*
- Qualité d'hybridation sur ESTs *Populus sp*

=> **au maximum 52/54 AQPs**

Annotation NetAffx (www.affymetrix.com/analysis)

Probe Set ID	P0P7R2HUT_032883
Gene	P0P7R2HUT_032883
Annotation Grade	A
GeneChip Array	2004-06-07 (DOT 1.0)
Assembly	nc23.3a.f.13_2009
Annotation Version	nc23.3a.f.13_2009
Gene Ontology	Biological Process: 1 Total Cellular Component: 2 Total Molecular Function: 1 Total
Orthologs	None

Transcript	Partial	Description	Matching Probes	Related Probesets by Grade
EF14387 (NCBI)	<input checked="" type="checkbox"/>	Populus trichocarpa clone (591111)_H13 unknown trans.	11111	Enthal112055.L, SL1.2E (A)
XM_002314165 (NCBI)	<input checked="" type="checkbox"/>	Populus trichocarpa spaccorn. MP family, TP subfamily.	9111	Enthal112055.L, SL1.2E (A)

Vérification expérimentale de la qualité de l'hybridation en fonction du génotype

2- Recherche et analyse *in silico* des sondes AQPs



Puce génome entier (Gene Chip Poplar Arrays, 2005)

Mais La majorité des sondes sont dessinées à partir d'ESTs de plusieurs génotypes

Table 1. GenBank[®] mRNAs and ESTs in dbEST for all *Populus* species, up to April 26, 2005, were included in the design. UniGene is restricted to *Populus tremula* x *Populus tremuloides*.

<i>Populus tremula</i> x <i>Populus tremuloides</i>	65,661
<i>Populus balsamifera</i> subsp. <i>trichocarpa</i>	94,660
<i>Populus balsamifera</i> subsp. <i>trichocarpa</i> x <i>Populus deltoides</i>	33,134
<i>Populus tremula</i>	31,266
<i>Populus deltoides</i>	14,645
<i>Populus balsamifera</i> subsp. <i>trichocarpa</i> x <i>Populus nigra</i>	14,281
<i>Populus euphratica</i>	13,903
<i>Populus canescens</i>	12,813
<i>Populus tremuloides</i>	10,146
<i>Populus euphratica</i>	10,157
<i>Populus tomenticola</i>	1,127
<i>Populus alba</i> x <i>Populus tremula</i>	585
<i>Populus alba</i> x <i>Populus glandulosa</i>	519

.... Risque d'artefact technique

Absence de signal =

Pas d'hybridation vs pas d'expression ???

tester la compatibilité sonde/séquence cible
Solution = hybridation ADNg des génotypes étudiés

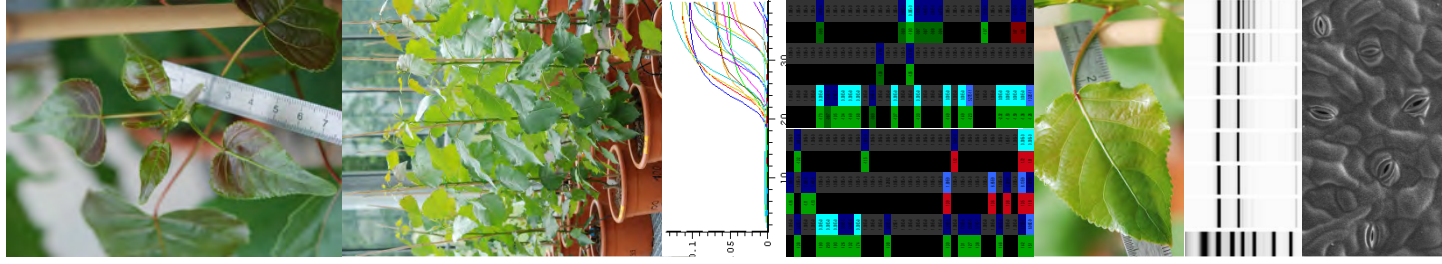
3- Expression et régulation en réponse à la sécheresse chez le peuplier

ANR

POPSEC: Etude de la réponse au déficit hydrique (2007-Nancy)



2 géotypes *Populus deltoïdes x nigra*: Carpaccio (C) et Soligo (S)
Carpaccio + tolérant à la sécheresse (Monclus *et al*; 2006)



3- Expression et régulation en réponse à la sécheresse chez le peuplier

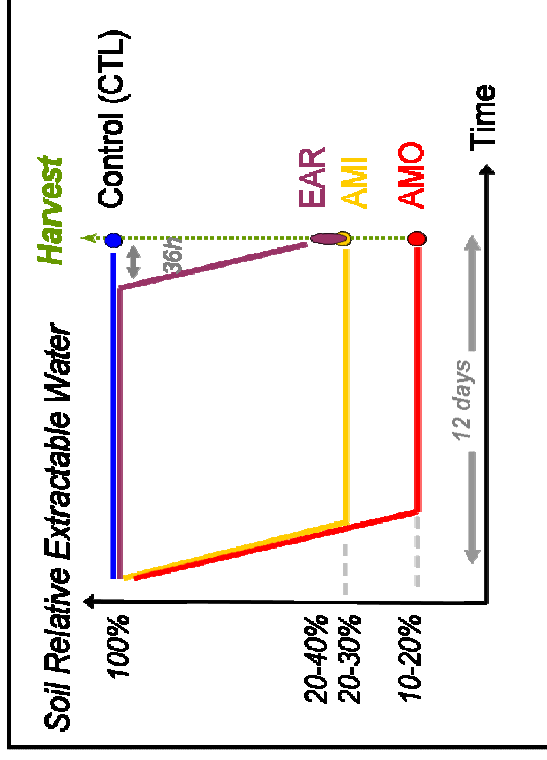


POPSEC: Etude de la réponse au déficit hydrique (2007-Nancy)



Gènes potentiellement impliqués dans l'acclimatation à la sécheresse

2 géotypes *Populus deltoides x nigra*: Carpaccio (C) et Soligo (S)
Carpaccio + tolérant à la sécheresse (Monclus *et al*; 2006)



2007

Réponse précoce:

EAR

Réponse long terme :

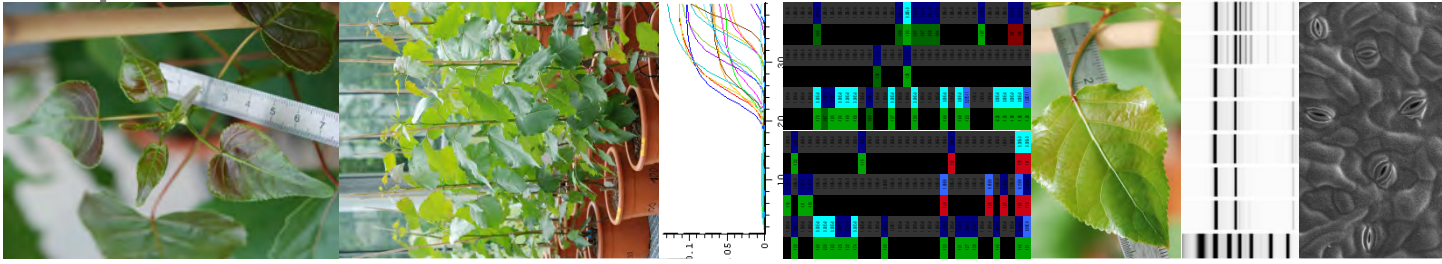
AMI

AMO

2008 Réponse long terme

2 organes : Feuilles matures, Apex de racines (Feuilles matures en 2008)

3- Expression et régulation en réponse à la sécheresse chez le peuplier

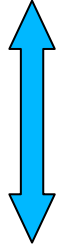


Génome du peuplier
54 AQPs

PIP	15
TIP	17
SIP	6
NIP	11
XIP	5

Gene chip poplar
genome array **52 AQPs**

PIP	15
TIP	16
SIP	6
NIP	10
XIP	5



Hybridation ADNg
Carpaccio et Soligo



72 probe sets



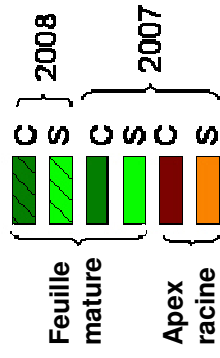
Probe sets redondantes, cad ciblant un même transcrit AQP

=> test ANOVA (Li et al, BMC Genomics 2008)

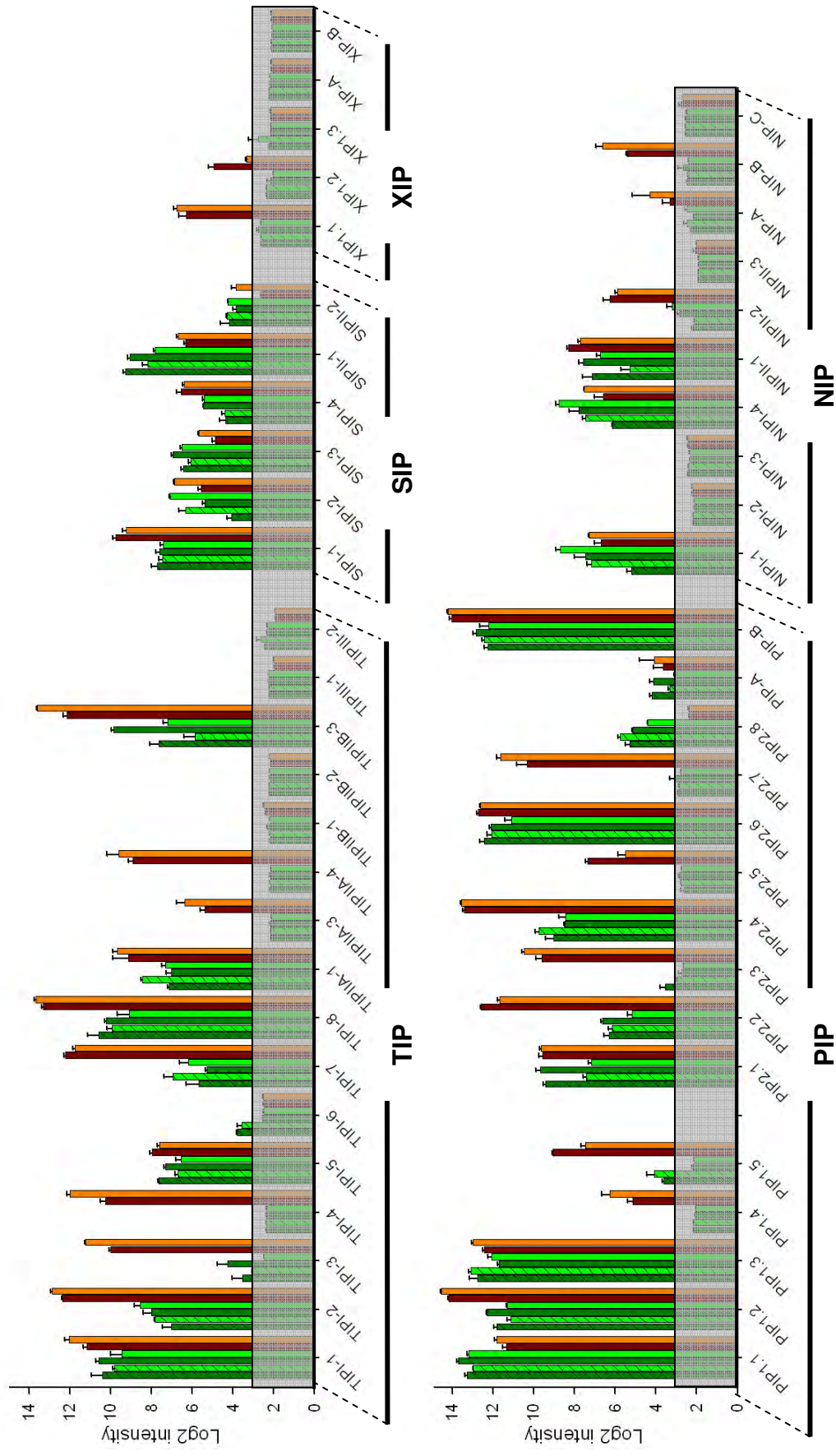
=> consolidation *ssi* pas d'interaction traitement x probe set

=> une valeur d'expression pour chaque AQP

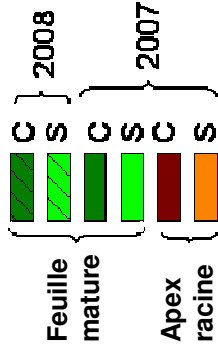
3- Expression et régulation en réponse à la sécheresse chez le peuplier



Patron d'expression des 52 AQPs en conditions optimales

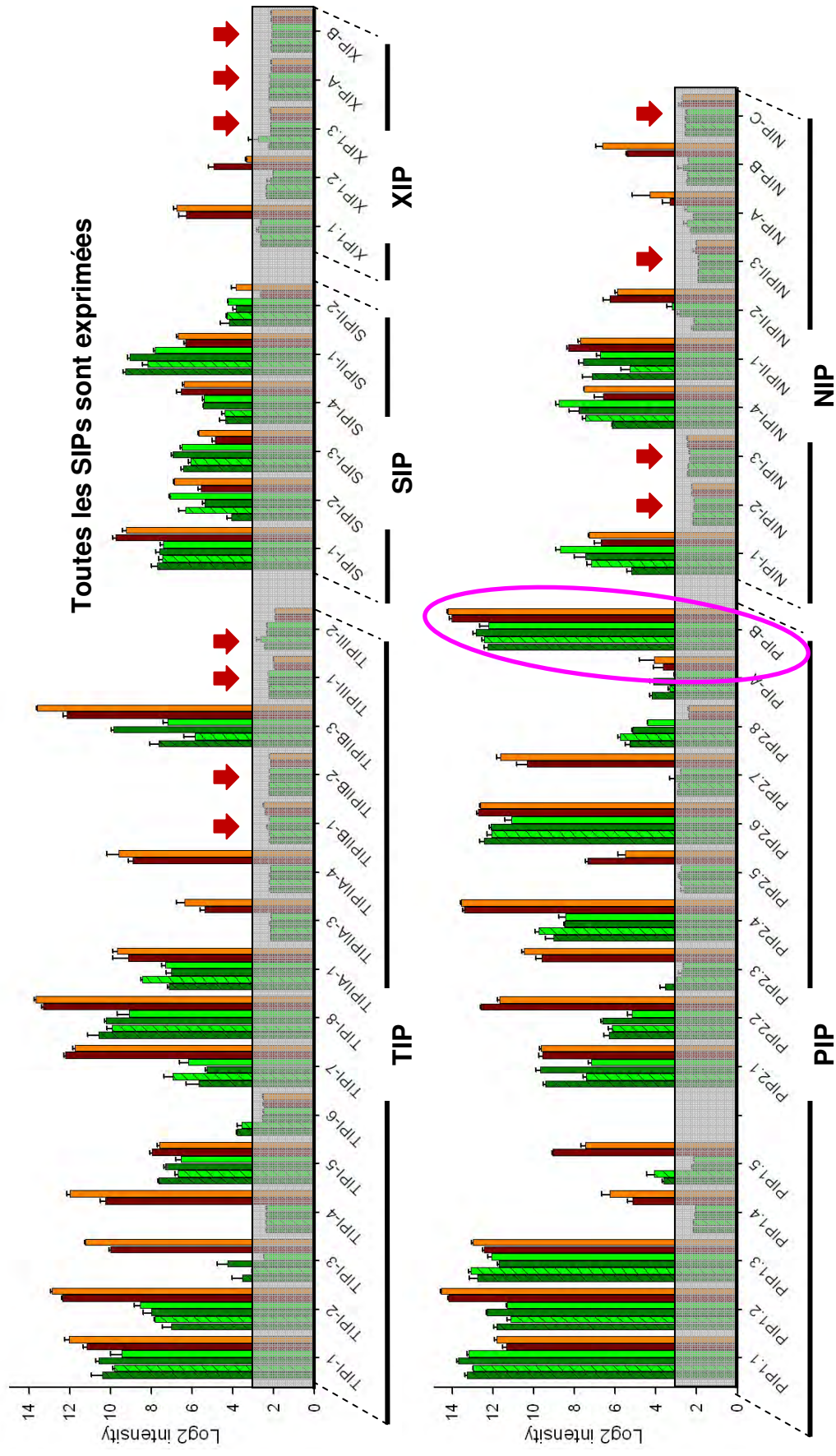


3- Expression et régulation en réponse à la sécheresse chez le peuplier

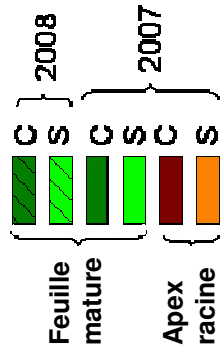


Patron d'expression des 52 AQPs en conditions optimales

→ 11 AQP non-exprimées

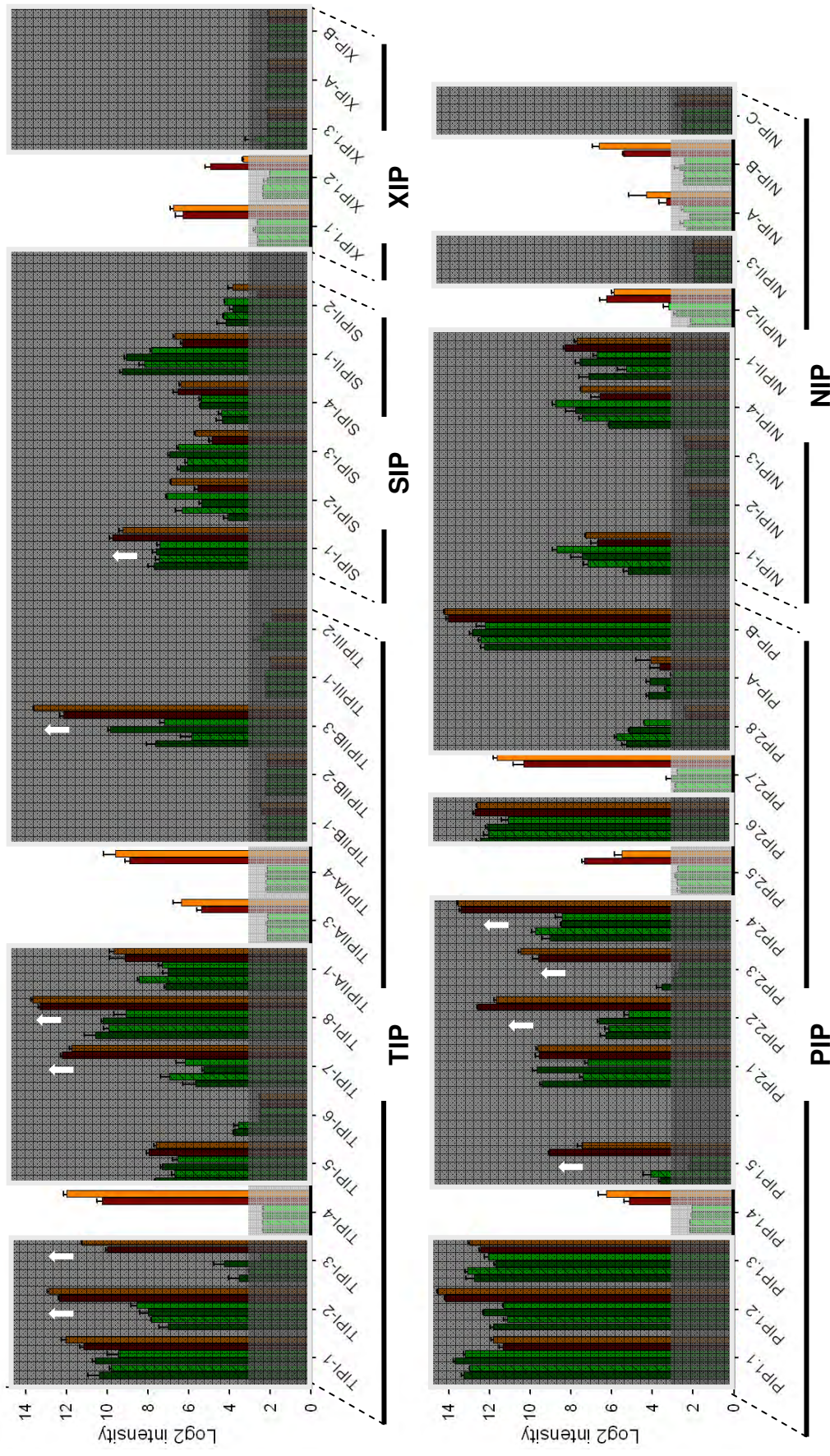


3- Expression et régulation en réponse à la sécheresse chez le peuplier

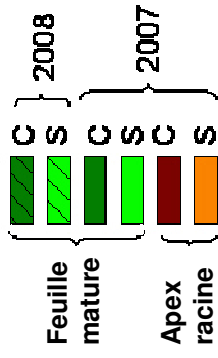


Patron d'expression des 52 AQPs en conditions optimales

=> Exprimées uniquement dans les apex de racine

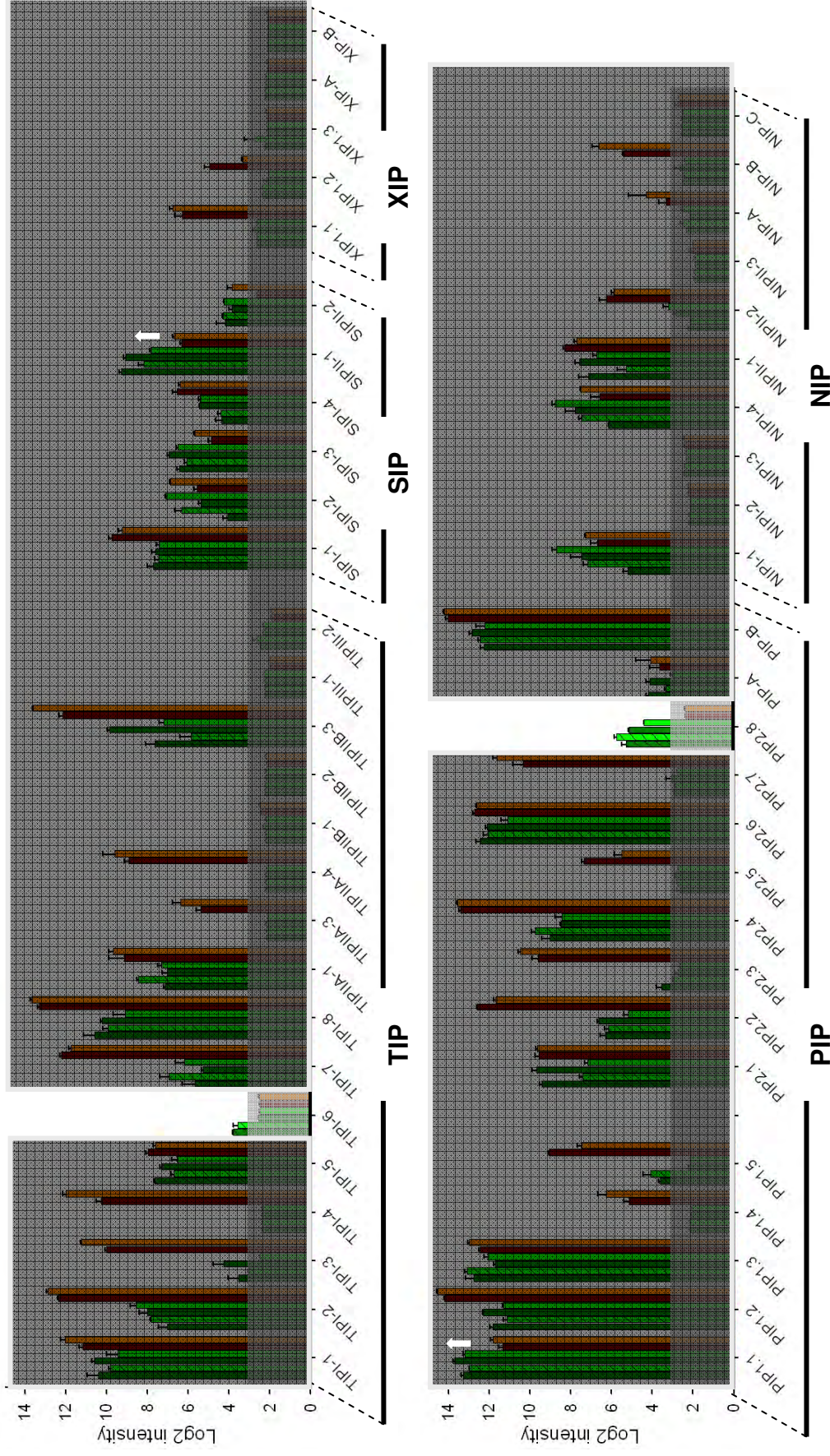


3- Expression et régulation en réponse à la sécheresse chez le peuplier

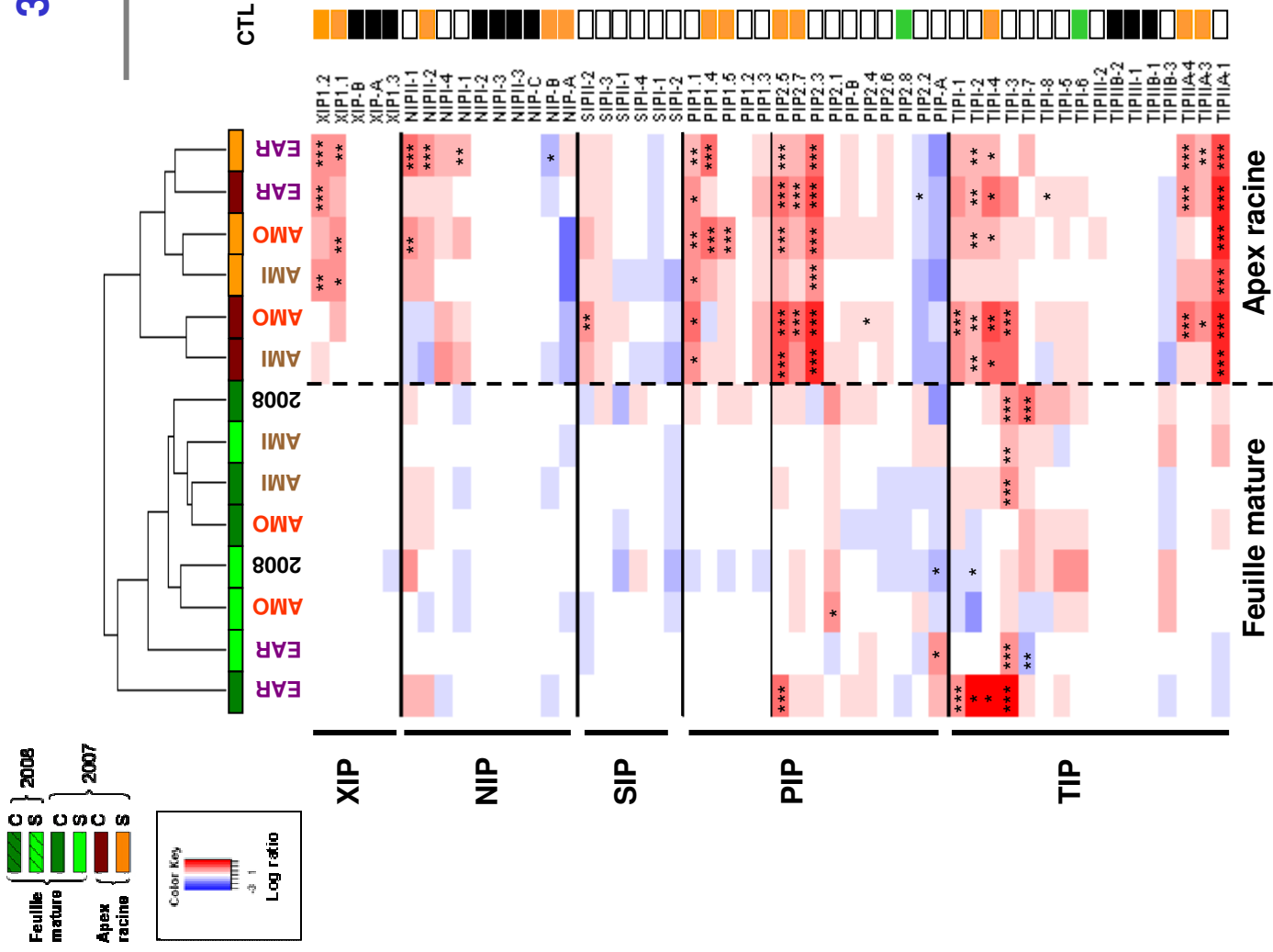


Patron d'expression des 52 AQPs en conditions optimales

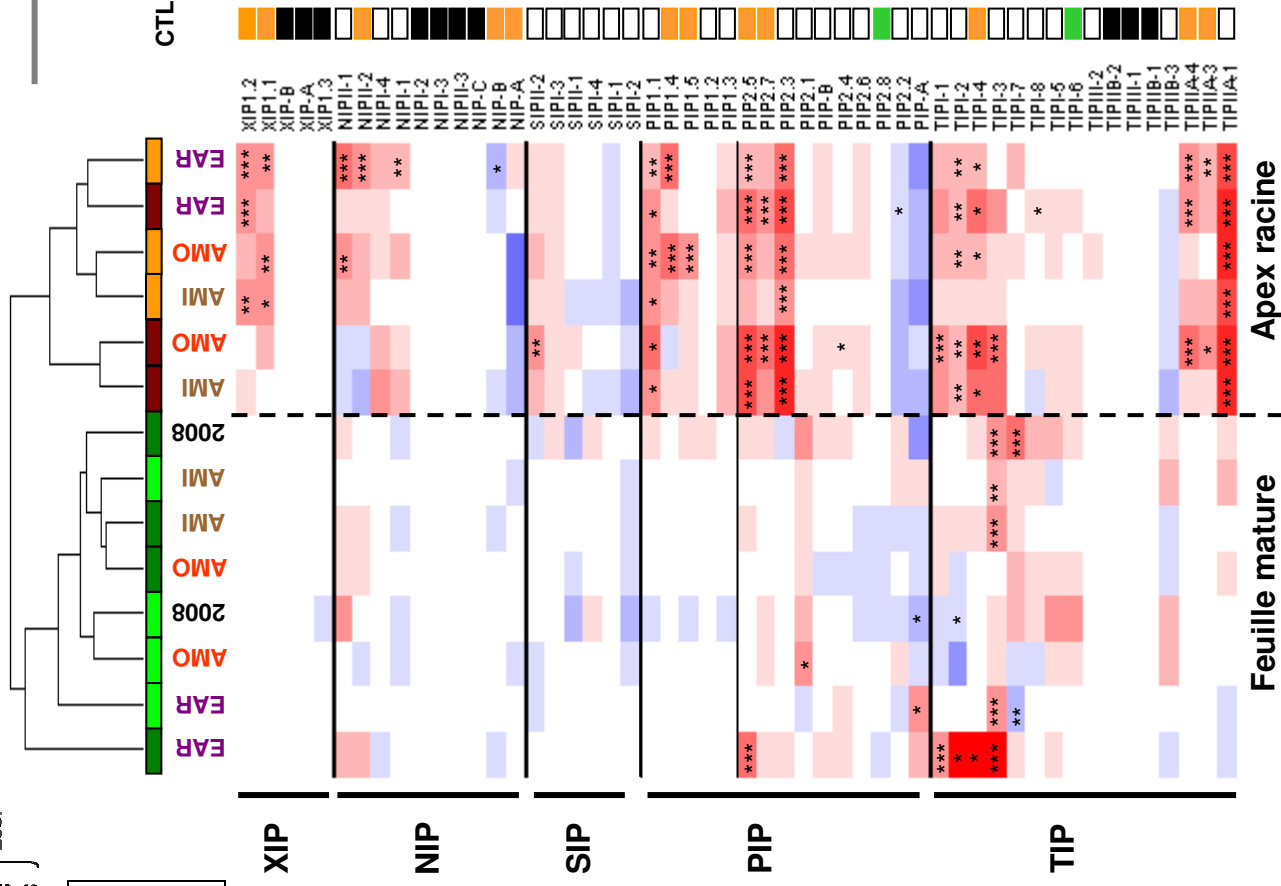
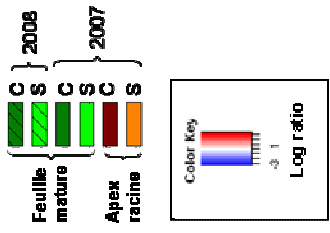
=> Exprimées uniquement dans les feuilles matures



3- Régulation des AQP en réponse à la sécheresse chez le peuplier



3- Régulation des AQP en réponse à la sécheresse chez le peuplier

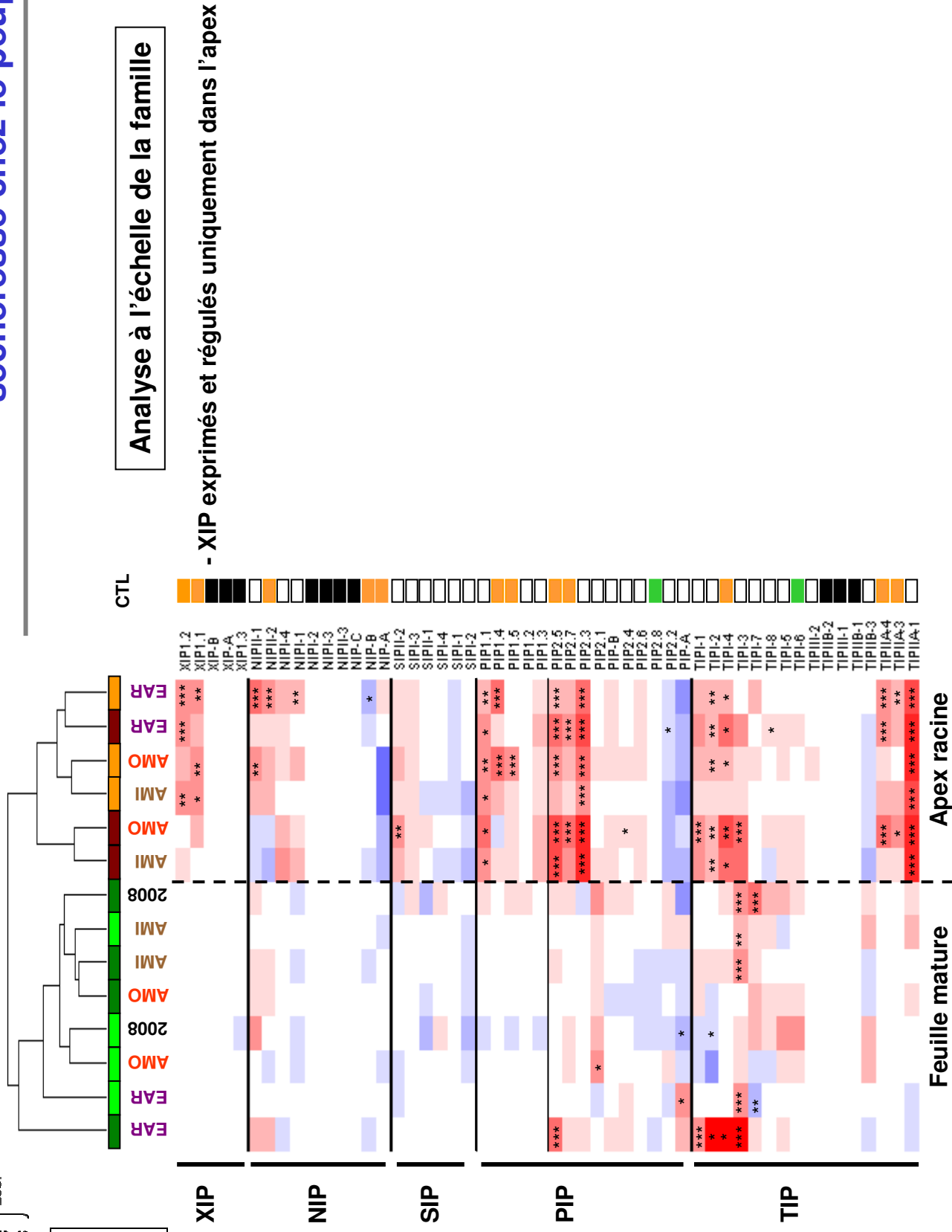
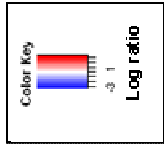
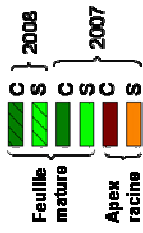


Les régulations de l'expression des AQPs sont
=>Plus fortes
=>Plus nombreuses
dans les apex que dans les feuilles matures

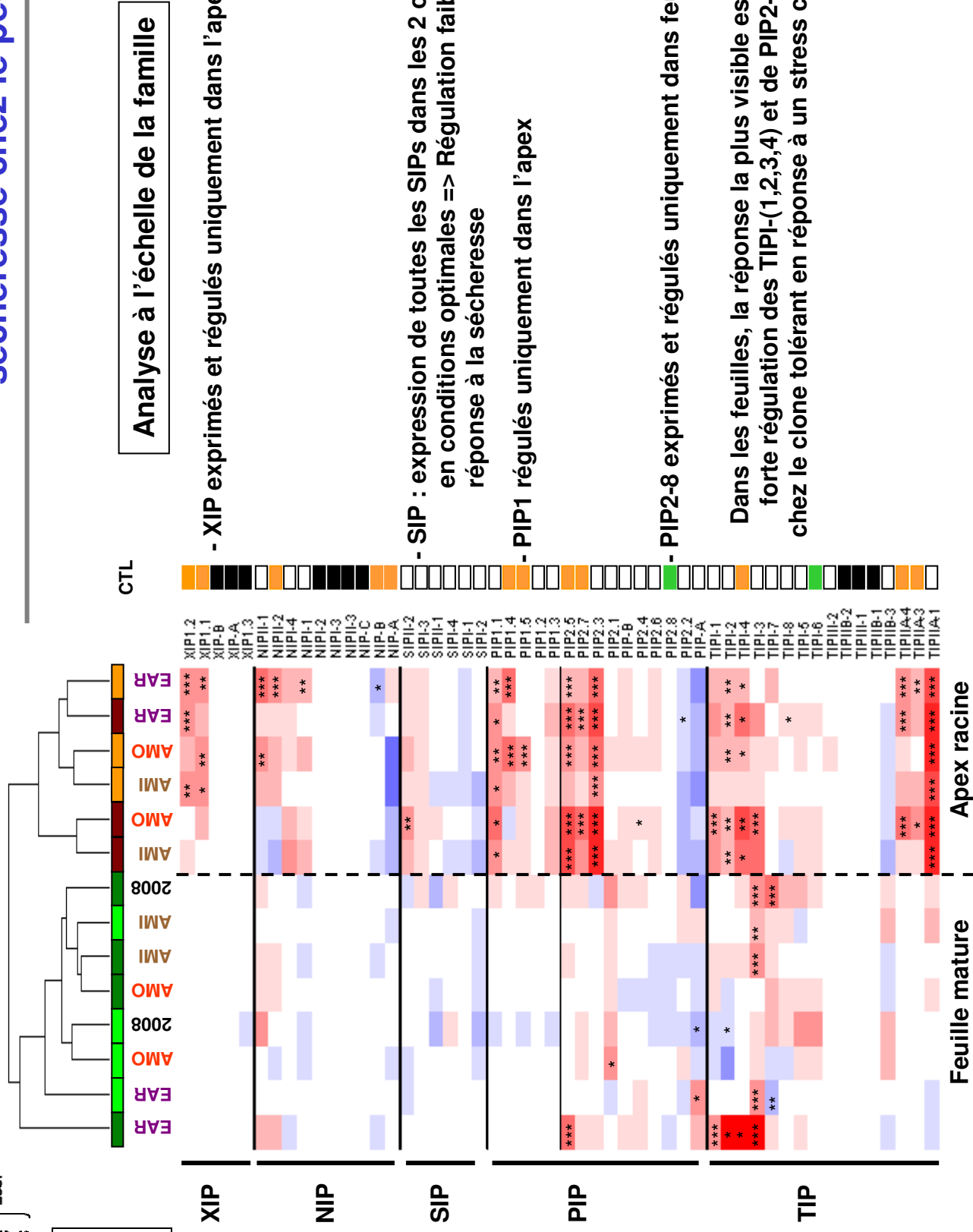
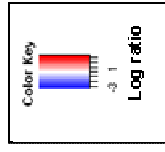
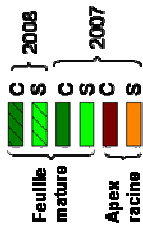
effet organes et/ou croissance ??

(Heinen et al 2009, J Ex bot)

3- Régulation des AQP en réponse à la sécheresse chez le peuplier



3- Régulation des AQP en réponse à la sécheresse chez le peuplier



Analyse à l'échelle de la famille

- XIP exprimés et régulés uniquement dans l'apex

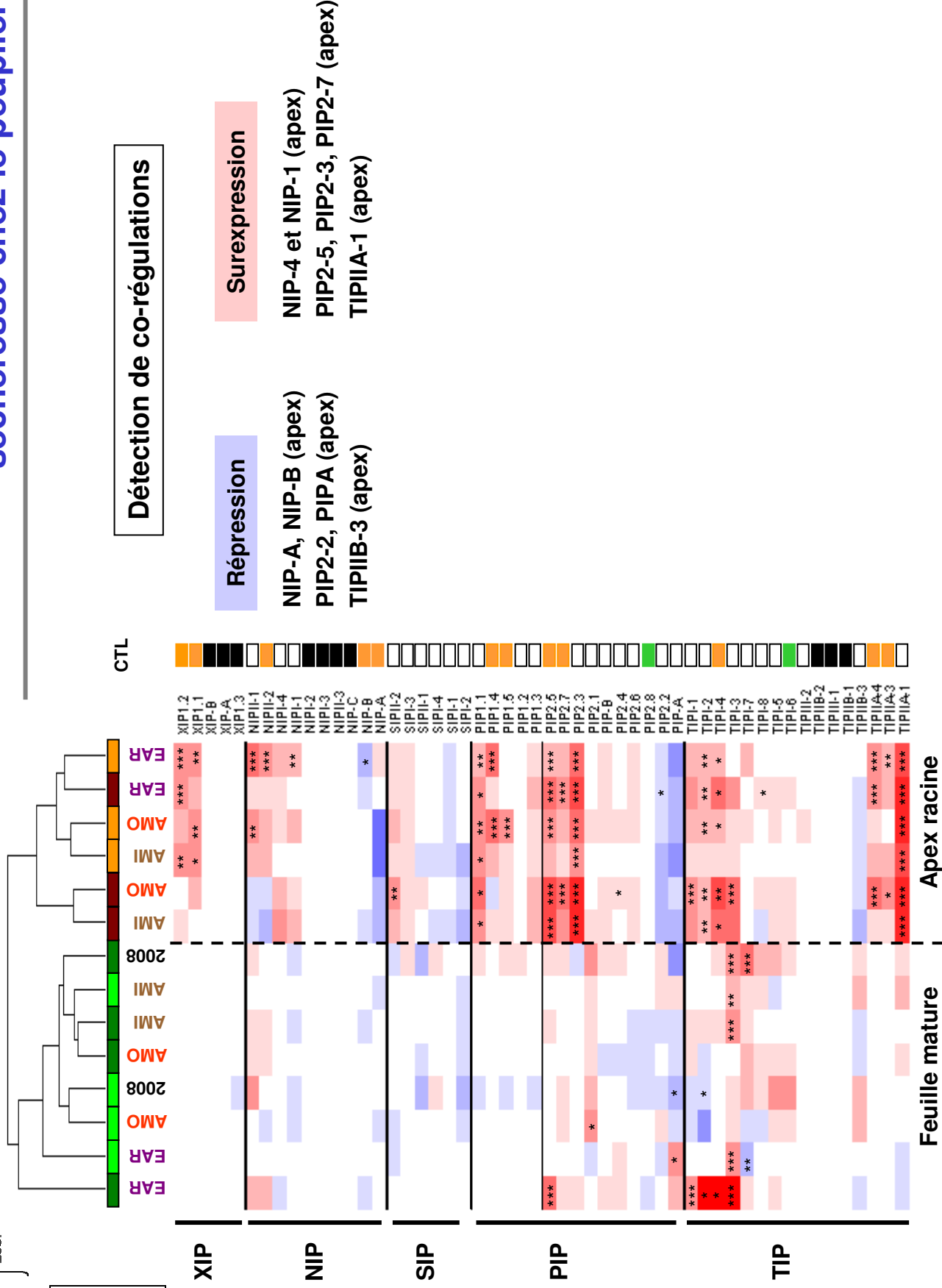
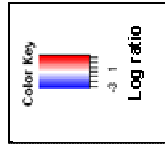
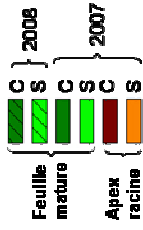
- SIP : expression de toutes les SIPs dans les 2 organes en conditions optimales => Régulation faible en réponse à la sécheresse

- PIP1 régulés uniquement dans l'apex

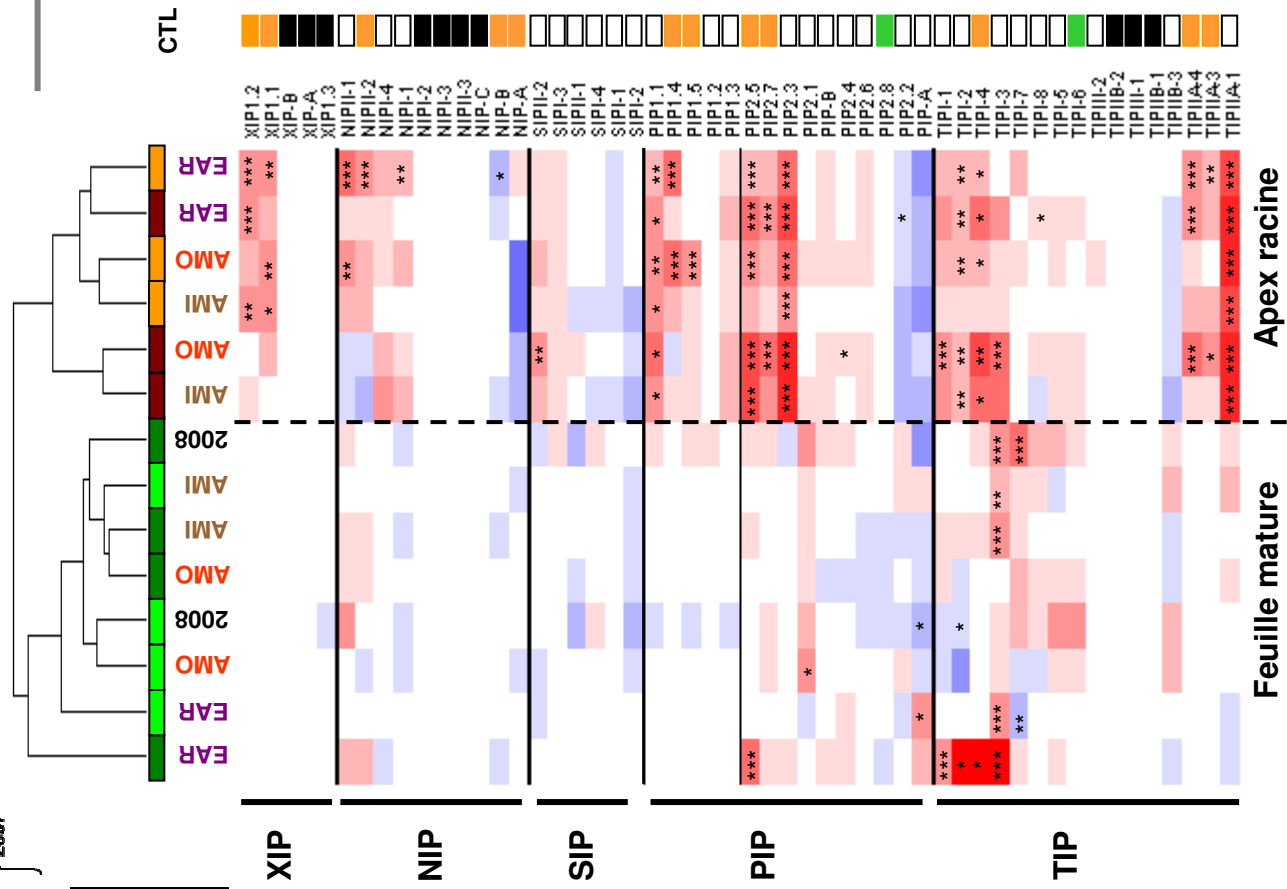
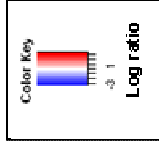
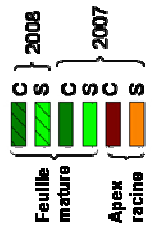
- PIP2-8 exprimés et régulés uniquement dans feuille

Dans les feuilles, la réponse la plus visible est la forte régulation des TIPI-(1,2,3,4) et de PIP2-5 chez le clone tolérant en réponse à un stress court

3- Régulation des AQP en réponse à la sécheresse chez le peuplier



3- Régulation des AQP en réponse à la sécheresse chez le peuplier



Détection de co-régulations

Répression

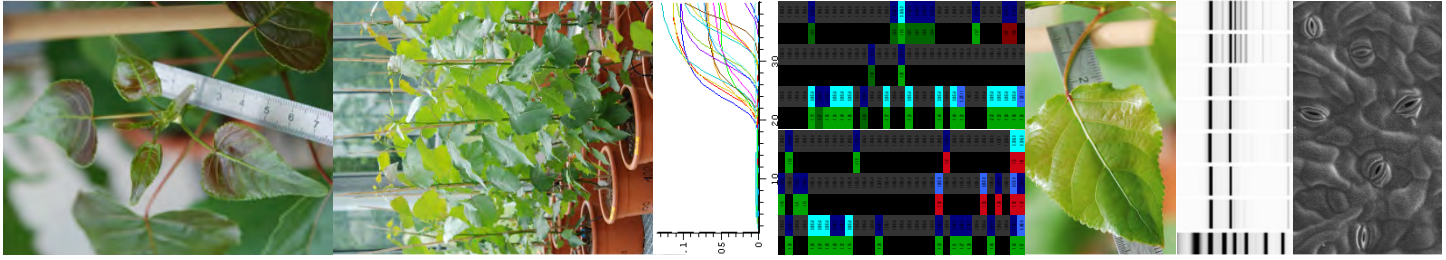
NIP-A, NIP-B (apex)
 PIP2-2, PIPA (apex)
 TIPIB-3 (apex)

Surexpression

NIP-4 et NIP-1 (apex)
 PIP2-5, PIP2-3, PIP2-7 (apex)
 TIPIIA-1 (apex)

Induction par la sécheresse uniquement chez le clone tolérant

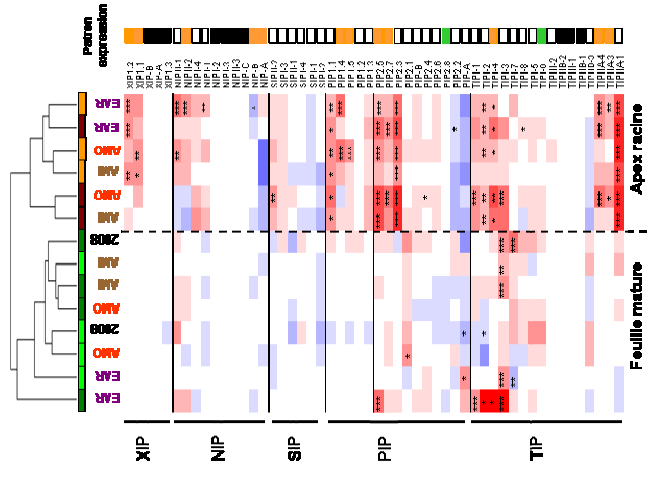
Expression dans apex => Induction dans feuille
 NIP1I-2, PIP2-5, TIP1.4

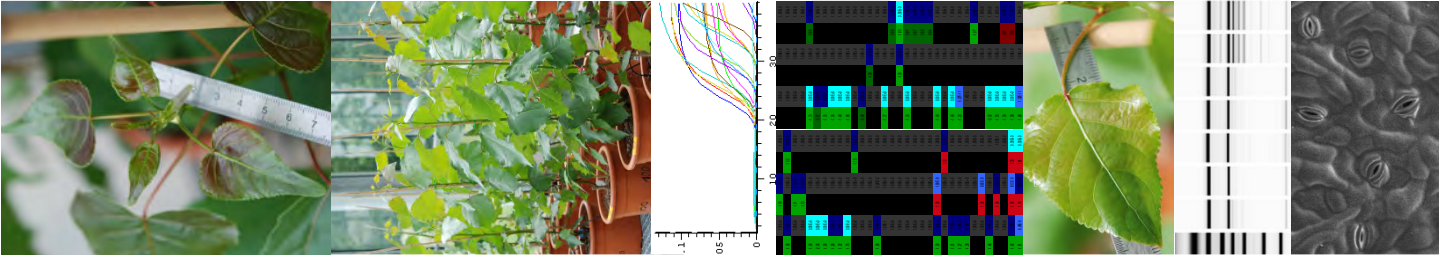


Conclusions

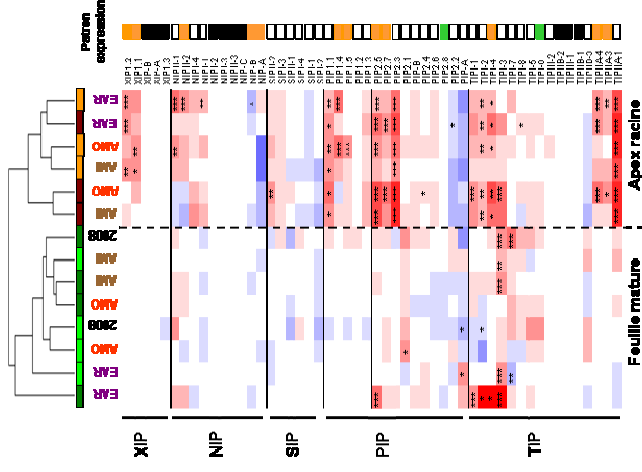
- 1- Analyse à l'échelle de la famille
- 2- Détection de co-régulations
- 3- Détection de AQP candidats
Acclimatation /tolérance à la sécheresse
- 4- Détection d'AQPs ni exprimées ni régulées
dans nos conditions

XIP-(A,B,1-3) / NIP(I-2,1-3,II-3-C), TIP(IIB-1, IIB-2, III-1)





Conclusions



- 1- Analyse à l'échelle de la famille
- 2- Détection de co-régulations
- 3- Détection de AQP candidats
Acclimation /tolérance à la sécheresse
- 4- Détection d'AQPs ni exprimées ni régulées
dans nos conditions

XIP-(A,B,1-3) / NIP(I-2,I-3,II-3,-C), TIP(II-B-1, II-B-2, III-1)

Perspectives

- 1- Recherche de motifs de cis-régulation dans les promoteurs
- 2- Analyse de l'expression d'éléments putatifs de trans-régulation
- 3- Détection d'autres gènes candidats acclimation à la sécheresse
- 4- Méta-analyse dans d'autres conditions
(génotype, traitement, organes, tissus, stade de développement)
Par analyse directe des données expression disponibles dans les
bases de données publiques.

!!!! MERCI !!!!!

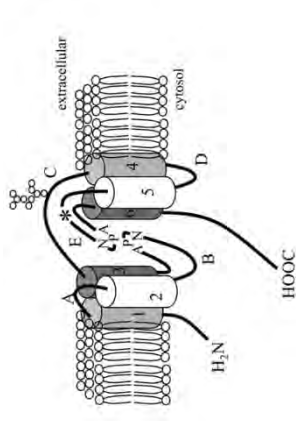
POPSEC

Dreyer E. (Nancy)
Le Thiec D. (Nancy)
Renou J-P (Evry)
Balzergue S. (Evry)
Martin-Magniette M-L (Evry)

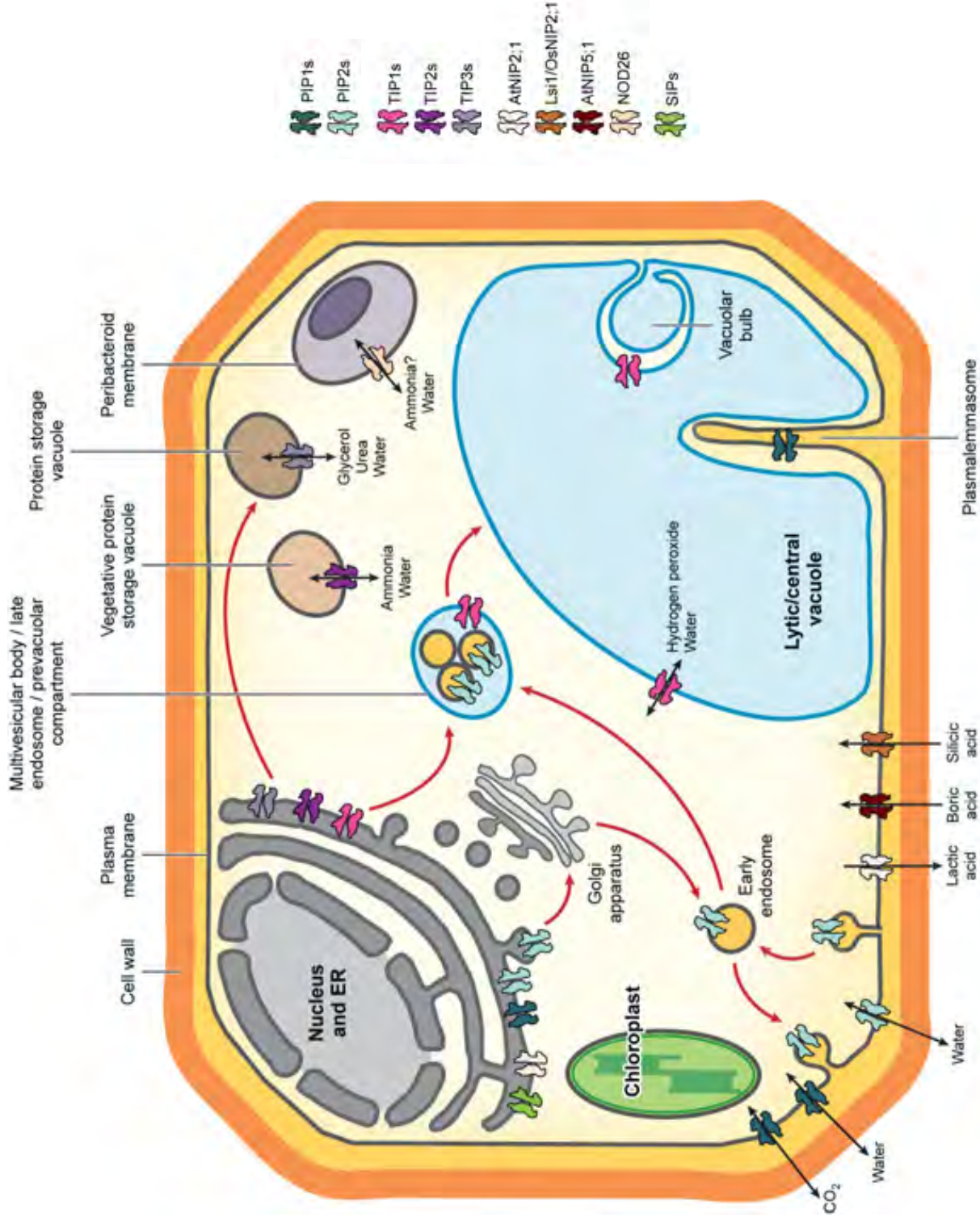
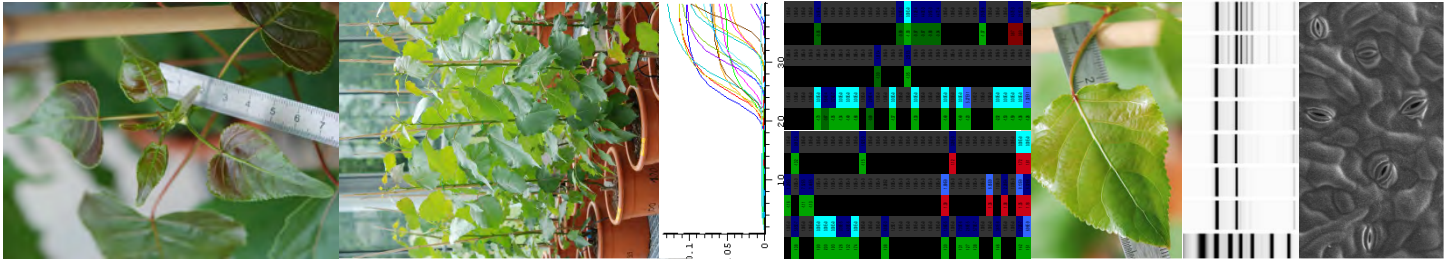


Aquaporines

Depardieu C. (Besançon)
Courty P-E (Bâle)
Venisse J-S (Clermont-Ferrand)
Chaumont F. (Louvain)
Maurel C. (Montpellier)
Pereda V. (Nancy)
Kohler A. (Nancy)



Quatre principales sous-familles d'aquaporines



Maurel et al. (2008) Annu. Rev. Plant Biol.



Biodiversité, gènes & communautés

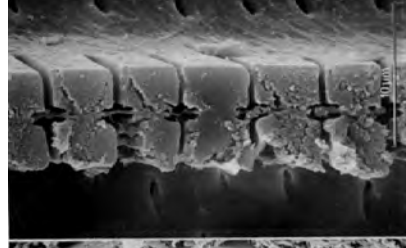
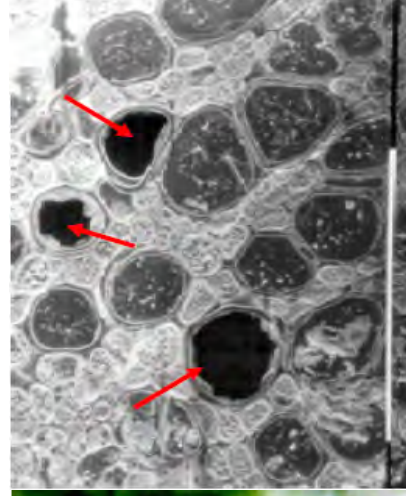
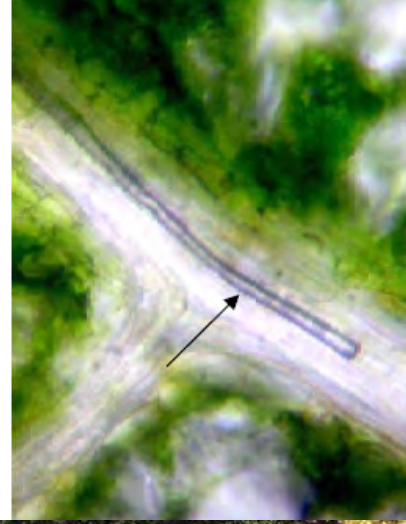


La microscopie électronique à la rescousse de la cavitation



S. DELZON, R. BURLETT, JB LAMY, S. JANSEN and H. COCHARD

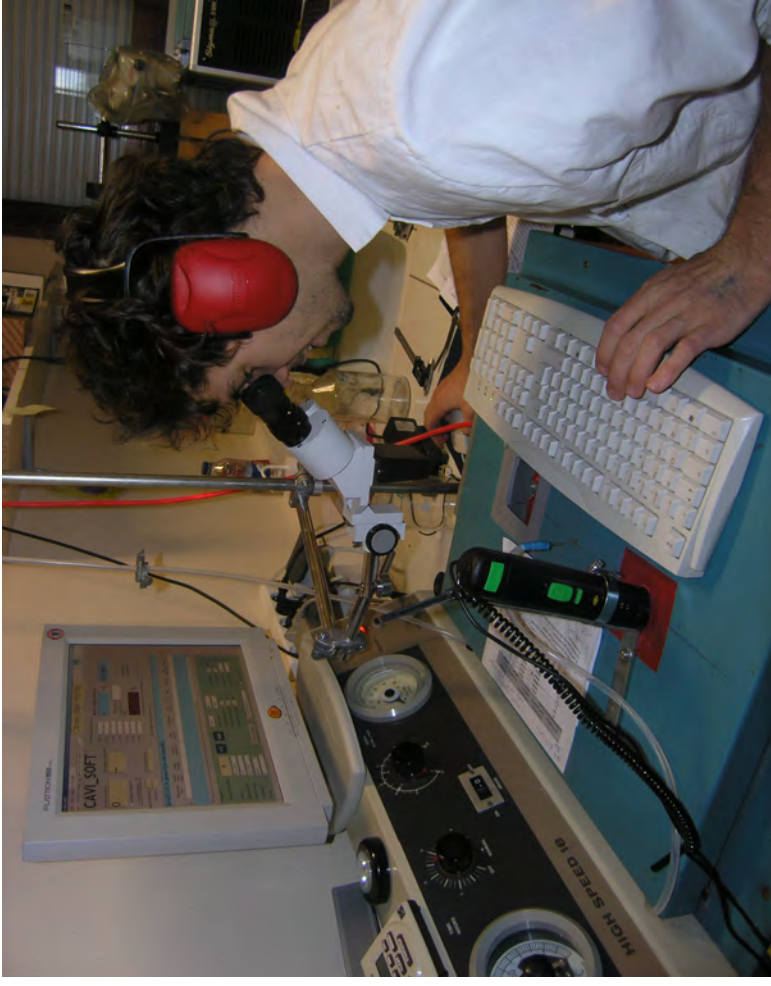
University of Bordeaux, France



Plateforme de phénotypage de la cavitation (CAVIPLACE)



Cavitron 1 (max 7500 trs)



Cavitron 2 (max 15000 trs)

Objectifs

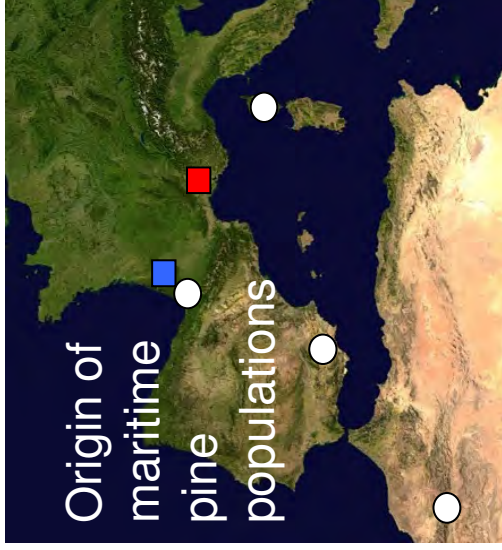
- automatisation de la mesure
- lecture du déplacement du ménisque via une caméra
- contrôle de la vitesse directement via le logiciel (cavisoft)
- mesure embarquée de la température de l'eau

PROJETS

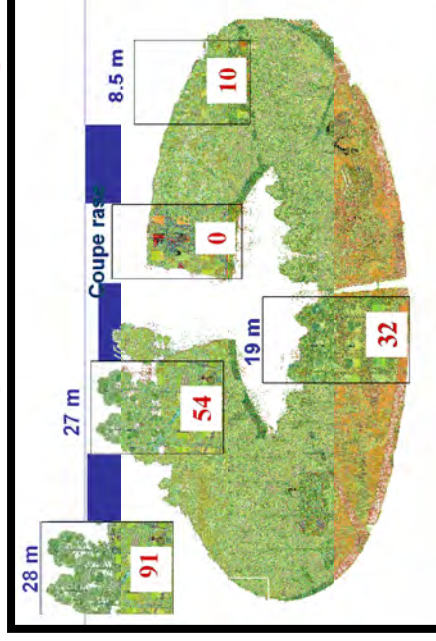
Intra-spécifique

Pinus pinaster

1. Variations génétiques : test de provenances



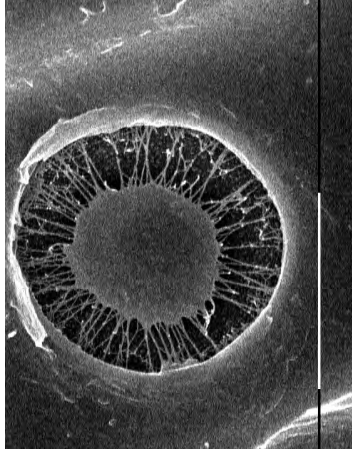
2. Effet de l'âge : chronoséquence



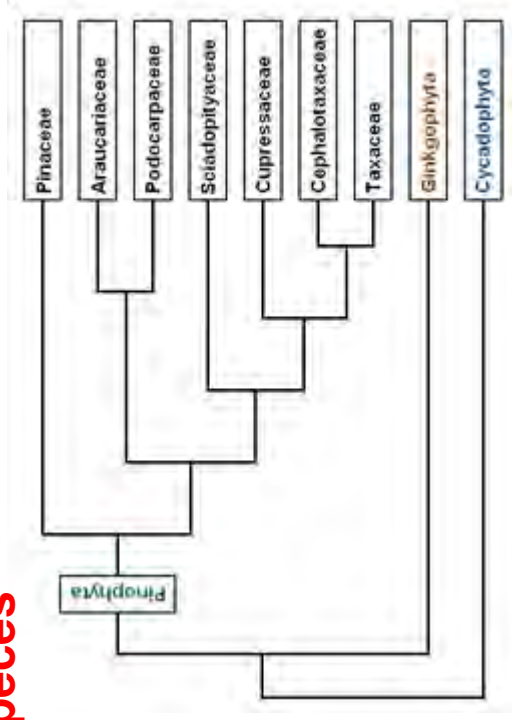
Inter-spécifique

Taxon des Pinophytes

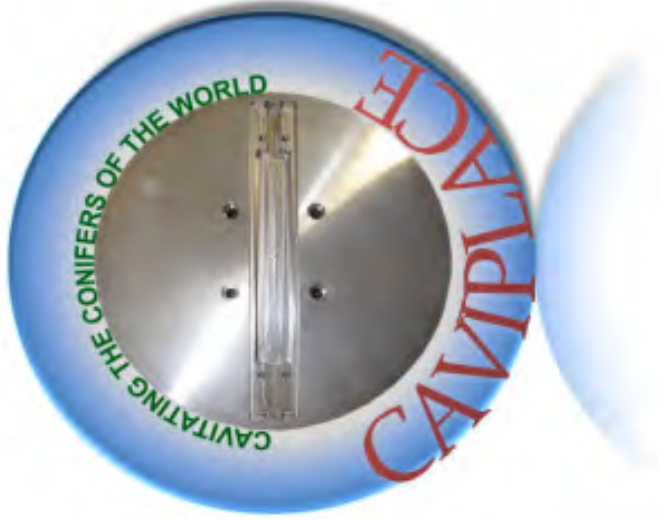
1. Mécanisme de cavitation chez les pinophytes (ou conifères)



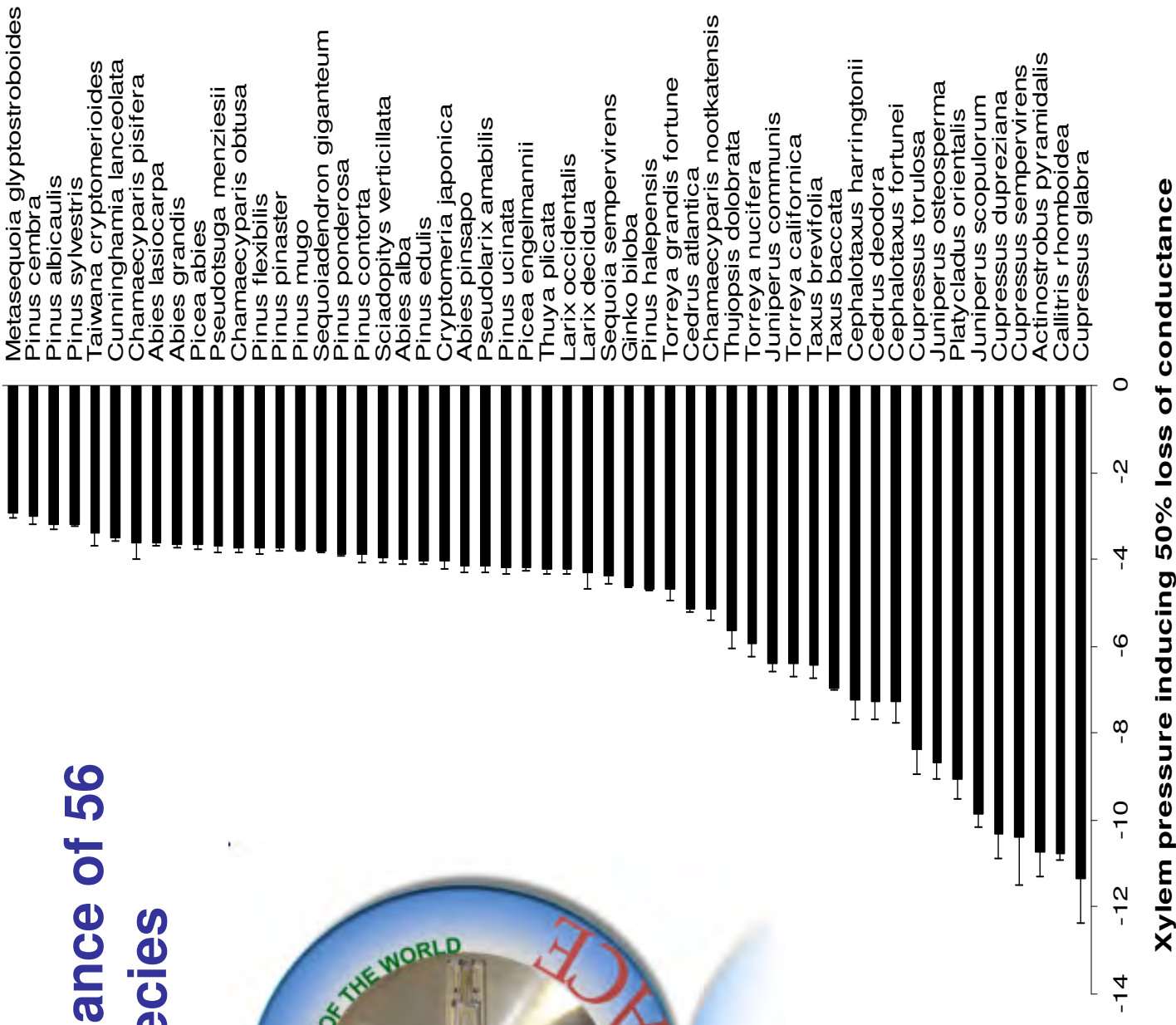
2. Phylogénie et répartition des espèces



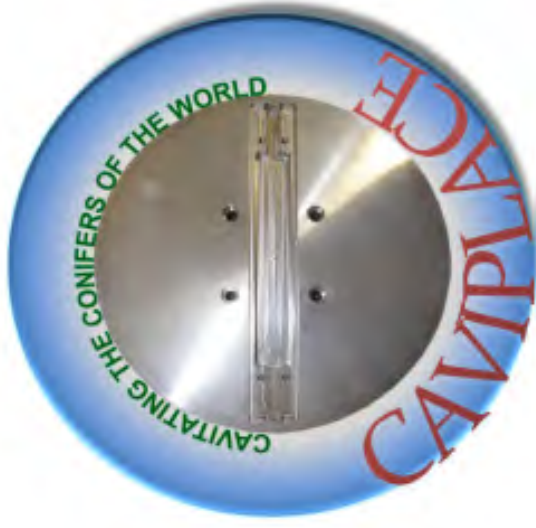
Cavitation resistance of 56 conifer species



High variability of P50
 from 2.9 (*Metasequoia*)
 to 11.5 MPa (*Cupressus glabra*)



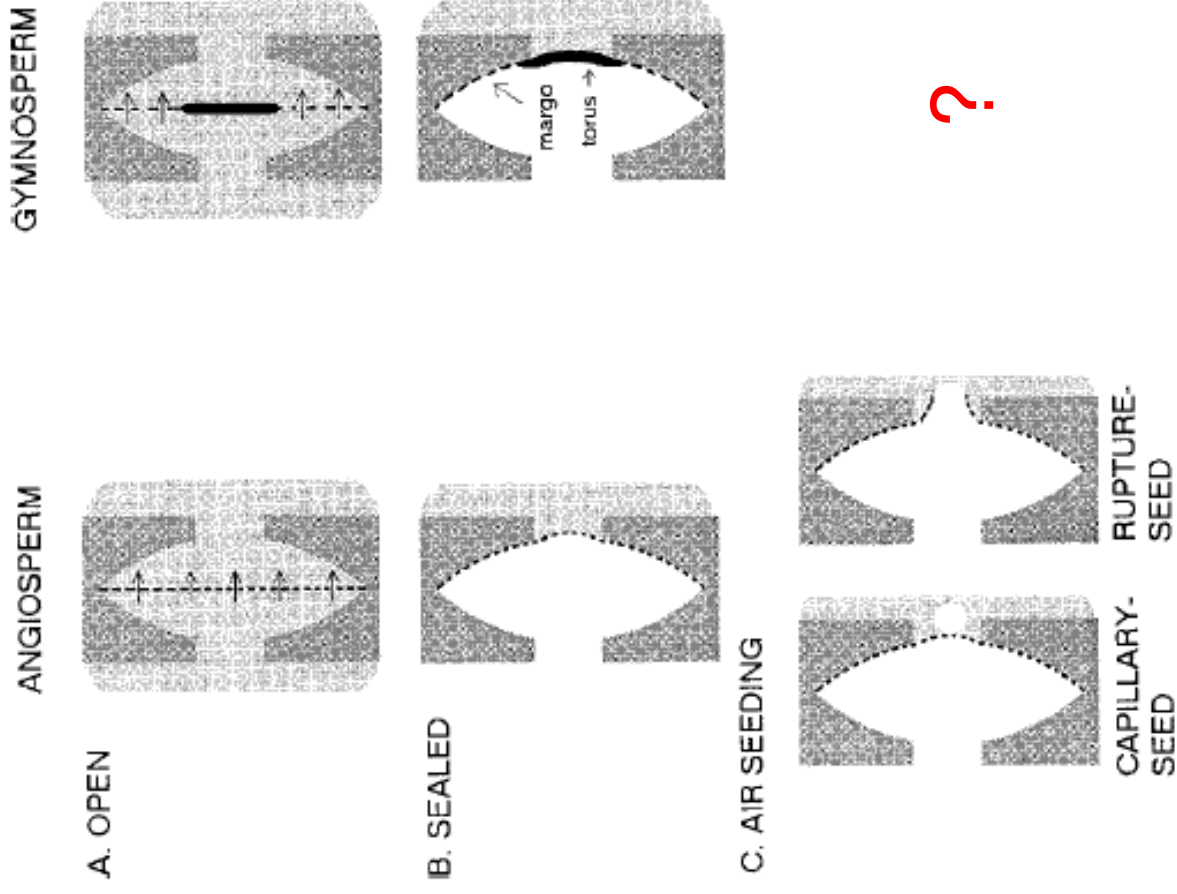
Xylem pressure inducing 50% loss of conductance



Taxonomic diversity of conifers and species measured for cavitation resistance

	Genera	species	Sampled species	Remaining sp.	sampled genera
Araucariaceae	3	41	0	41	0
Cephalotaxaceae	1	11	2	9	1
Cupressaceae	30	133	22	111	13
Phyllocladaceae	1	4	0	4	0
Pinaceae	11	228	25	203	7
Podocarpaceae	18	186	1	185	0
Sciadopityaceae	1	1	1	0	1
Taxaceae	5	23	5	18	2
Totals	70	627	56	571	24

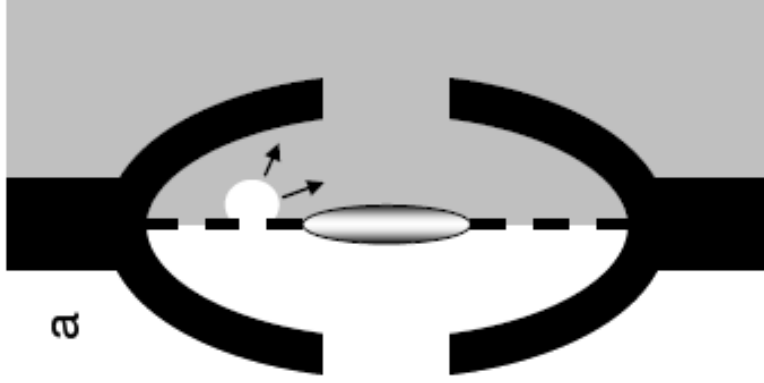
Contrasting modes of interconduit pit function in angiosperm vessels vs. gymnosperm tracheids with a torus-margo pit membrane



Adapted from Hacke
et al. 2004 American
Journal of Botany

Different possible modes of nucleation in conifers

margo capillary-seeding



a

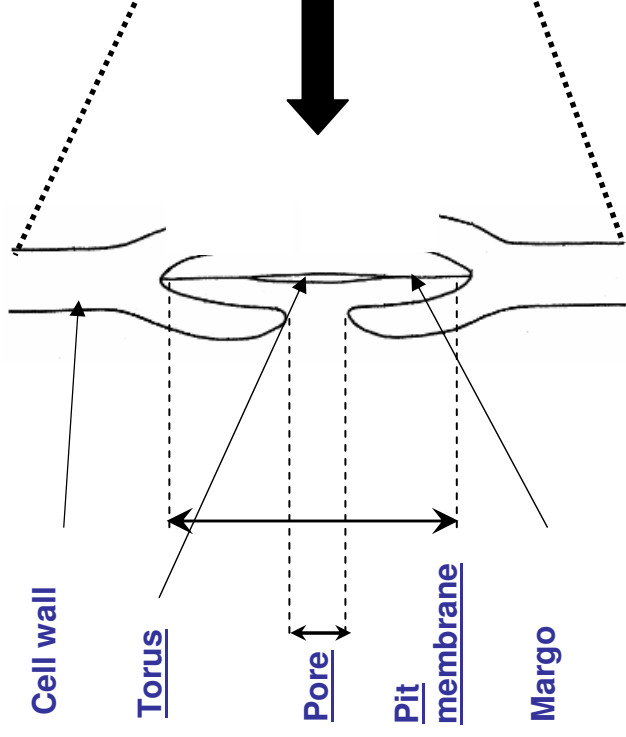
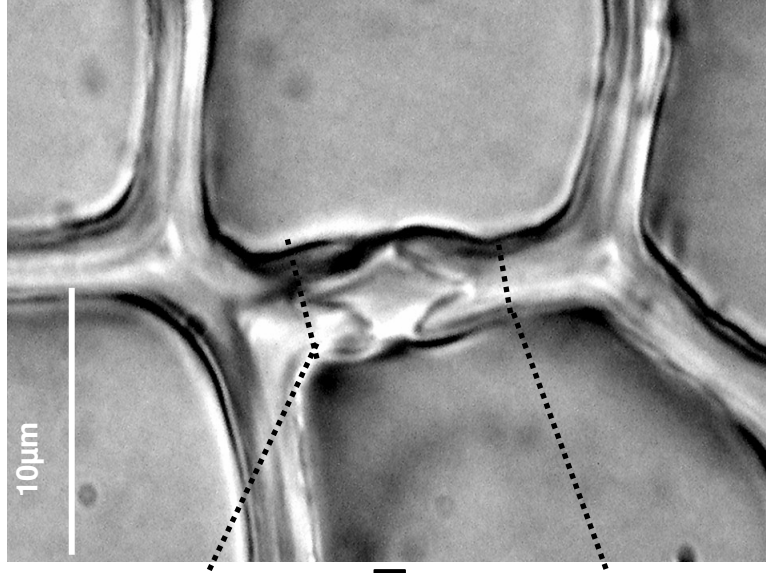
n

margo stretch-seeding

ng

Our objective was to experimentally test each hypothesis

Anatomical measurements: structure and function of pit membrane



SEM and TEM Measurements

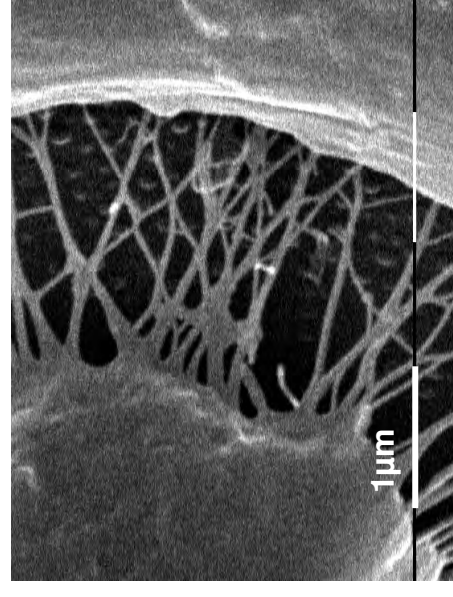
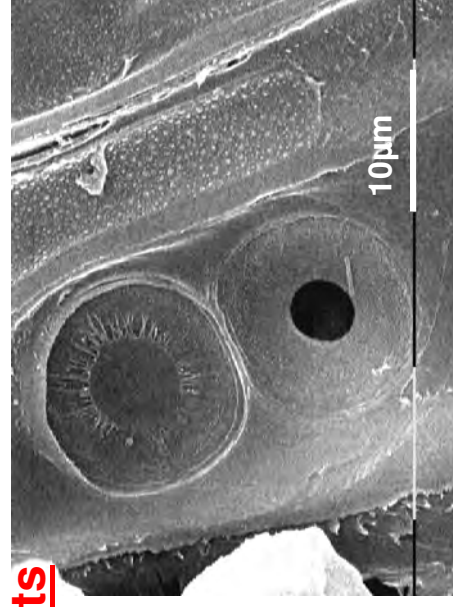
Wood density and lumen area

pit membrane diameter

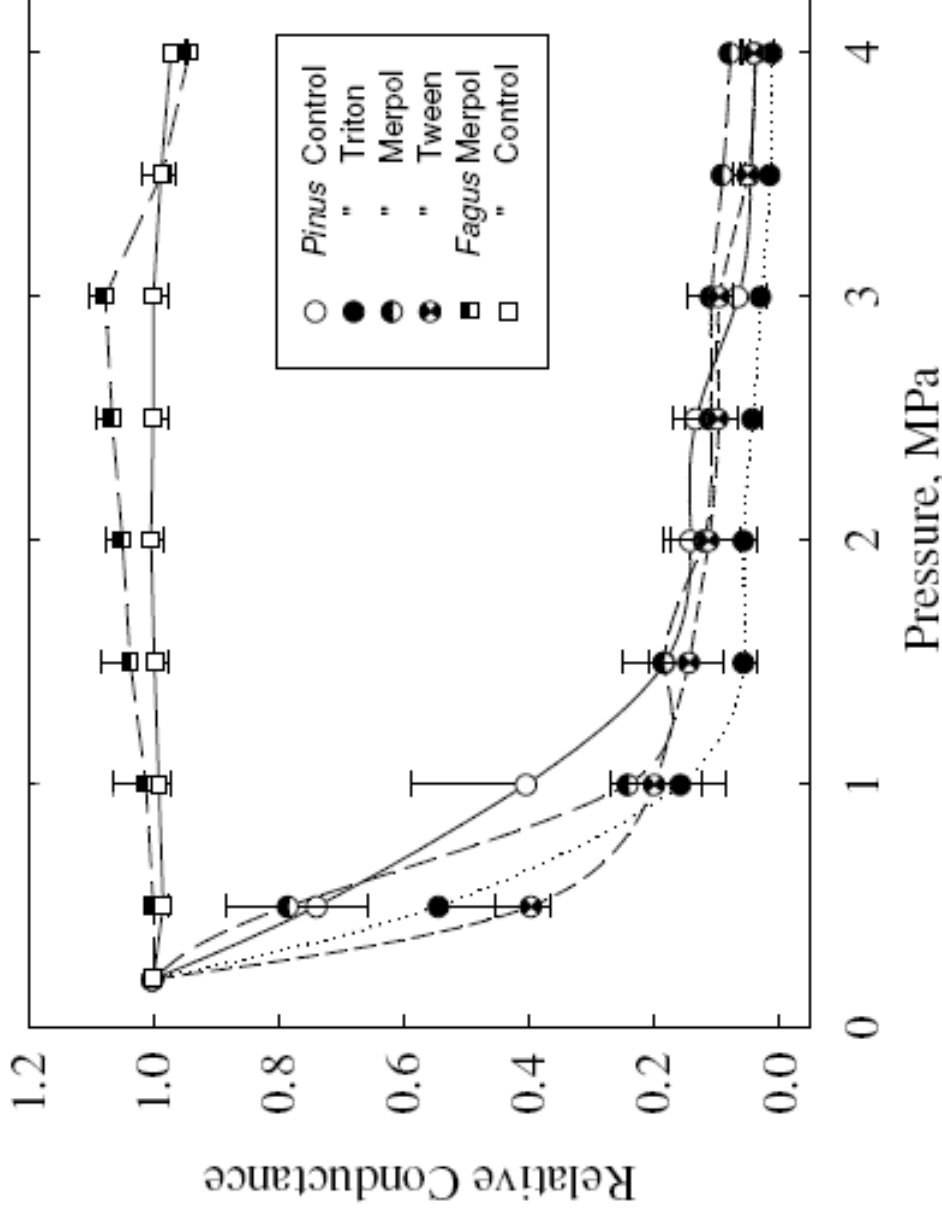
pit aperture diameter

torus diameter

largest pore in the margo



Hypothesis 1: margo rupture-seeding?



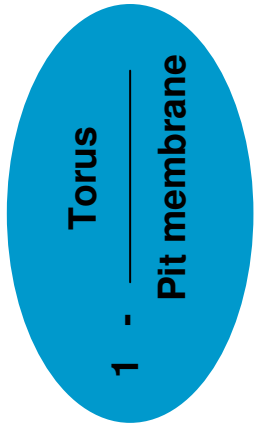
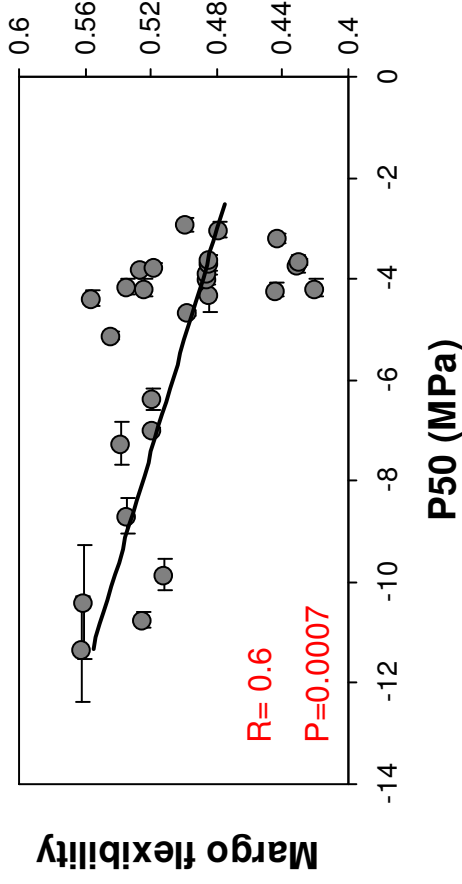
By injecting
branches with a fluid
under varying
pressure gradient

Cochard et al. 2009
Plant Physiol

No increase in hydraulic conductance above the
cavitation pressure: H1 rejected

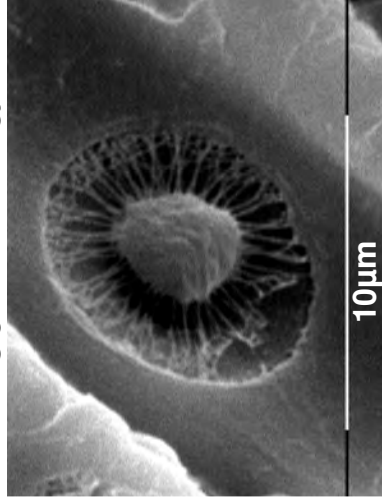
Hypothesis 2: margo stretch-seeding?

Margo flexibility
 $F = 1 - (Dt / Dm)$



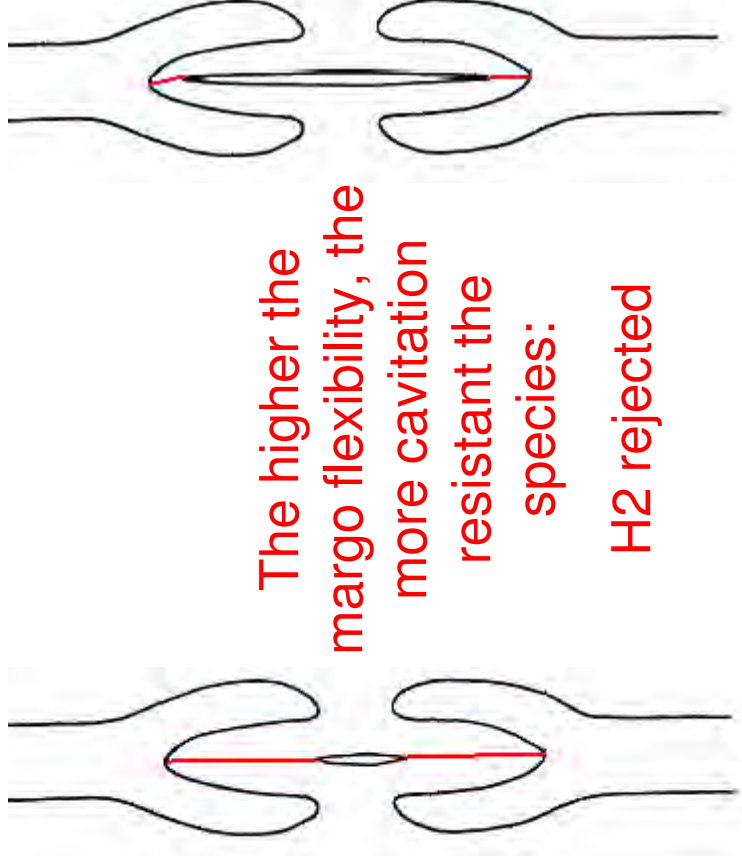
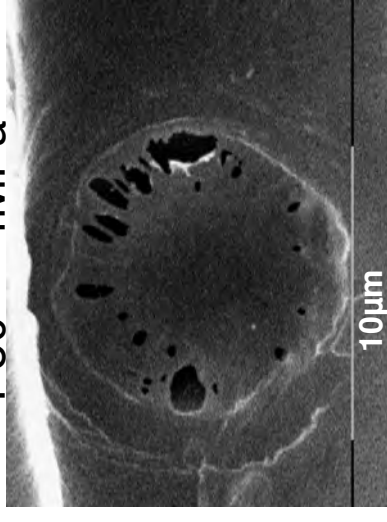
High values

(Cupressus glabra)
resistant species
 P50= -11MPa



Low values

(Pinus uncinata)
vulnerable species
 P50= -4MPa

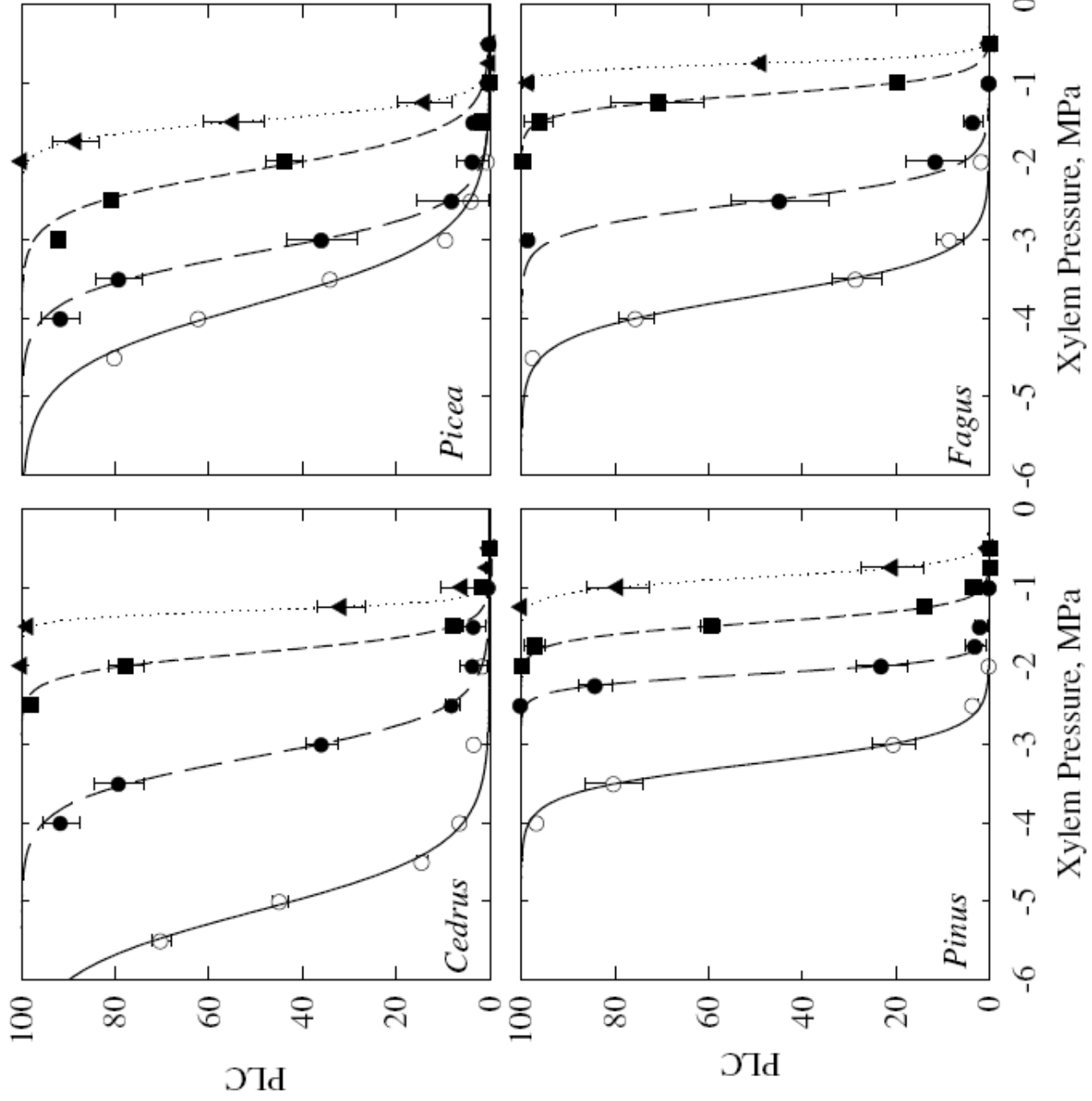


The higher the
 margo flexibility, the
 more cavitation
 resistant the
 species:
 H2 rejected

Hypothesis 3: capillary-seeding?

by injecting xylem samples with different surfactant solutions

○	Control	Surface tension	73 mN/m
●	Tween 40		43 mN/m
■	Triton X100		31 mN/m
▲	Merpol		24 mN/m



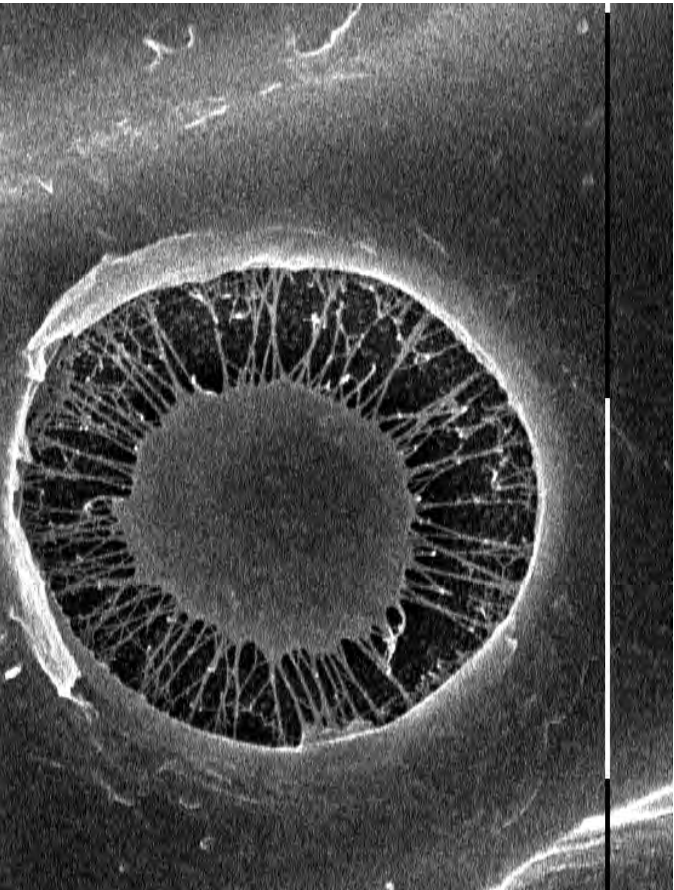
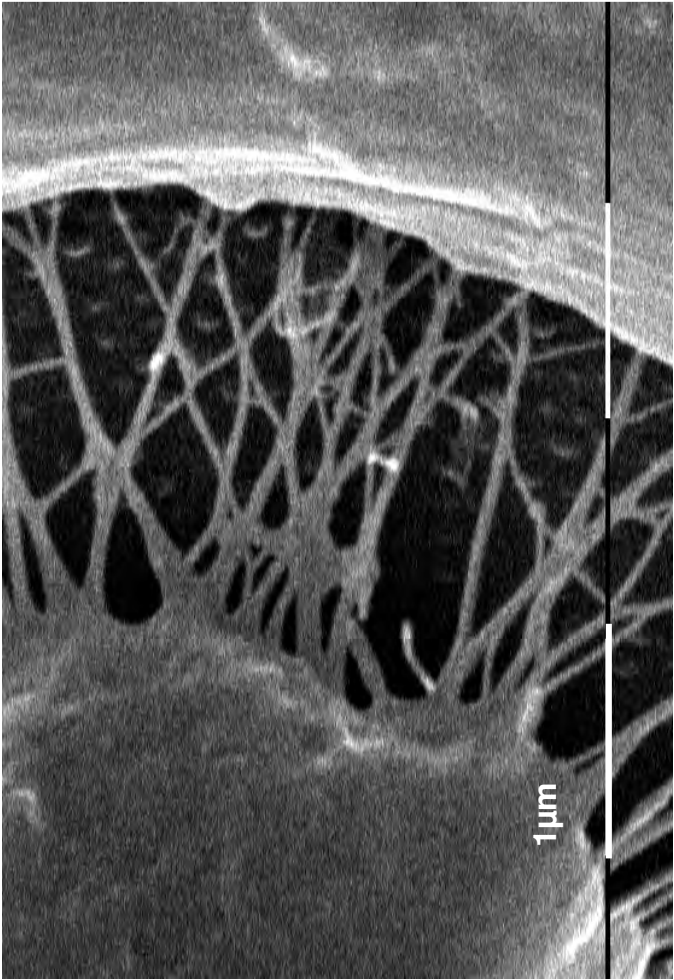
Cochard et al.
2009 PP

Linear relationship between cavitation resistance and fluid surface tension: H3 accepted

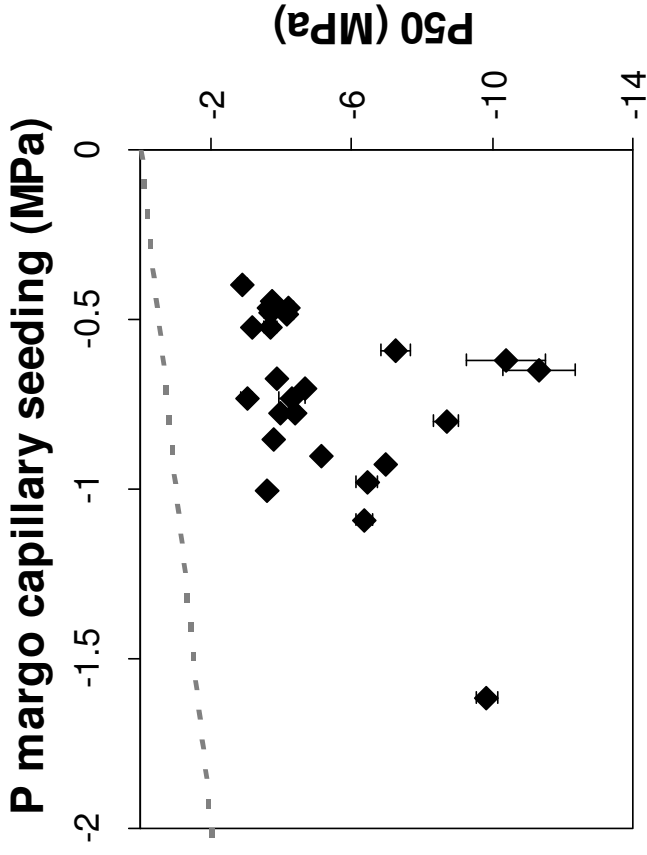
Our results support a capillary failure
mechanism for water-stress induced
cavitation in conifers

but ...

The exact location of the meniscus that may
break is still unknown

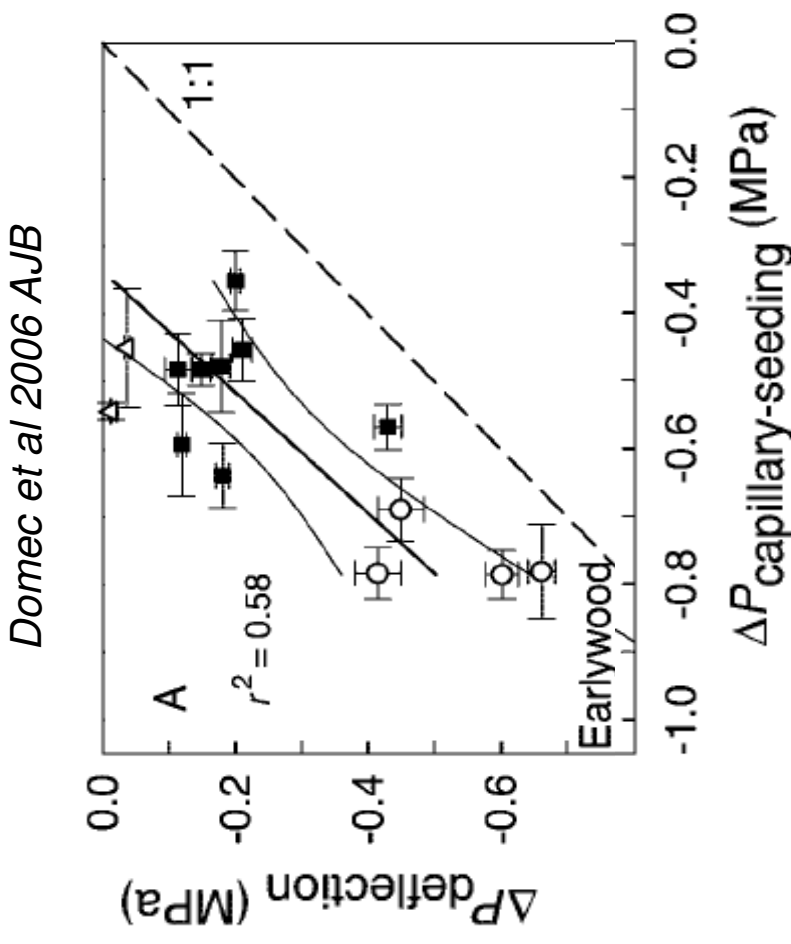


Hypothesis 4: margo capillary-seeding?



Margo seeding pressure is much less negative than P50:

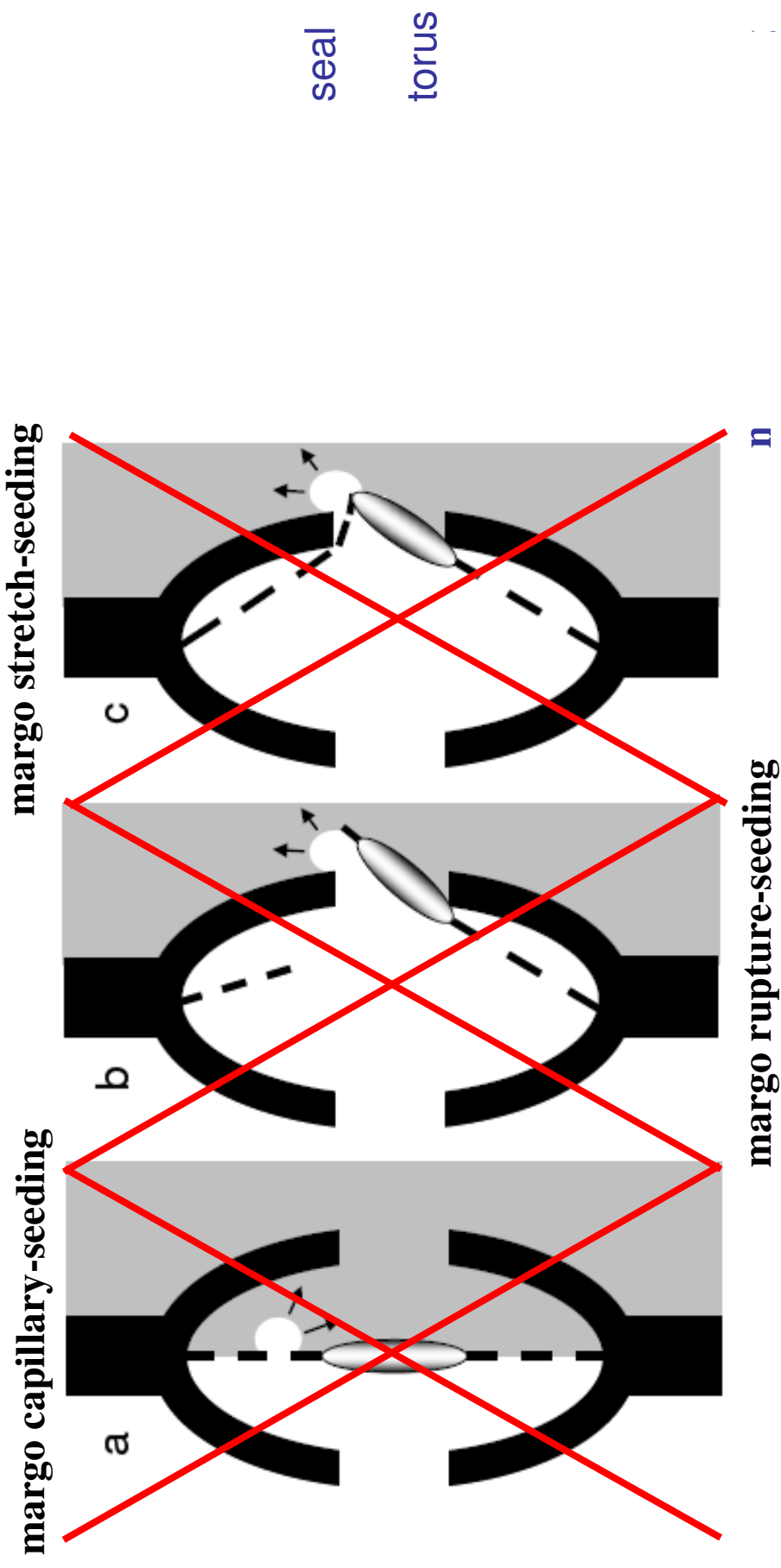
H4 rejected



Deflection pressure is much less negative than margo capillary seeding:

H4 rejected

New hypotheses



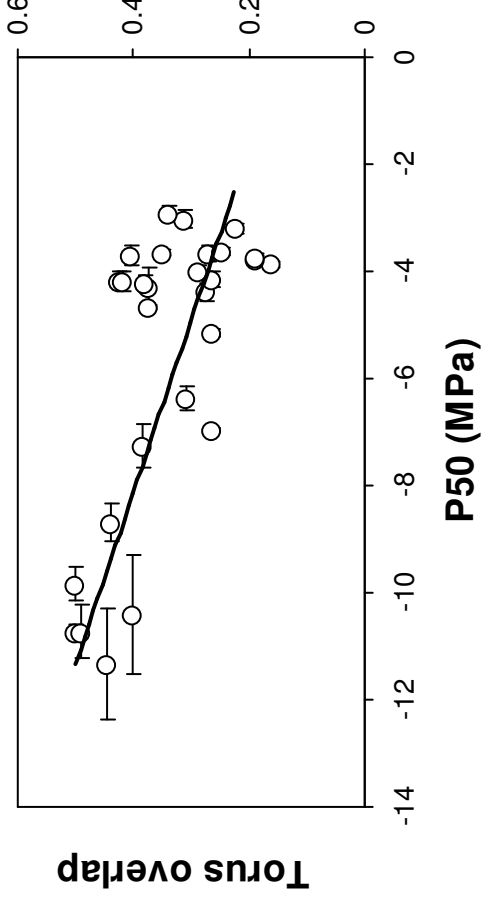
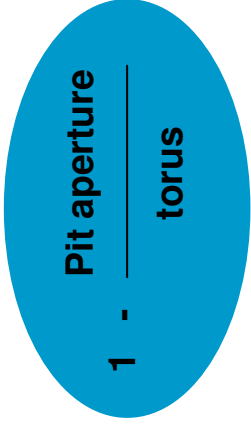
DP deflection < DP
margo capillary
seeding

no increase in
conductance above
the cavitation
threshold

Higher margo
flexibility = more
cavitation resistant

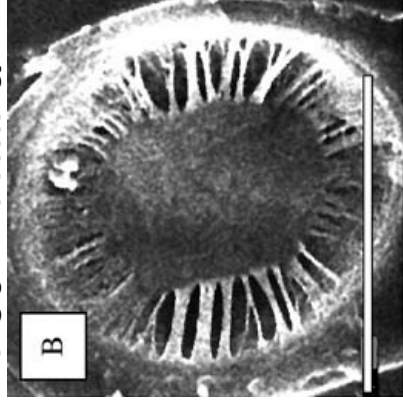
Hypothesis 5: seal capillary-seeding?

Torus overlap
 $O = 1 - (Da / Dt)$



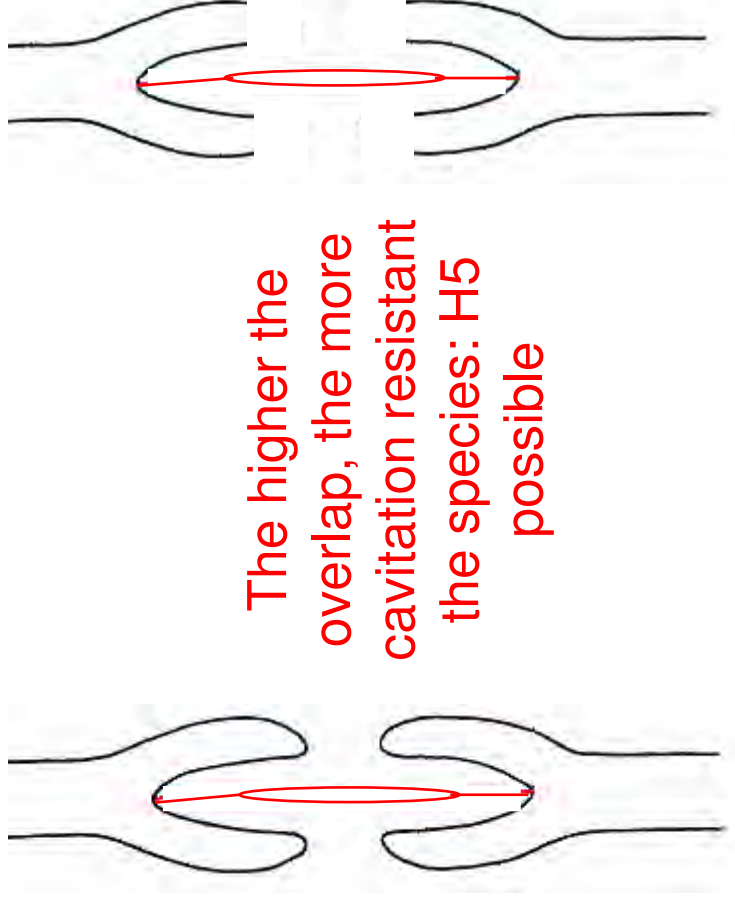
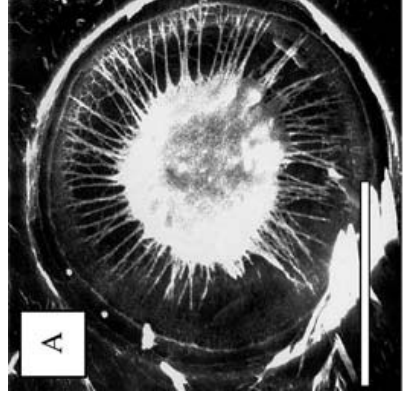
High values

(Cupressus glabra)
Resistant species
 P50= -11MPa

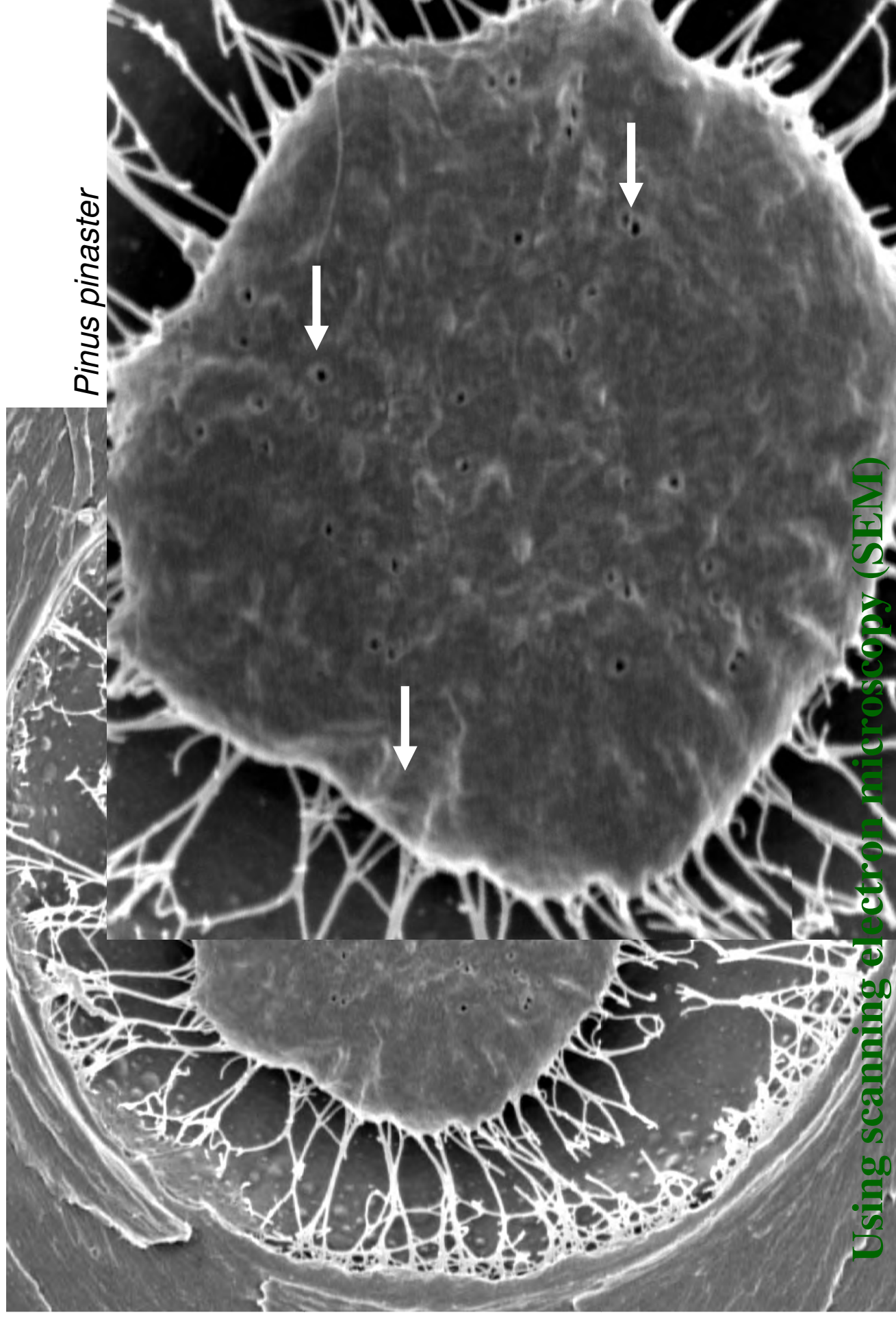


Low values

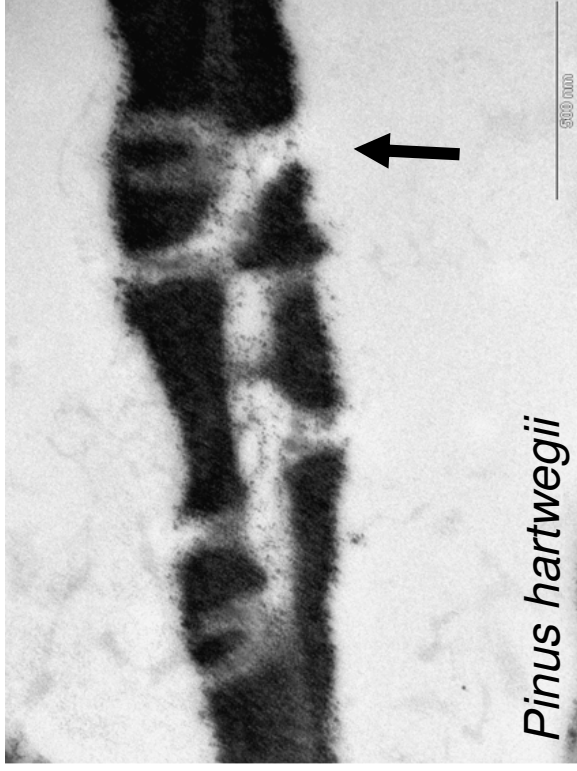
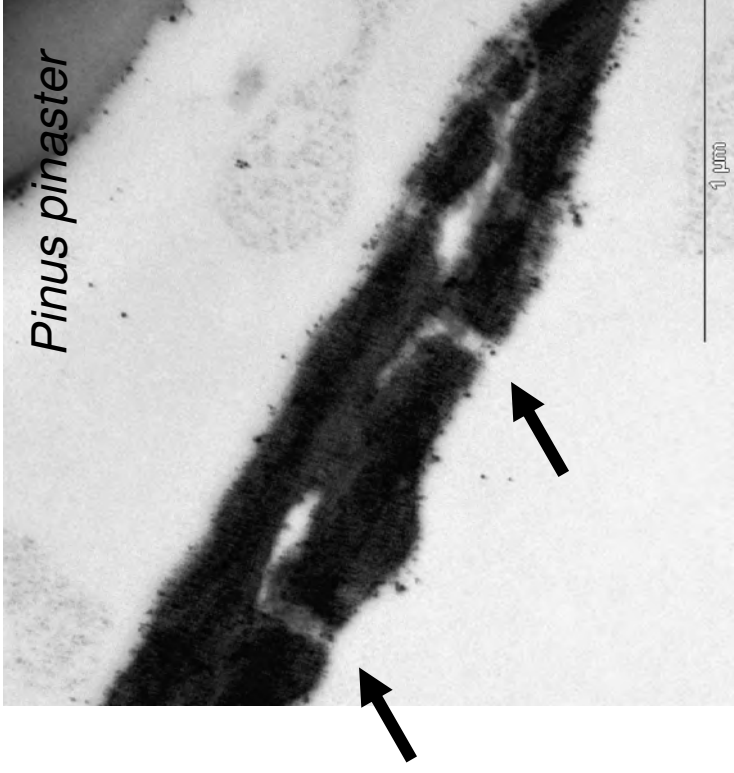
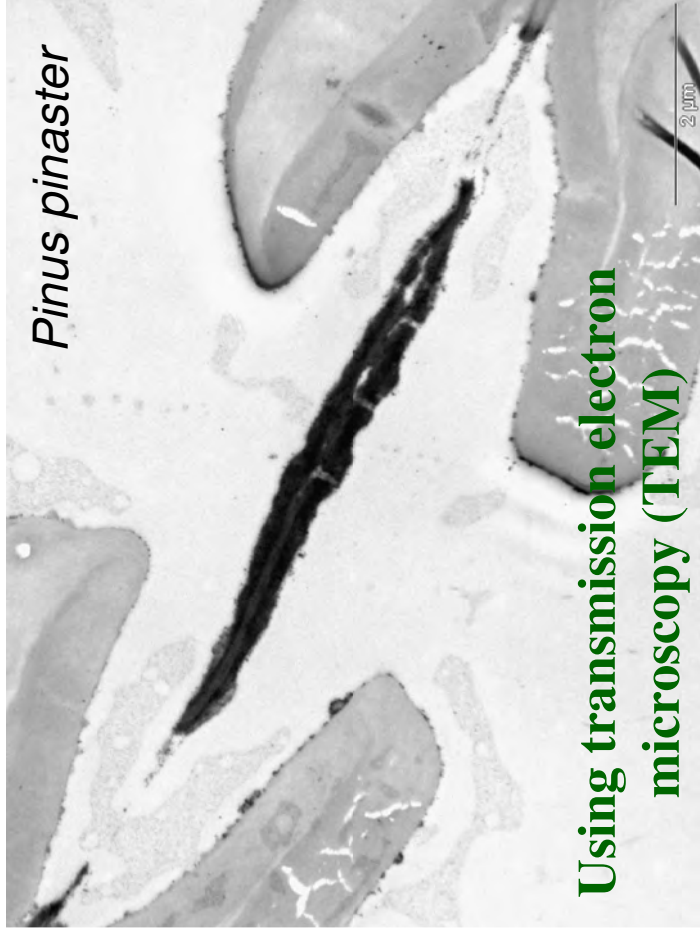
(Pinus uncinata)
Vulnerable species
 P50= -4MPa



Hypothesis 6: torus capillary-seeding?

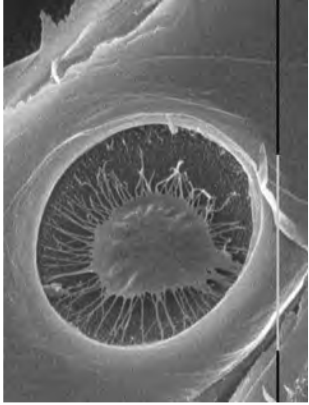


Hypothesis 6: torus capillary-seeding?



Diameter of torus pore
between 50 and 150 nm

H6 : likely hypothesis



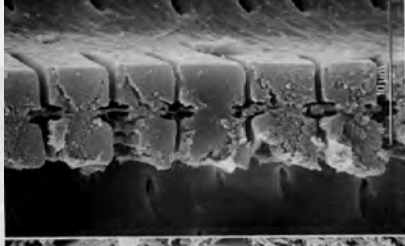
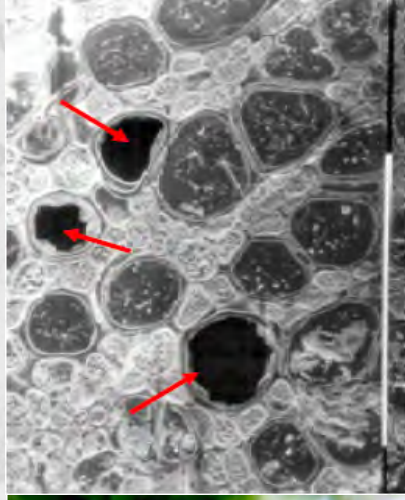
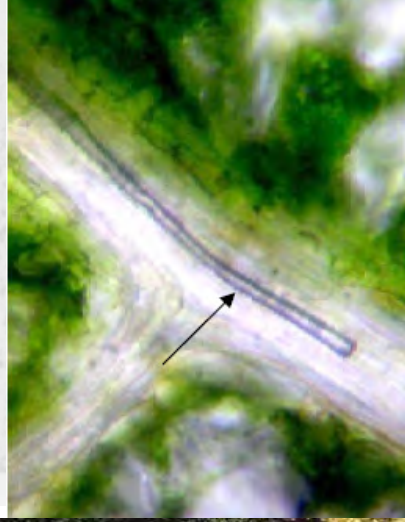
Travaux en cours

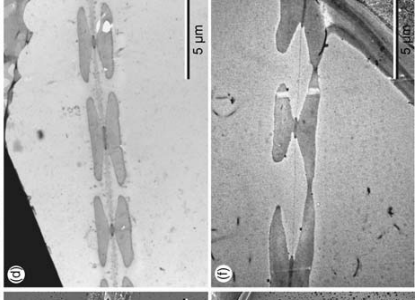
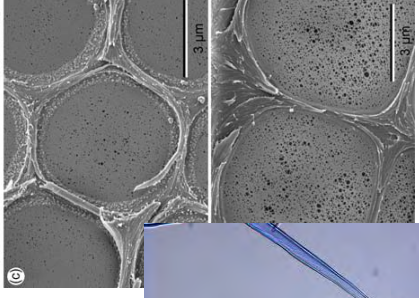
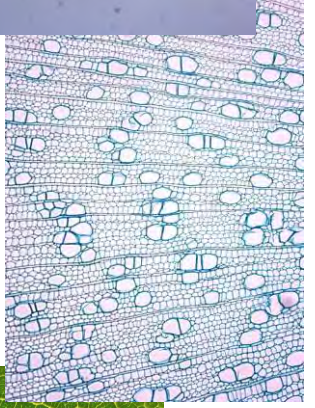
3 questions :

Les pores des torus sont-ils présents chez tous les pinophytes?

Le diamètre de ces pores est-il corrélé avec la résistance à la cavitation (P50)?

Le nombre de pores dans les torus est-il corrélé avec la résistance à la cavitation?





Variabilité et plasticité de la résistance à la cavitation chez le peuplier - Relation avec d'autres caractères physiologiques

Régis FICHOT, Têtè BARIGAH, Sylvain CHAMAILLARD, Didier LE THIEC, Françoise LAURANS, Hervé COCHARD & Franck BRIGNOLAS

1. INTRODUCTION

2. MATERIELS ET METHODES

3. RESULTATS ET DISCUSSIONS

4. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Au niveau inter-spécifique

La résistance à la cavitation varie grandement au niveau inter-spécifique...

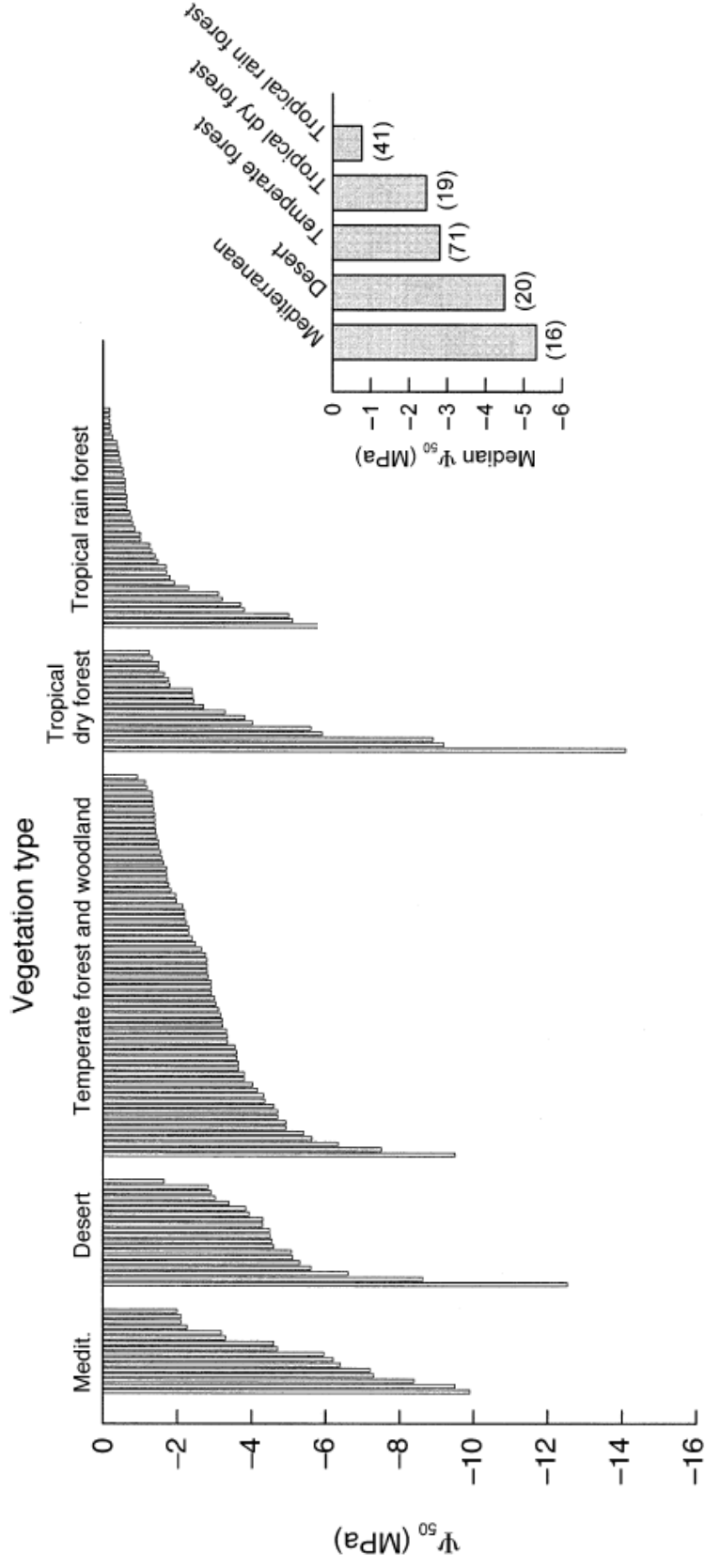


FIG. 1. The distribution of vulnerability to water-stress-induced cavitation (as determined by xylem tension at which 50% cavitation occurred [Ψ_{50}]) for the species used in this database, ranked by magnitude within five vegetation types. The median Ψ_{50} for each vegetation type, along with the sample size for that group, is shown in the inset.

1. INTRODUCTION

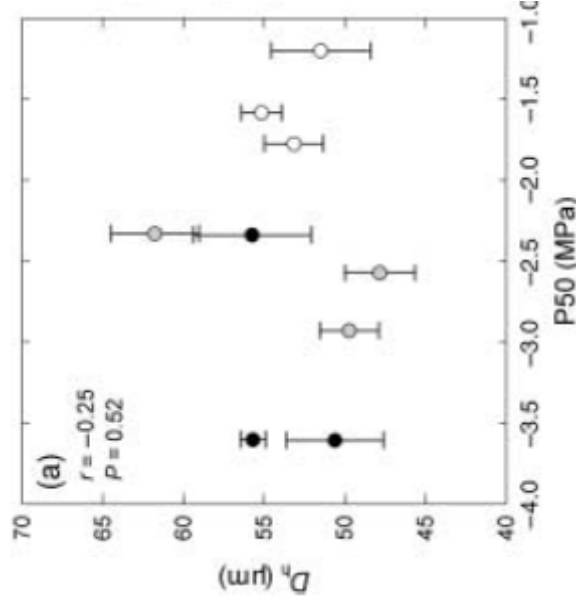
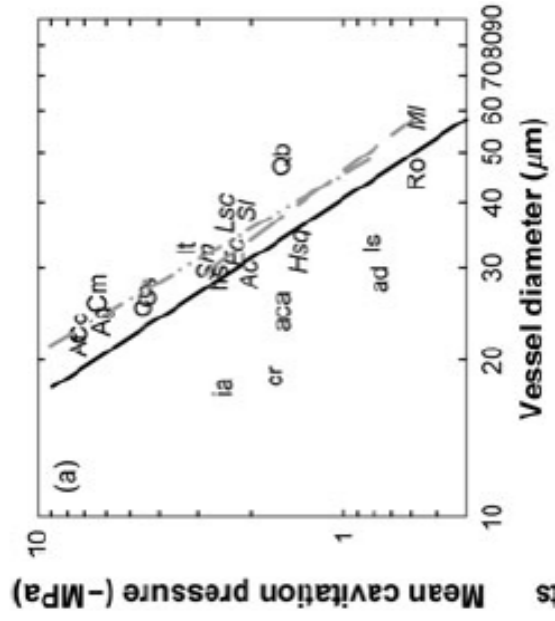
2. MATERIELS ET METHODES

3. RESULTATS ET DISCUSSIONS

4. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Au niveau inter-spécifique

Au niveau structure : efficacité de conduction et résistance à la cavitation...
un compromis pas toujours évident...



Hacke et al. (2009) *Plant Cell Environ*

Choat et al. (2007) *New Phytol*

1. INTRODUCTION

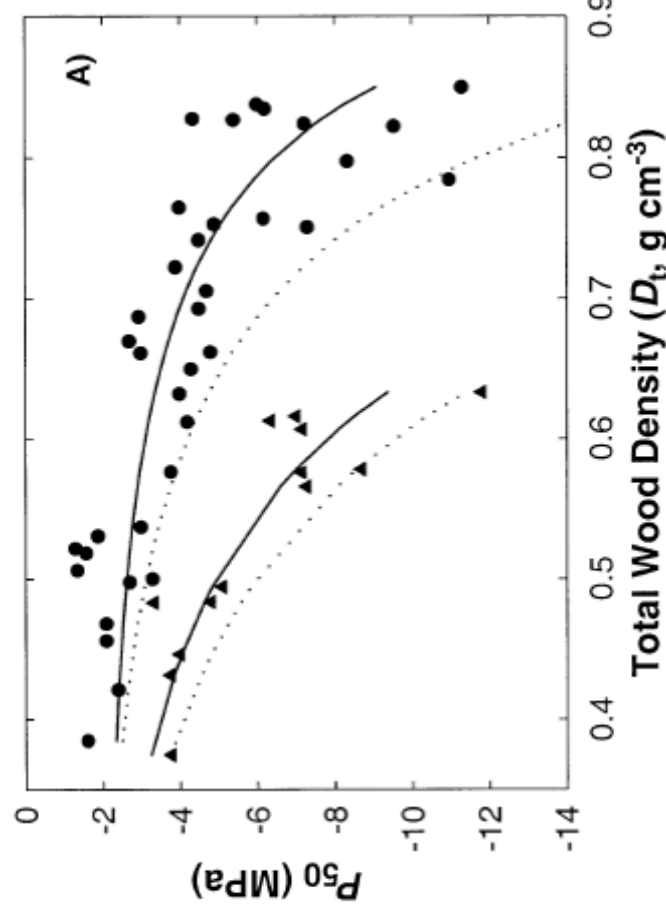
2. MATERIELS ET METHODES

3. RESULTATS ET DISCUSSIONS

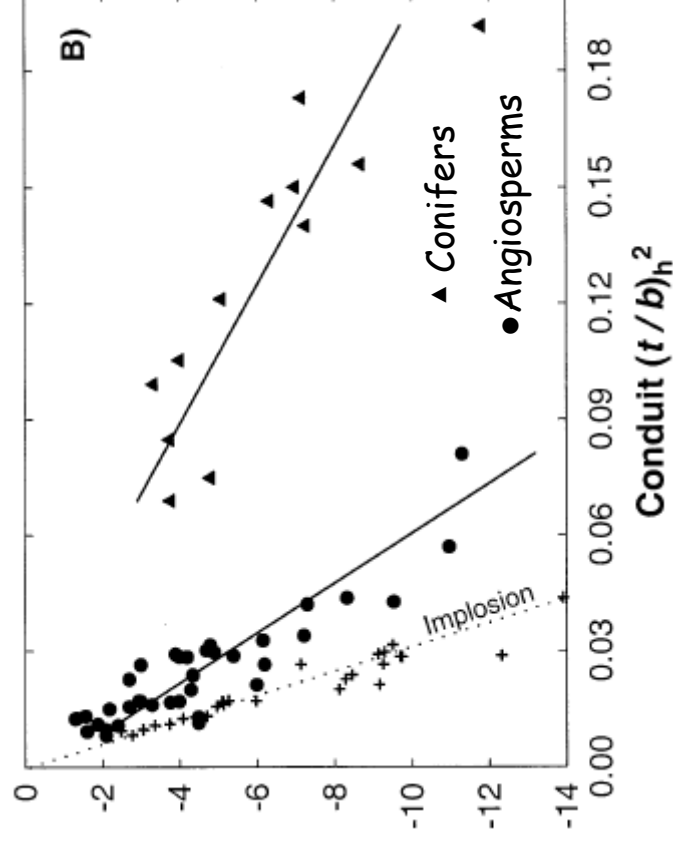
4. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Au niveau inter-spécifique

Au niveau structure : une forte résistance à la cavitation est associée à un plus fort renforcement mécanique (densité et résistance au collapsus)



Au niveau tissulaire



Au niveau cellulaire

Hacke et al. (2001) *Oecologia*

1. INTRODUCTION

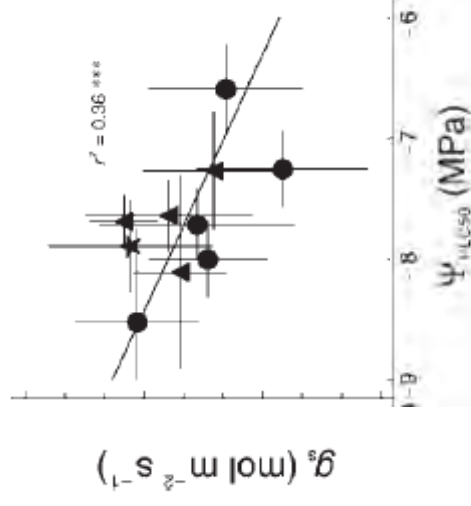
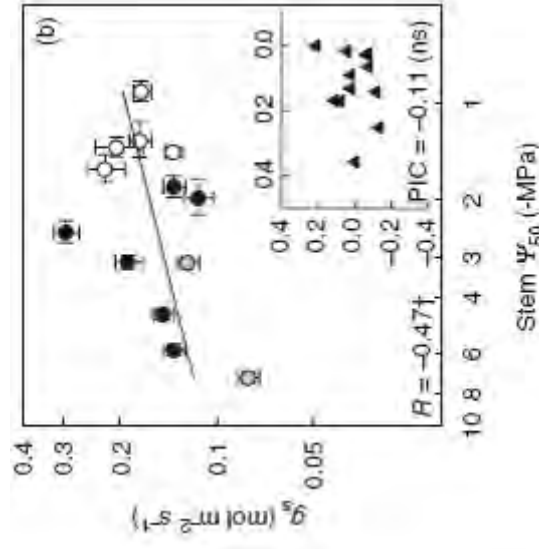
2. MATERIELS ET METHODES

3. RESULTATS ET DISCUSSIONS

4. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Au niveau inter-spécifique

Au niveau foliaire... pas de relation claire



Maherali et al. (2006) *Plant Cell Environ*

14 temperate angiosp. sp

Ducrey et al. (2008) *Tree Physiol*

Cedar sp.

1. INTRODUCTION

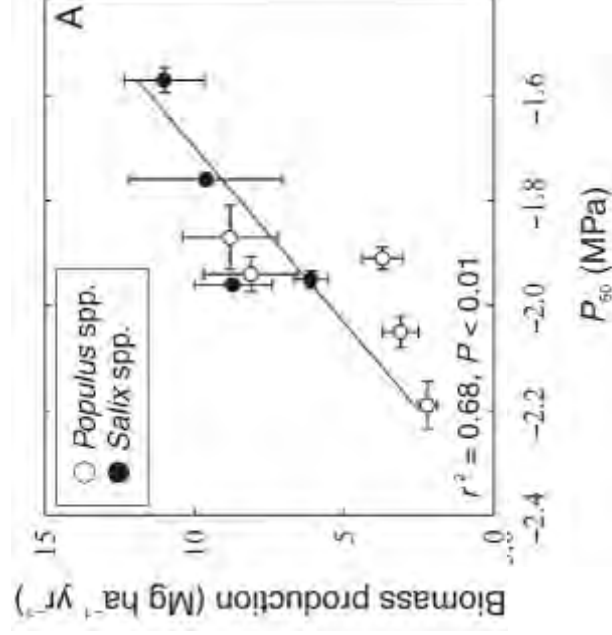
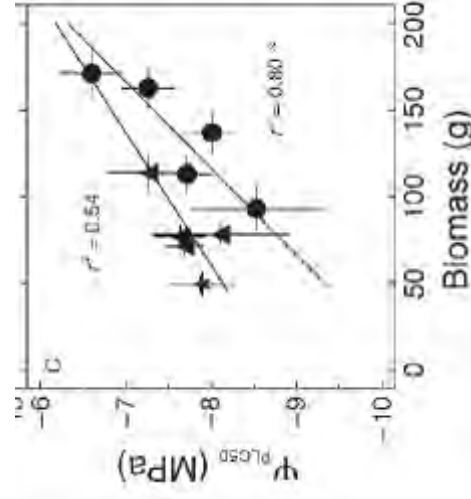
2. MATERIELS ET METHODES

3. RESULTATS ET DISCUSSIONS

4. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Au niveau inter-spécifique

Au niveau plante entière... Une forte résistance à la cavitation est généralement associée à un faible potentiel de croissance



Ducrey et al. (2008) *Tree Physiol*

Cedar sp.

Cochard et al. (2007) *Tree Physiol*

Poplar and willow sp.

1. INTRODUCTION

2. MATÉRIELS ET MÉTHODES

3. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

4. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

➤ **Problématique et objectifs**

- **Tester si les relations observées au niveau inter-spécifique sont également applicables au niveau intra-spécifique**

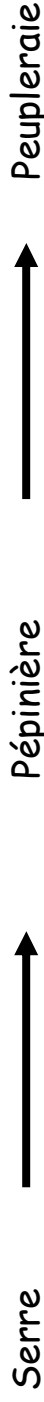
=> Peuplier / 2 conditions d'irrigation contrastées

1. **Variabilité et plasticité**
2. **Relation avec les propriétés structurales du xylème**
3. **Relation avec le fonctionnement foliaire**
4. **Relation avec le fonctionnement plante entière (potentiel de croissance)**

- 1. INTRODUCTION
- 2. MATERIELS ET METHODES
- 3. RESULTATS ET DISCUSSIONS
- 4. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

➤ **Choix et pertinence du modèle biologique**

Populus deltoides x Populus nigra

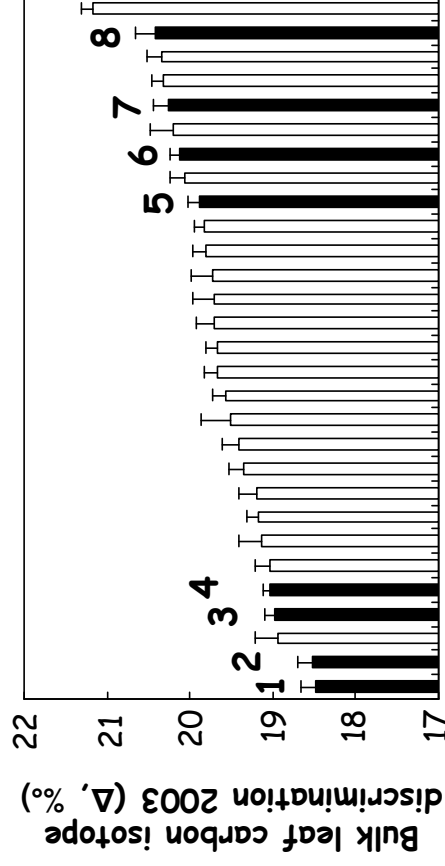


Croissance



Efficiencce d'utilisation de l'eau
(Δ , WUEi)

Tolérance à la sécheresse
(modérée)



Marron et al., *Tree Physiol* (2005)
 Monclus et al., *New Phytol* (2005)
 Monclus et al., *New Phytol* (2006)
 Bonhomme et al., *Ann For Sci* (2008)
 Fichot et al., *Tree Physiol* (2009)

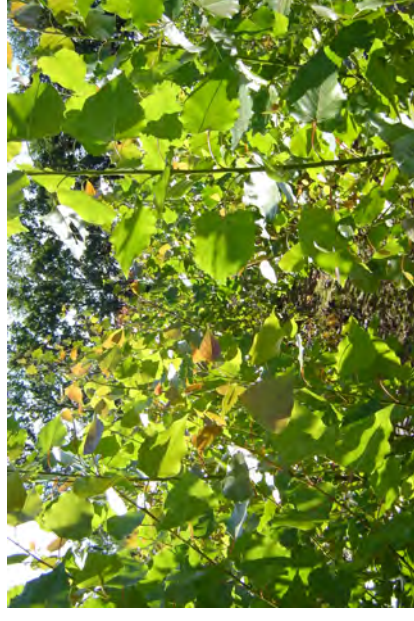
1. INTRODUCTION

2. MATÉRIELS ET MÉTHODES

3. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

4. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

➤ **Dispositif expérimental**



Pépinière (Station expérimentale INRA Orléans)

Installation 2006

Conduite culturale apparentée TTCR (densité de plant, rejets...)



15 m



1. INTRODUCTION

2. MATÉRIELS ET MÉTHODES

3. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

4. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

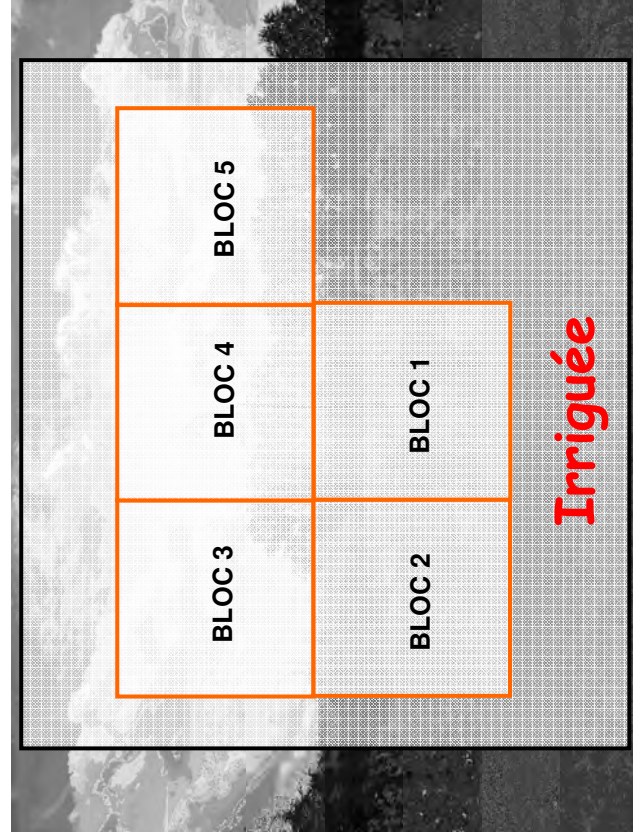
➤ **Dispositif expérimental**



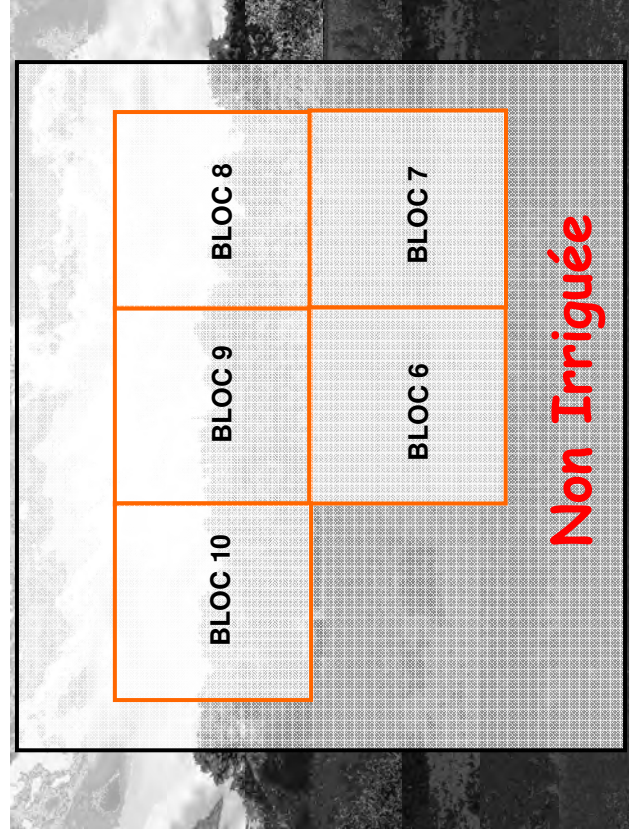
Pépinière (Station expérimentale INRA Orléans)

Installation 2006

Conduite culturale apparentée TTCR (densité de plant, rejets...)



15 m



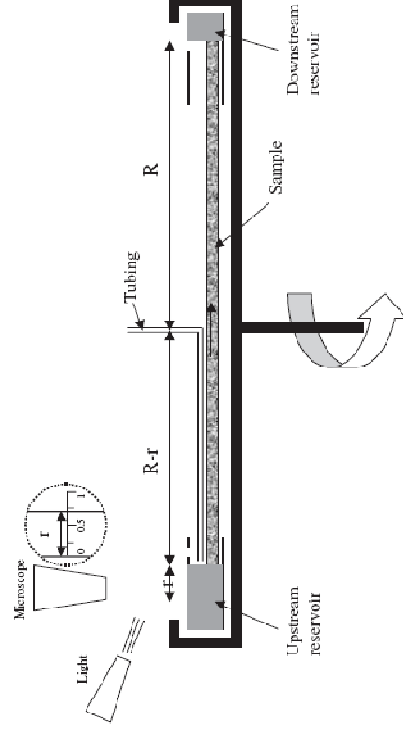
1. INTRODUCTION

2. MATERIELS ET METHODES

3. RESULTATS ET DISCUSSIONS

4. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

➤ Les traits mesurés



Vulnérabilité à la cavitation : Cavitron®

(Ψ_{50} , Ψ_{12} , Ψ_{88} , slope)

Xylème

✓ Efficacité de conduction :

$$d, d_r, A_v, K_{S(t)}$$

✓ Renforcement pariétal :

$$D, (t/b)_h^2, t_h$$

Feuille

✓ Structure :

Surface massique (SLA),
teneurs en N et C

✓ Fonction :

Echanges de gaz,
discrimination isotopique vis-
à-vis du ^{13}C

Plante entière

✓ Potentiel de croissance du
brin dominant, biomasse finale
du brin dominant, biomasse
finale sur pied

✓ Relations hydriques :

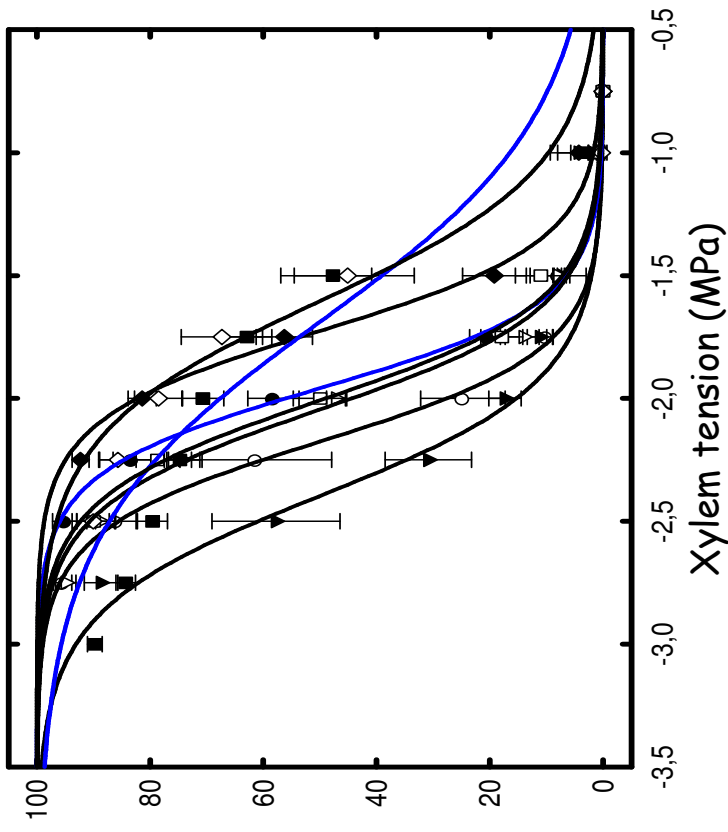
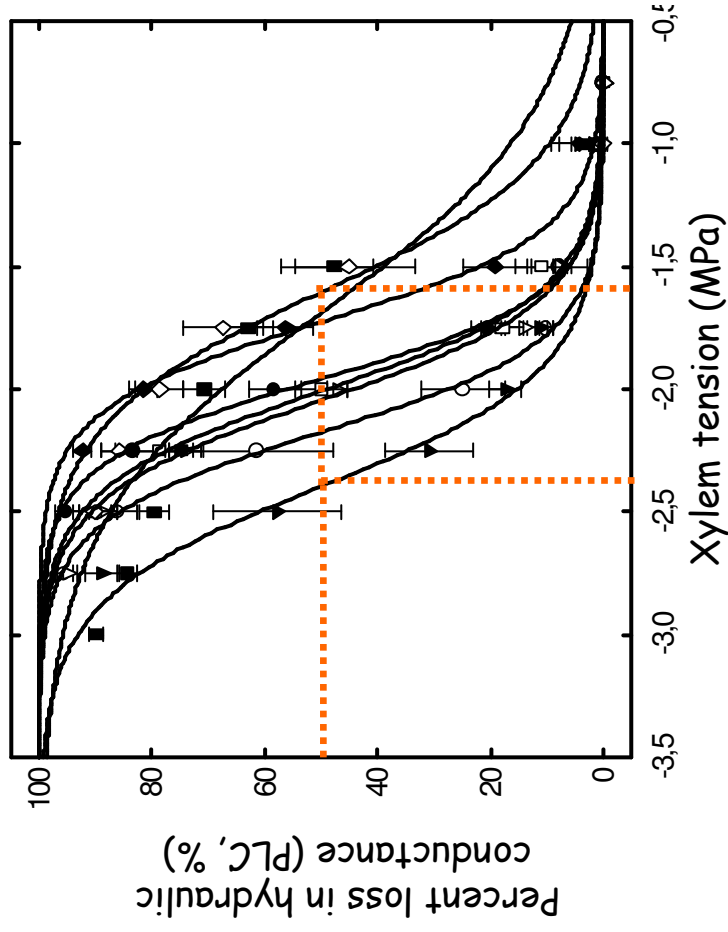
Potentiel hydrique minimum du
xylème ($\Psi_{x\min}$)

- 1. INTRODUCTION
- 2. MATERIELS ET METHODES
- 3. RESULTATS ET DISCUSSIONS
- 4. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

➤ **Variabilité génotypique et plasticité en réponse à la sécheresse**

Ψ_{50} (MPa)

Slope (% MPa⁻¹)



0.80MPa

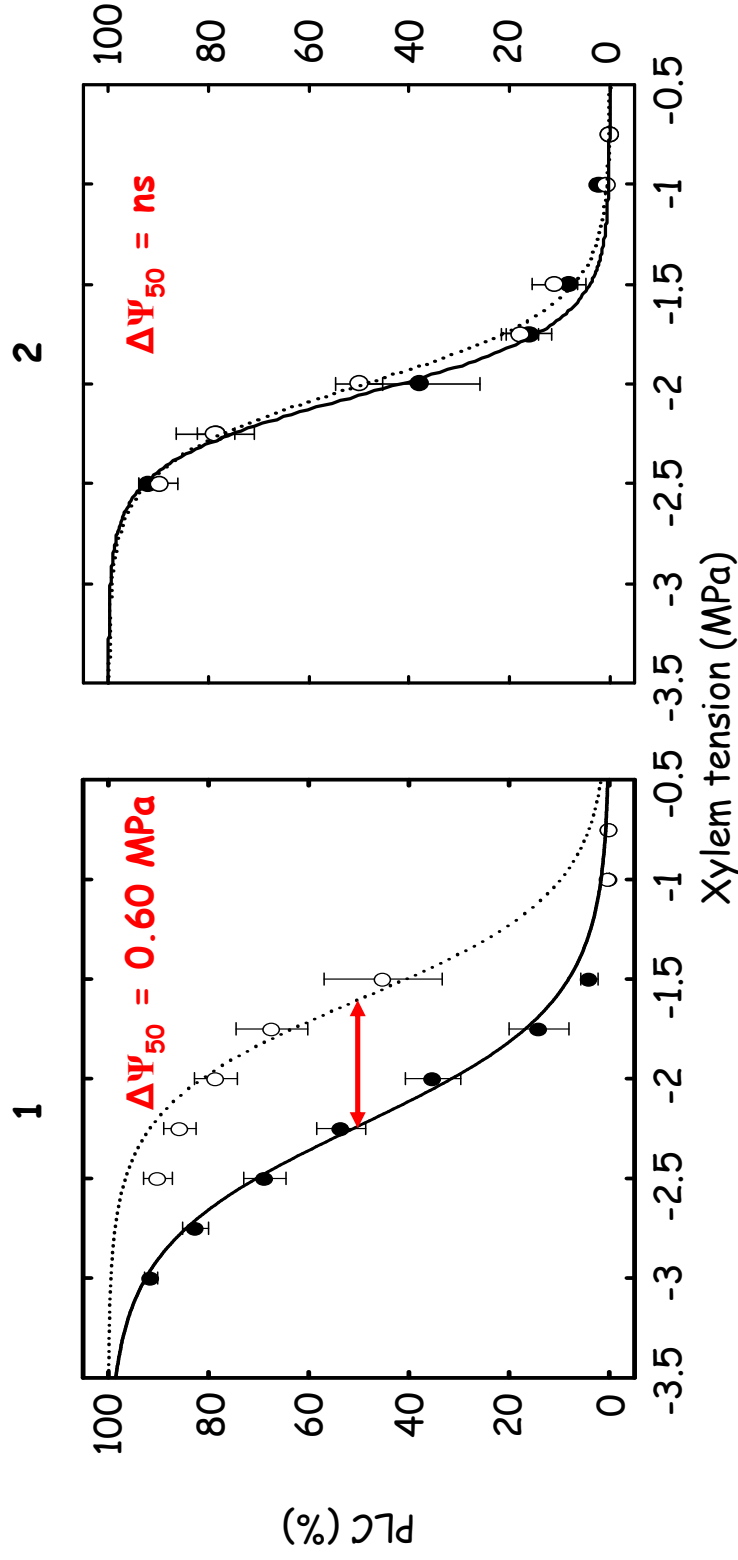
$$[Y_{ij} = \mu + G_i + \epsilon_{ij}] \quad G : F = 28, p < 0.001$$

$$[Y_{ij} = \mu + G_i + \epsilon_{ij}] \quad G : F = 2, p = 0.045$$

1. INTRODUCTION
2. MATERIELS ET METHODES
3. RESULTATS ET DISCUSSIONS
4. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

➤ Variabilité génotypique et plasticité en réponse à la sécheresse

Le niveau de plasticité phénotypique est génotype dépendant



$$[Y_{ijk} = \mu + G_i + T_j + (G_i \times T_j) + \varepsilon_{ijk}]$$

Ψ_{50} : (G x T)***; Gns; Tns

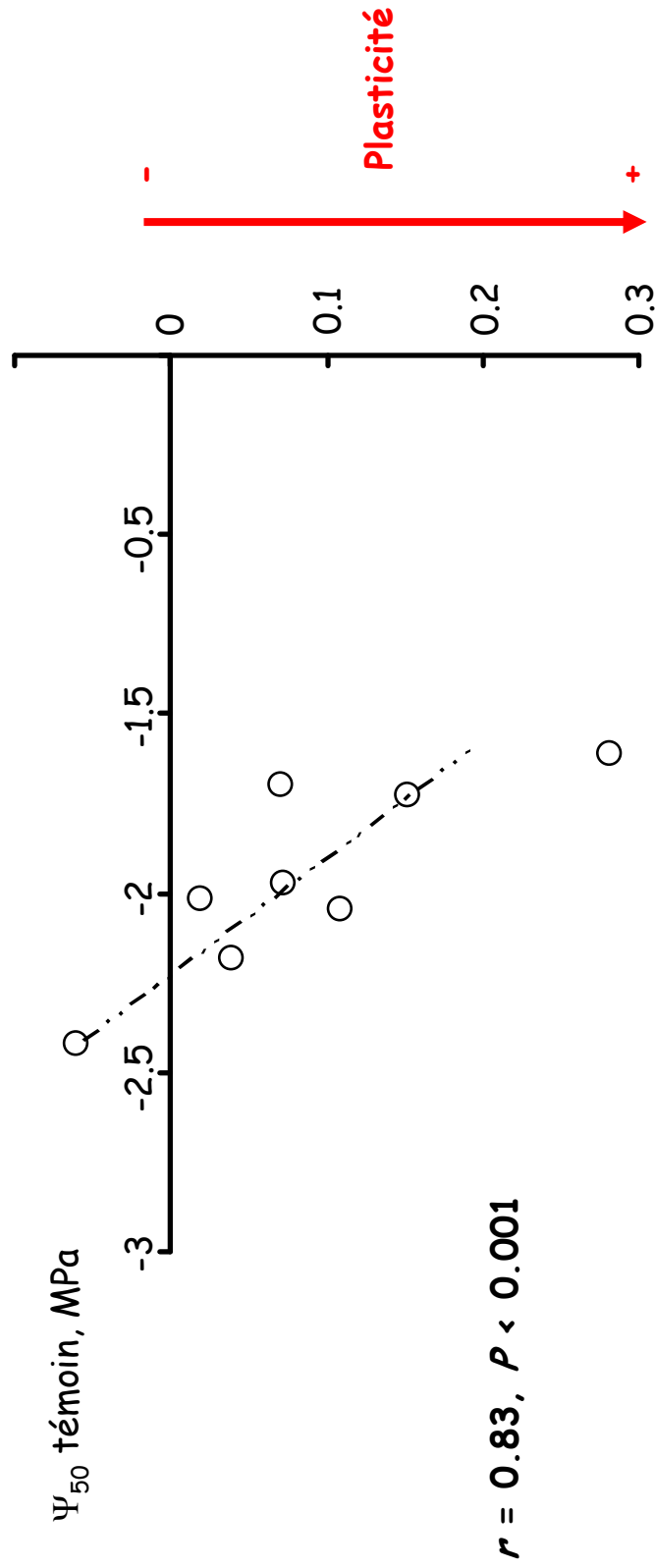
Slope : (G x T)ns; G**; Tns

- 1. INTRODUCTION
- 2. MATERIELS ET METHODES
- 3. RESULTATS ET DISCUSSIONS
- 4. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

➤ Variabilité génotypique et plasticité en réponse à la sécheresse

Le niveau de plasticité phénotypique semble dépendre du niveau de résistance intrinsèque en témoin

Indice de plasticité Ψ_{50}
 (Max - Min) / Max
Valladares et al. (2000)



1. INTRODUCTION

2. MATERIELS ET METHODES

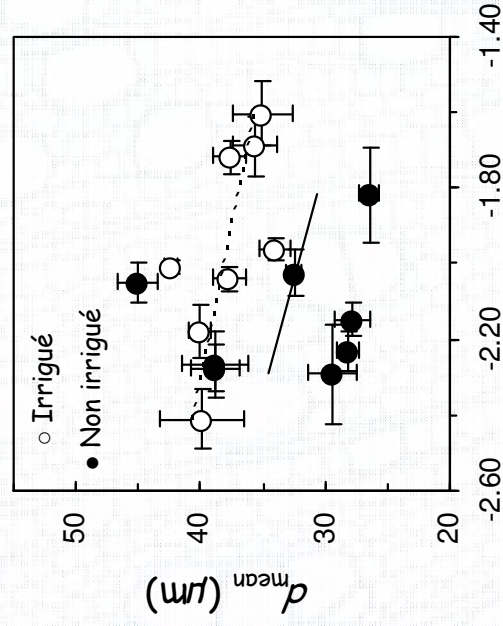
3. RESULTATS ET DISCUSSIONS

4. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

➤ Résistance à la cavitation et propriétés structurales du xylème

2.1. Traits associés à l'efficacité de la conduction de la sève brute

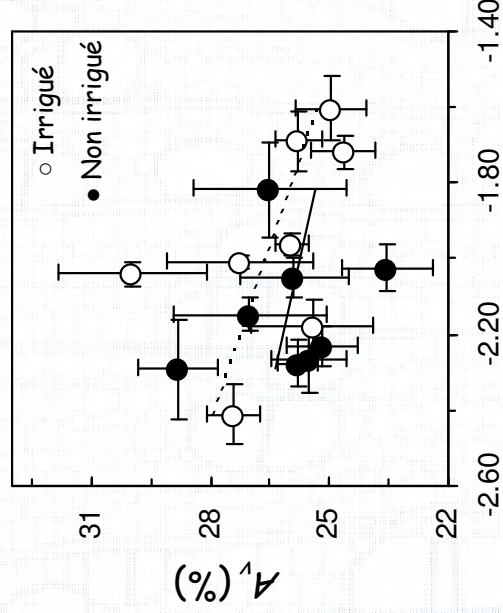
A. Diamètre moyen vaisseaux



$$r_i = -0.60ns$$

$$r_{ni} = -0.20ns$$

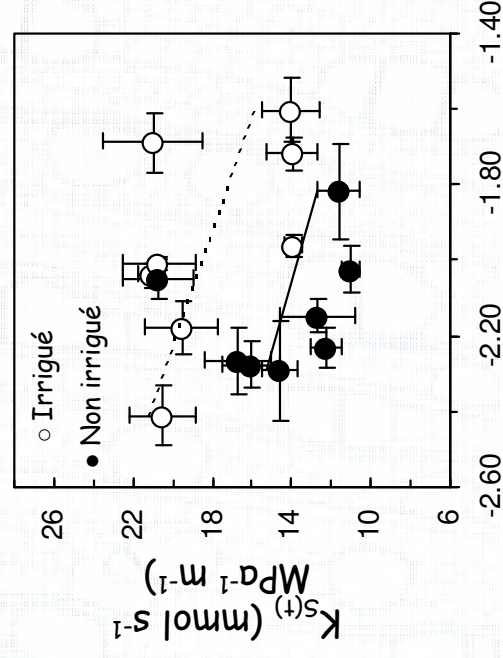
B. % surface de conduction



$$r_i = -0.51ns$$

$$r_{ni} = -0.23ns$$

C. Conductivité spécifique théorique



$$r_i = -0.52ns$$

$$r_{ni} = -0.28ns$$

=> Pas de relation claire entre efficacité de conduction et résistance à la cavitation

1. INTRODUCTION

2. MATERIELS ET METHODES

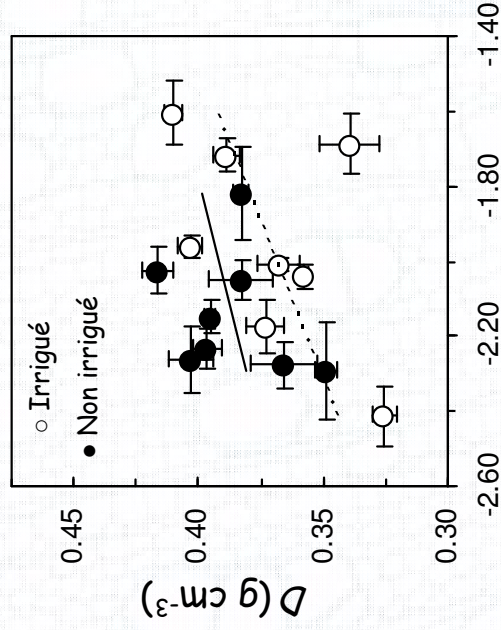
3. RESULTATS ET DISCUSSIONS

4. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

➤ Résistance à la cavitation et propriétés structurales du xylème

2.2. Traits associés au renforcement pariétal

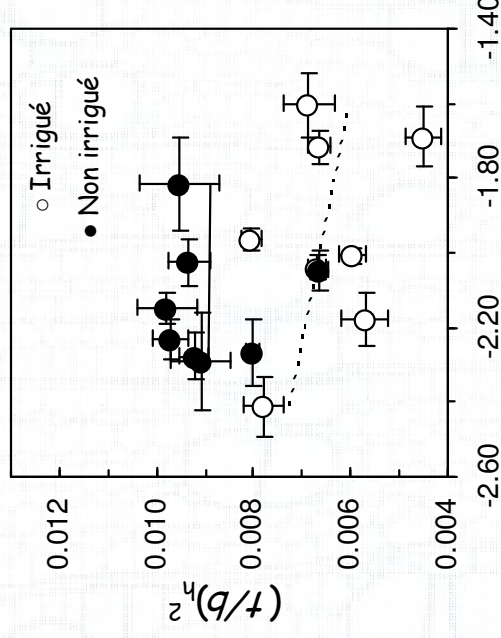
A. Densité du bois



$r_i = 0.55ns$

$r_{ni} = 0.30ns$

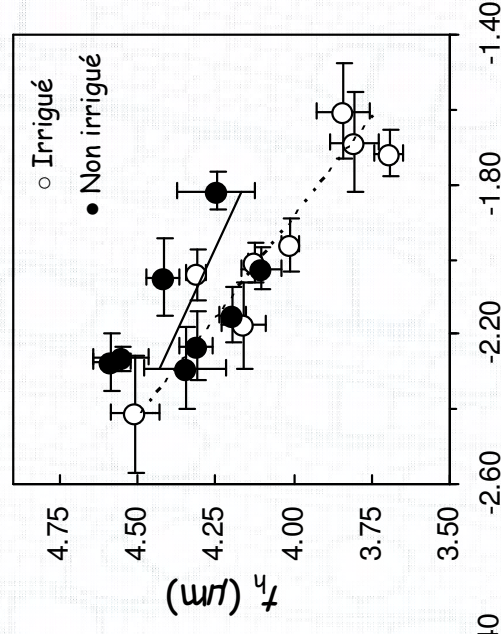
B. Résistance au collapsus



$r_i = -0.36ns$

$r_{ni} = -0.01ns$

C. Epaisseur de la double paroi vaisseau - vaisseau



$r_i = -0.92***$

$r_{ni} = -0.56ns$

=> Pas de relation claire avec densité du bois et résistance au collapsus

=> Relation avec épaisseur double paroi vaisseau - vaisseau

1. INTRODUCTION

2. MATERIELS ET METHODES

3. RESULTATS ET DISCUSSIONS

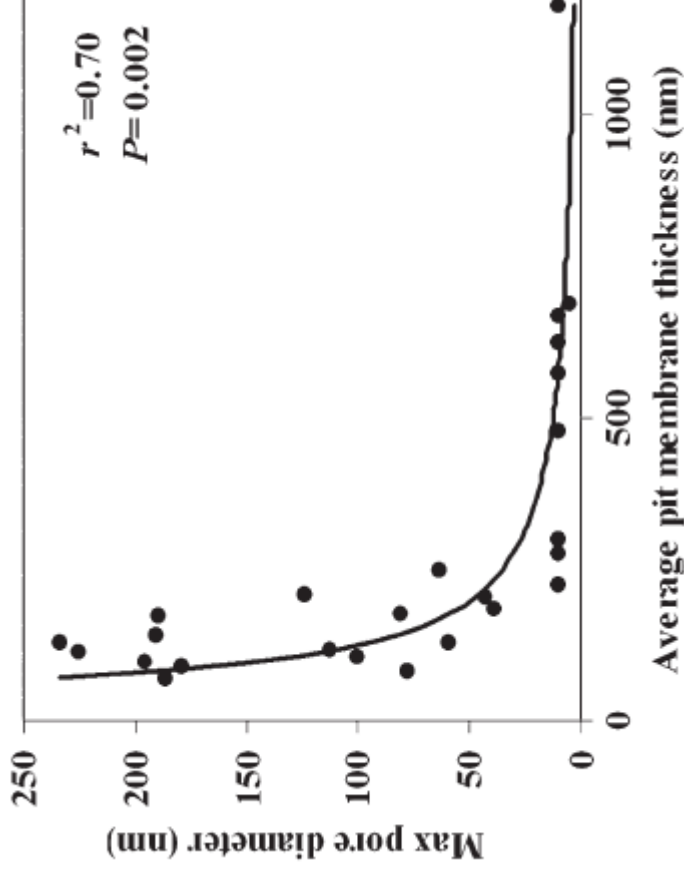
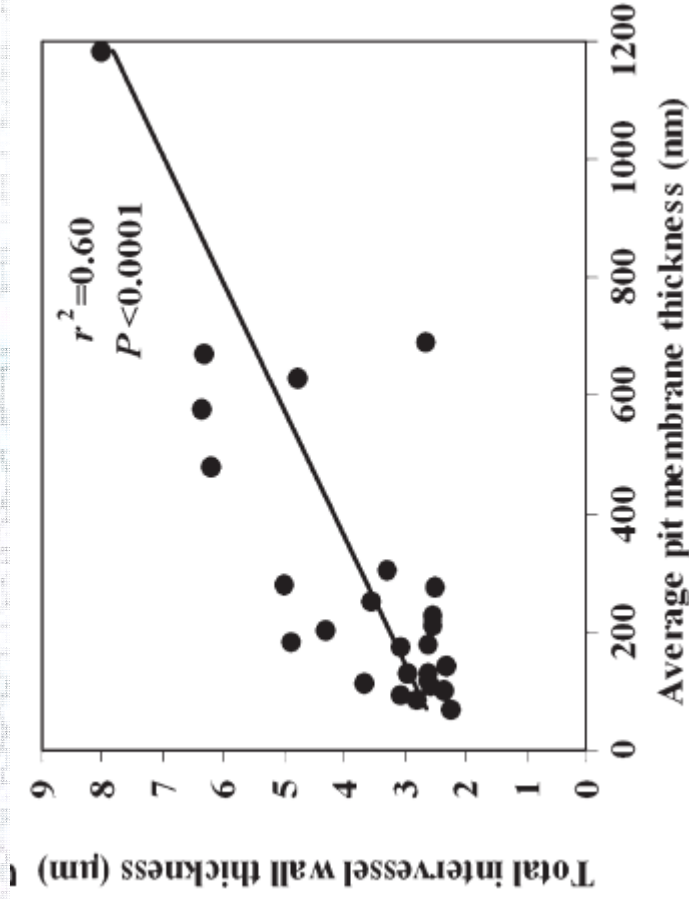
4. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

➤ Résistance à la cavitation et propriétés structurales du xylème

2.2. Traits associés au renforcement pariétal

Une explication possible pour la relation entre épaisseur double paroi vaisseau - vaisseau et Ψ_{50} ?

Jansen et al. (2009), *Am J Bot*



=> Double paroi épaisse => Paroi ponctuation épaisse => Diamètre max pore faible
=> Résistance cavitation forte

1. INTRODUCTION

2. MATERIELS ET METHODES

3. RESULTATS ET DISCUSSIONS

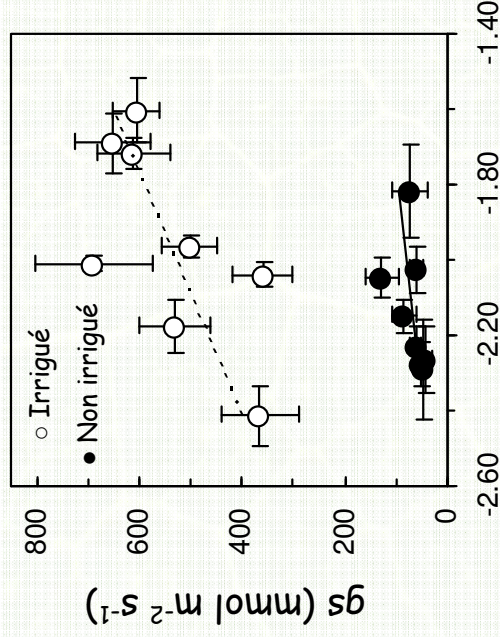
4. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

➤ Résistance à la cavitation et fonctionnement foliaire

t - Instantané

t - Intégré

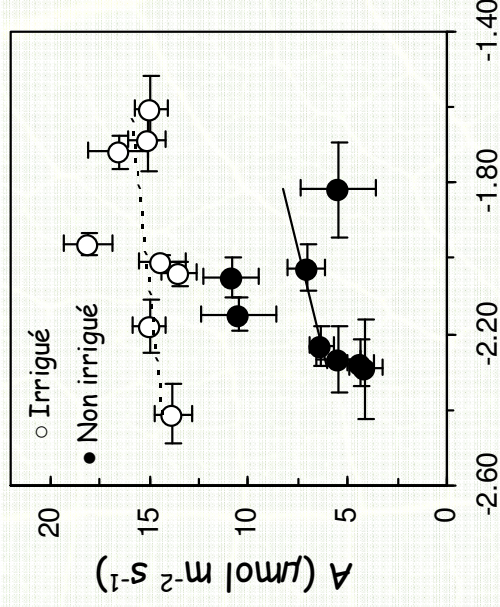
A. Conductance stomatique



$r_i = 0.67^{0.07}$

$r_{ni} = 0.48ns$

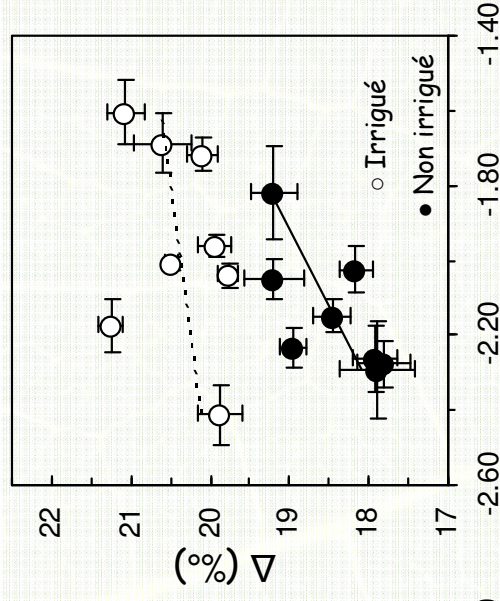
B. Assimilation nette



$r_i = 0.36ns$

$r_{ni} = 0.30ns$

C. Discrimination isotopique vis-à-vis du ¹³C



$r_i = 0.30ns$

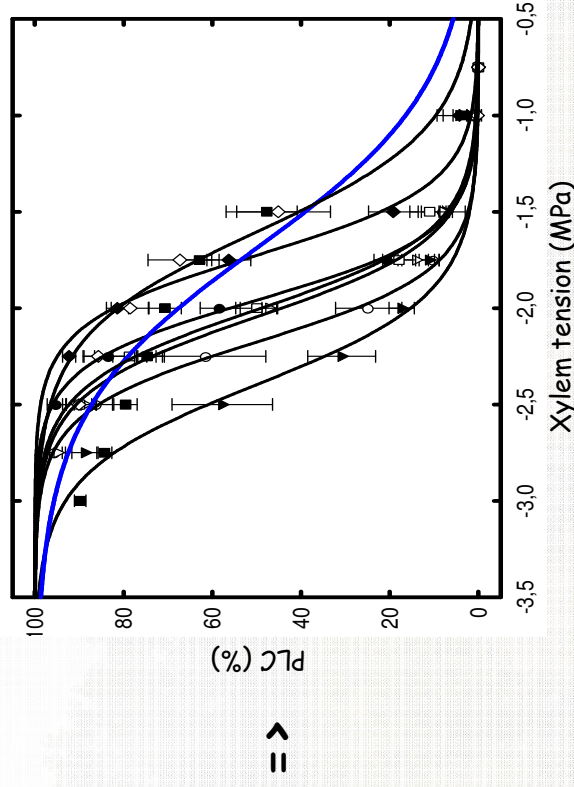
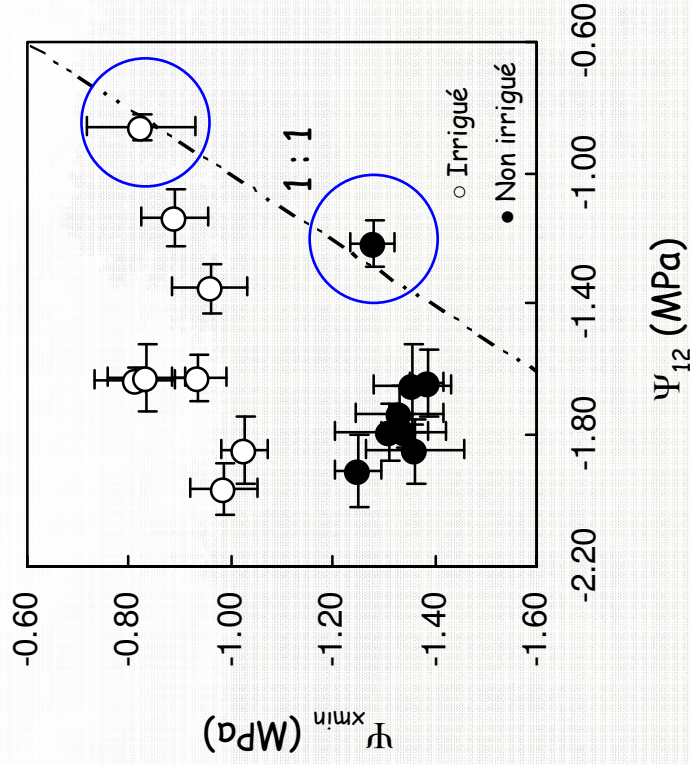
$r_{ni} = 0.68^{0.06}$

1. INTRODUCTION
2. MATERIELS ET METHODES
3. RESULTATS ET DISCUSSIONS
4. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

➤ 4. Résistance à la cavitation et fonctionnement plante entière

Potentiel du xylème minimum et marges de sécurité

$$(\Psi_{12} - \Psi_{x\min})$$



=>

=> Ψ_{12} varie davantage que $\Psi_{x\min}$ => Marges de sécurité variable

1. INTRODUCTION

2. MATERIELS ET METHODES

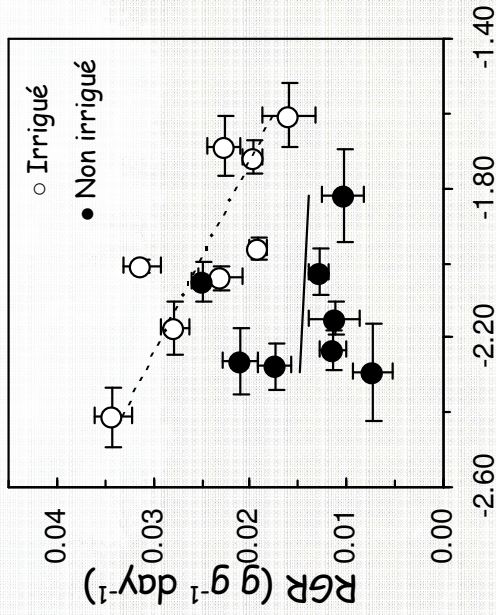
3. RESULTATS ET DISCUSSIONS

4. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

➤ 4. Résistance à la cavitation et fonctionnement plante entière

Résistance à la cavitation et croissance

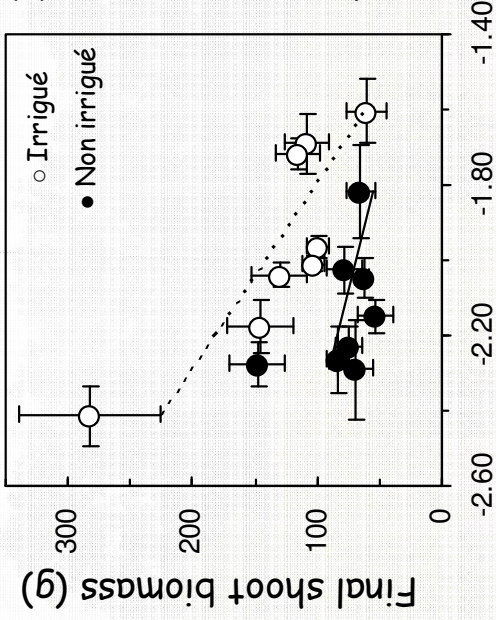
A. RGR du brin dominant



$r_i = -0.82^{**}$

$r_{ni} = -0.06ns$

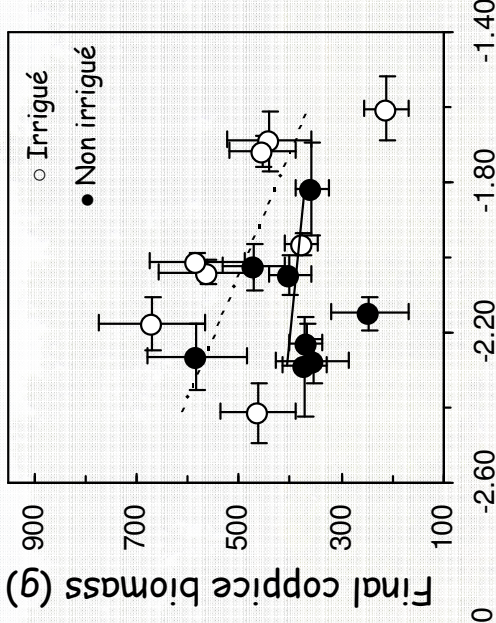
B. Biomasse finale du brin dominant



$r_i = -0.84^{**}$

$r_{ni} = -0.41ns$

C. Biomasse totale sur pied



$r_i = -0.59ns$

$r_{ni} = -0.12ns$

=> Relation positive Ψ_{50} - croissance en condition optimale

=> La relation Ψ_{50} - croissance dépend de l'environnement

1. INTRODUCTION

2. MATERIELS ET METHODES

3. RESULTATS ET DISCUSSIONS

4. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

➤ **Les relations entre résistance à la cavitation et autres traits physiologiques observées au niveau inter-spécifique ne sont pas toujours applicables au niveau intra-spécifique**

➤ **Applications en terme d'amélioration ?**

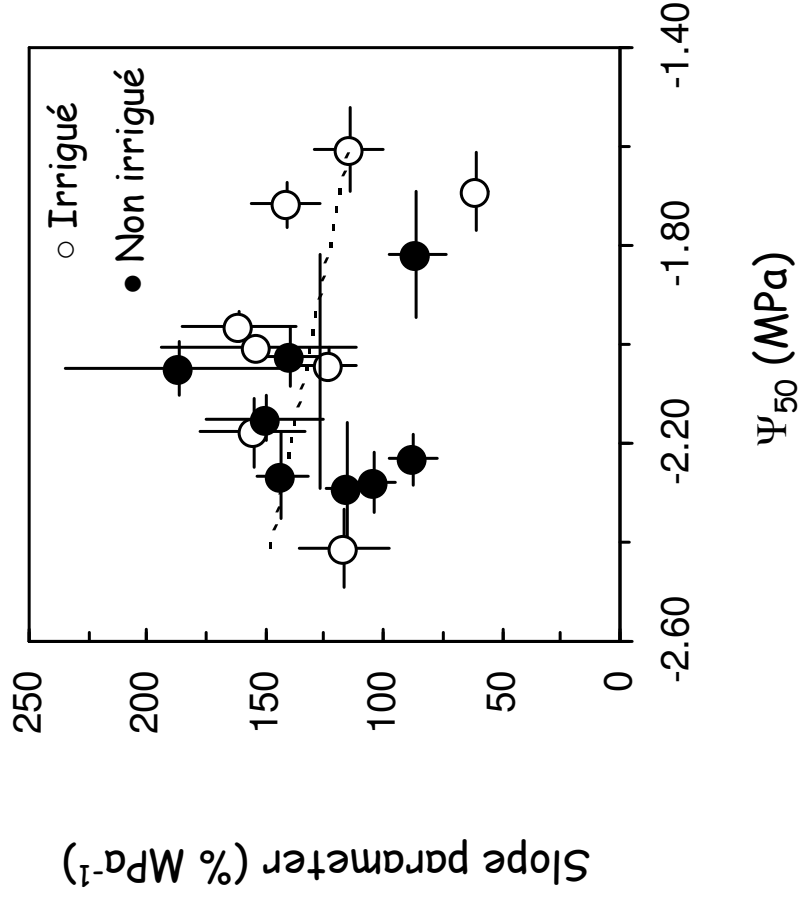
➤ **Perspectives : étendre l'étude dans des conditions de sécheresse plus drastiques**

MERCI

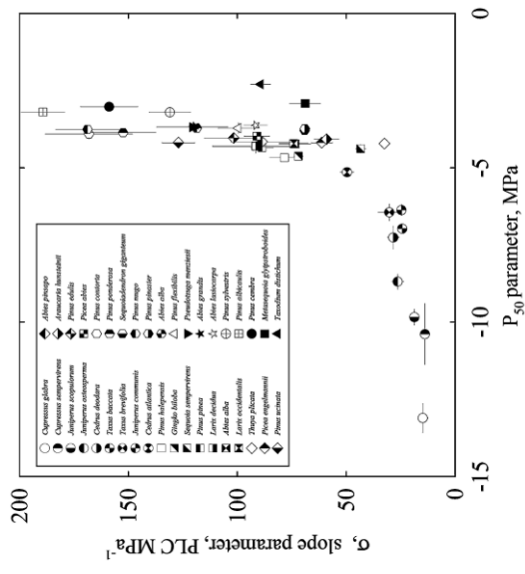
- 1. INTRODUCTION
- 2. MATERIELS ET METHODES
- 3. RESULTATS ET DISCUSSIONS
- 4. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

➤ Variabilité génotypique et plasticité en réponse à la sécheresse

Relations entre Ψ_{50} et slope



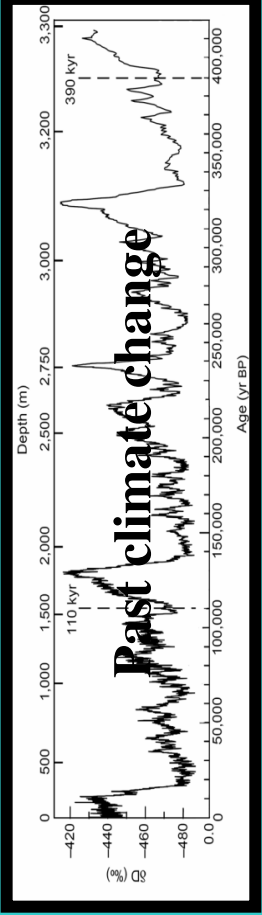
$r_1 = -0.35ns$
 $r_{n1} = -0.01ns$



Heritability and selection pattern on drought adaptation characters in *Pinus pinaster*

JB. Lamy, R. Burrell , L. Bouffier, E. Eveno, P.Gere-Granier C.Plomion,
S. Delzon and H. Cochard.

Introduction



How forest tree populations were able to keep pace with post glacial warning ?



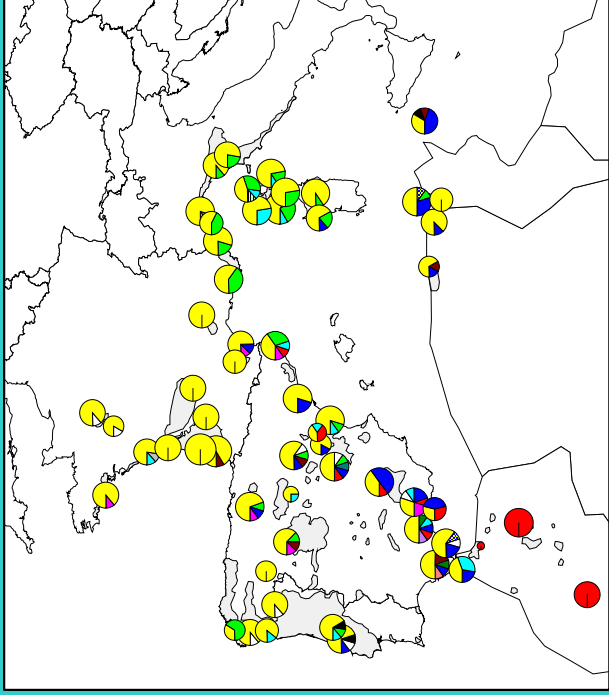
Migration



Adaptation



Extirpation



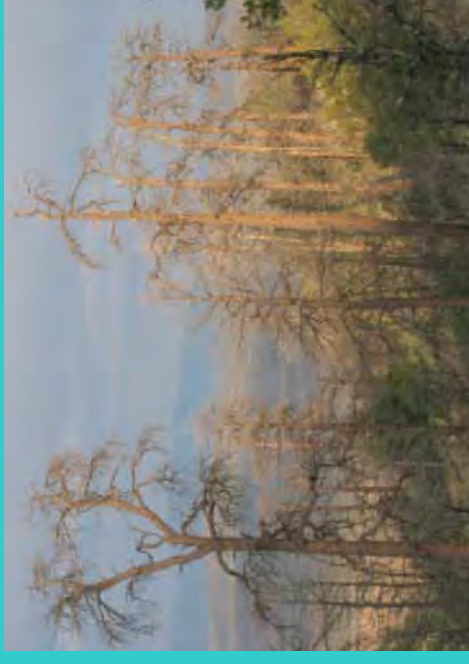
Introduction

Adaptation Phenotypic Characters

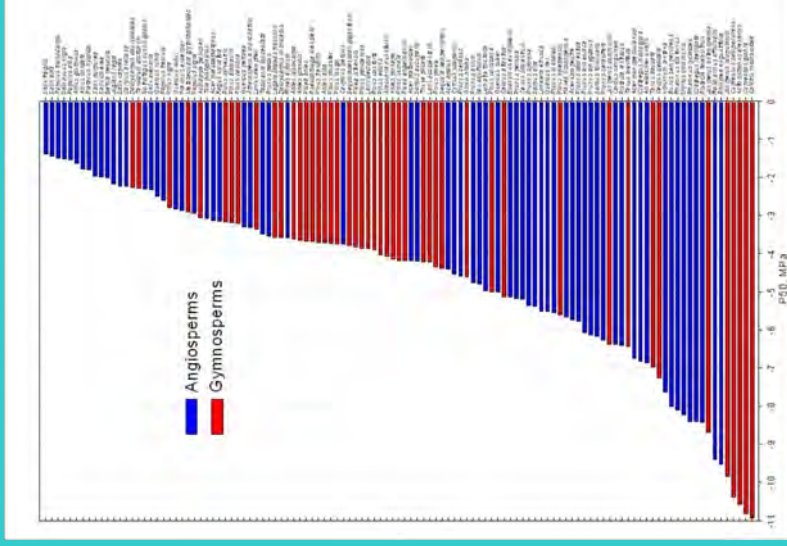
$$\text{Fitness} = \text{Survival} * \text{Fecundity}$$

Climate-induced forest dieback:
an escalating global phenomenon?

C.D. Allen



Ks
P50
Slope
DC13
Ksf
HV
Ratio stem/needle
Leaf area
Height increment 0405



No estimation of genetic properties of this characters

Concepts

Response to natural selection

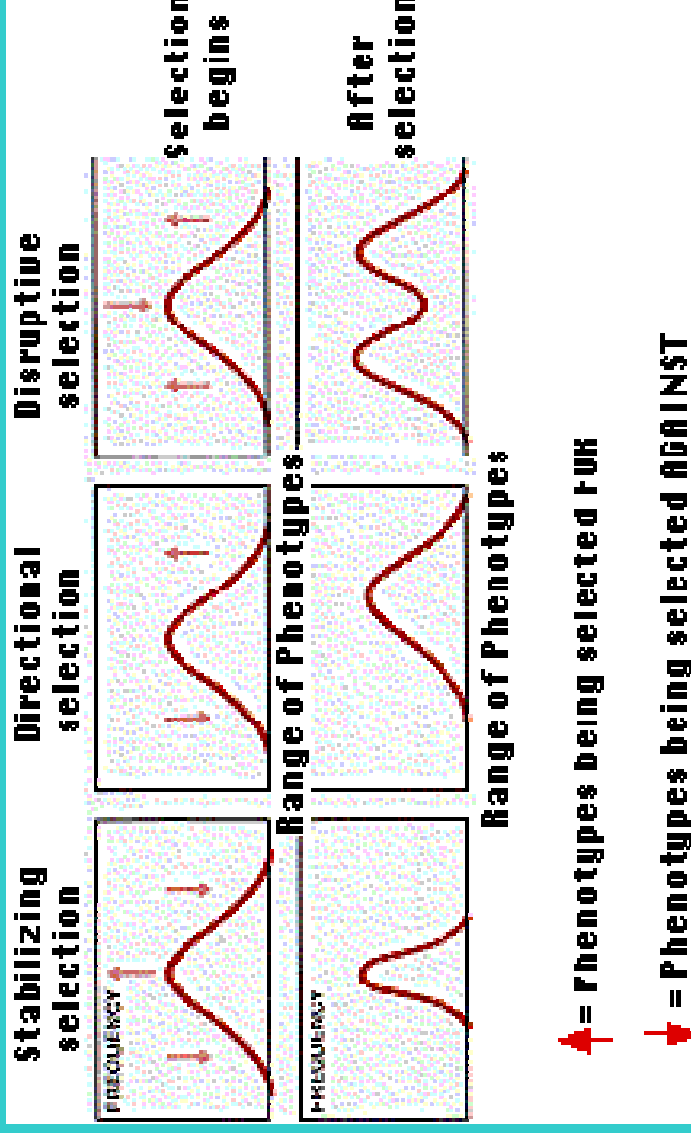
Adaptation

Phenotypic Characters

Phenotypic plasticity

Animation Java pour s'amuser soi-même avec la sélection naturelle

<http://www.evotutor.org/Selection/S15A.html>



Discontinuous character : **Inheritance** (Classic genetic : Mendel's beam)

Continuous character : **Heritability** (Quantitative genetic)

Concepts

Response to natural selection

Adaptation

Phenotypic Characters

Phenotypic plasticity

$$V_P = V_G + V_E + 2COV_{EG}$$

Optimum Environment 1

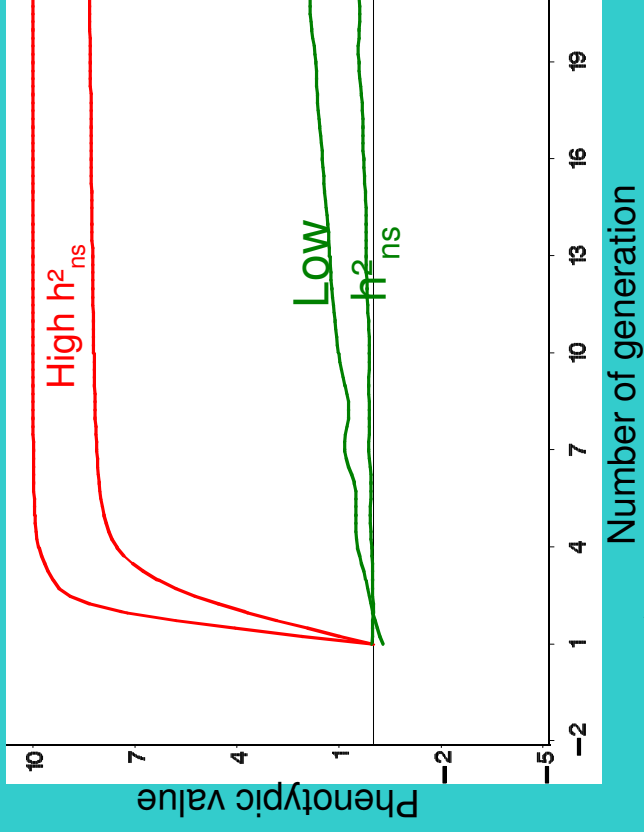
Frequency

Optimum Environment 2

V_G

ADAPTATION

Adaptive character



Genetic estimator

Response to natural selection

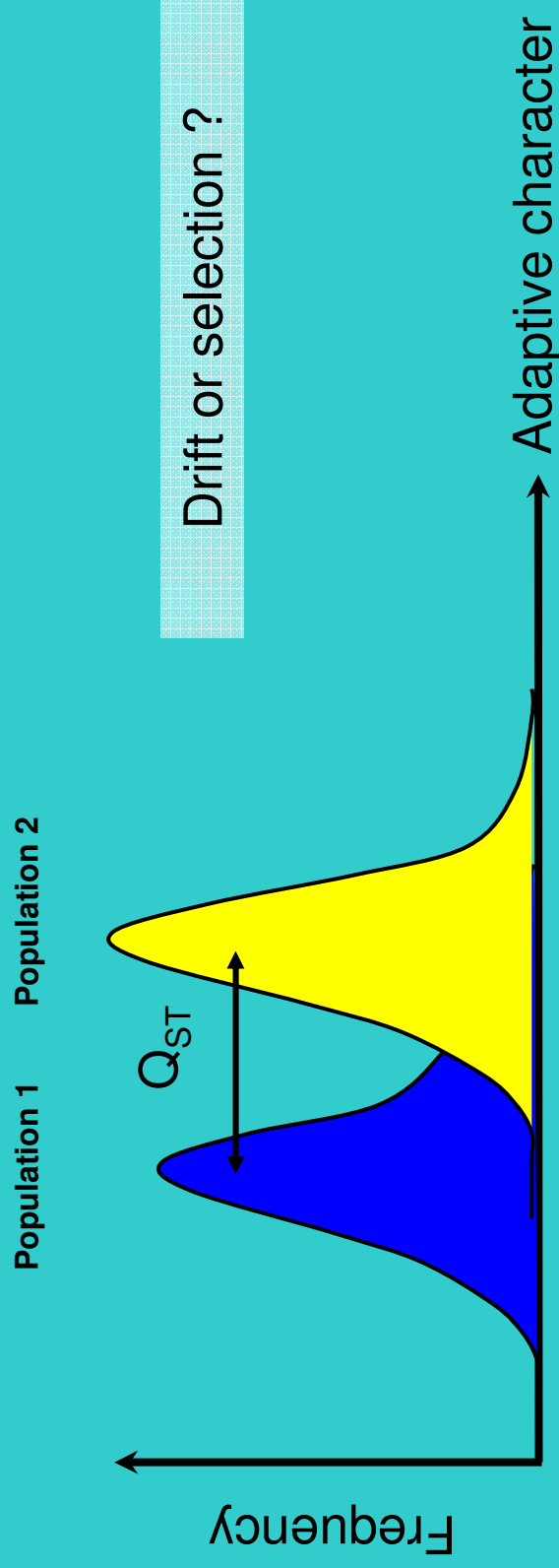
- Heritability

$$V_G = V_A + V_{\text{interaction}}$$

$$h^2_{\text{ns}} = V_A / V_P$$

- Divergence between populations : Q_{ST}

$$Q_{\text{ST}} = V_{\text{BP}} / (V_{\text{BP}} + 2 * V_A)$$



Question

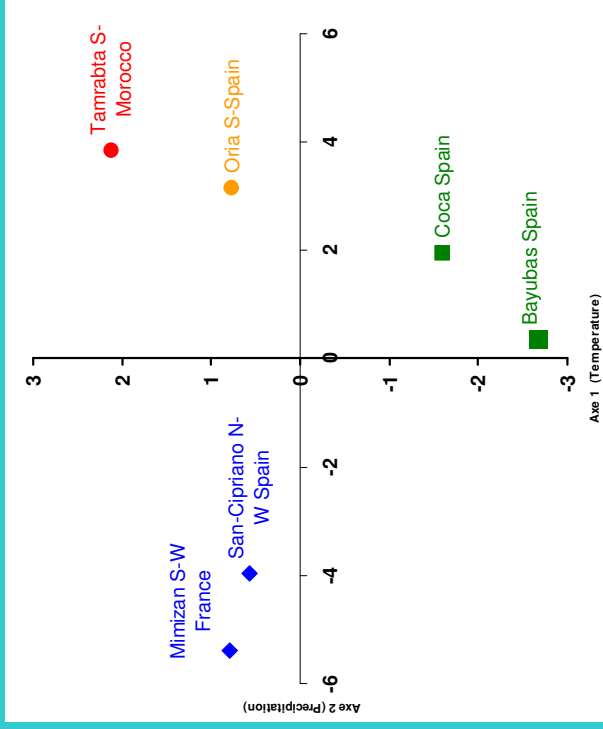
Is there heritability for the drought resistance character ?

Is there genetic variation between population for the drought resistance character ?

Drift or selection ?

Material & Method

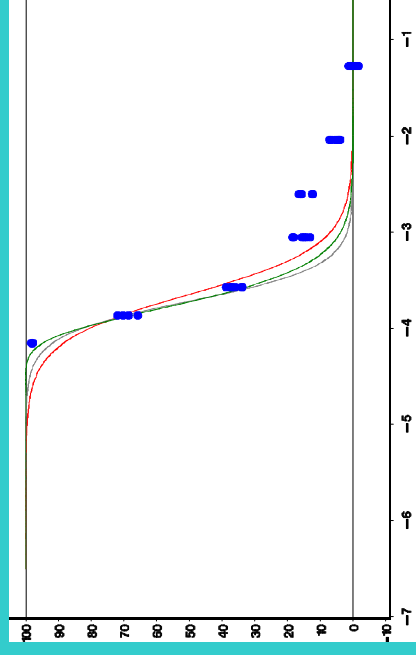
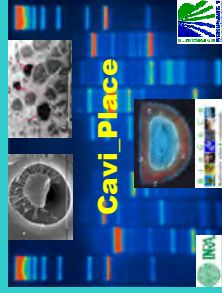
Climatic seed provenance



$$V_P = V_G + V_E + 2COV_{EG}$$

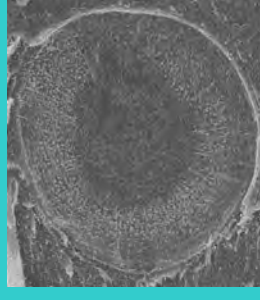
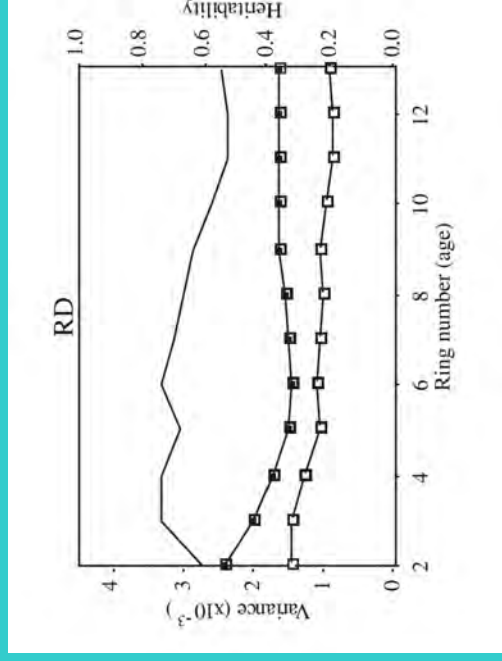
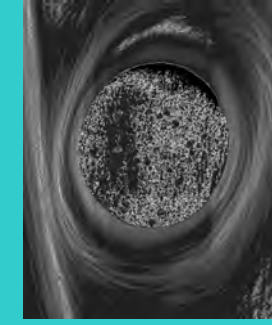
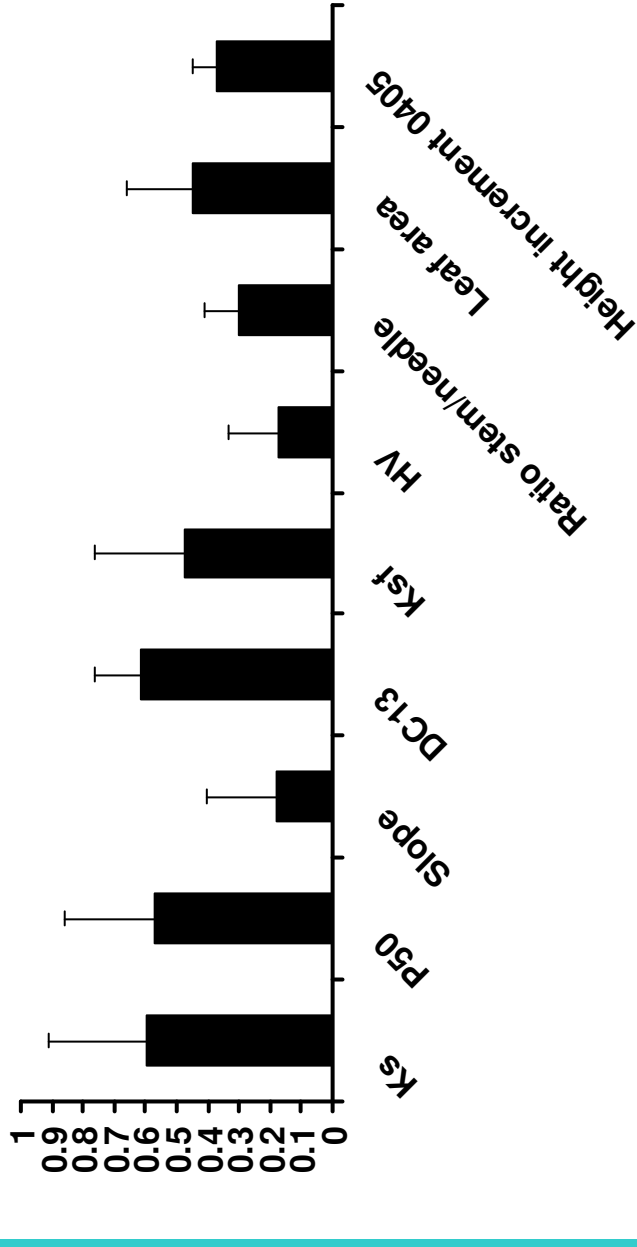
Hydraulics characters

- 6 provenances
- 8 family
- 5 half-sibs



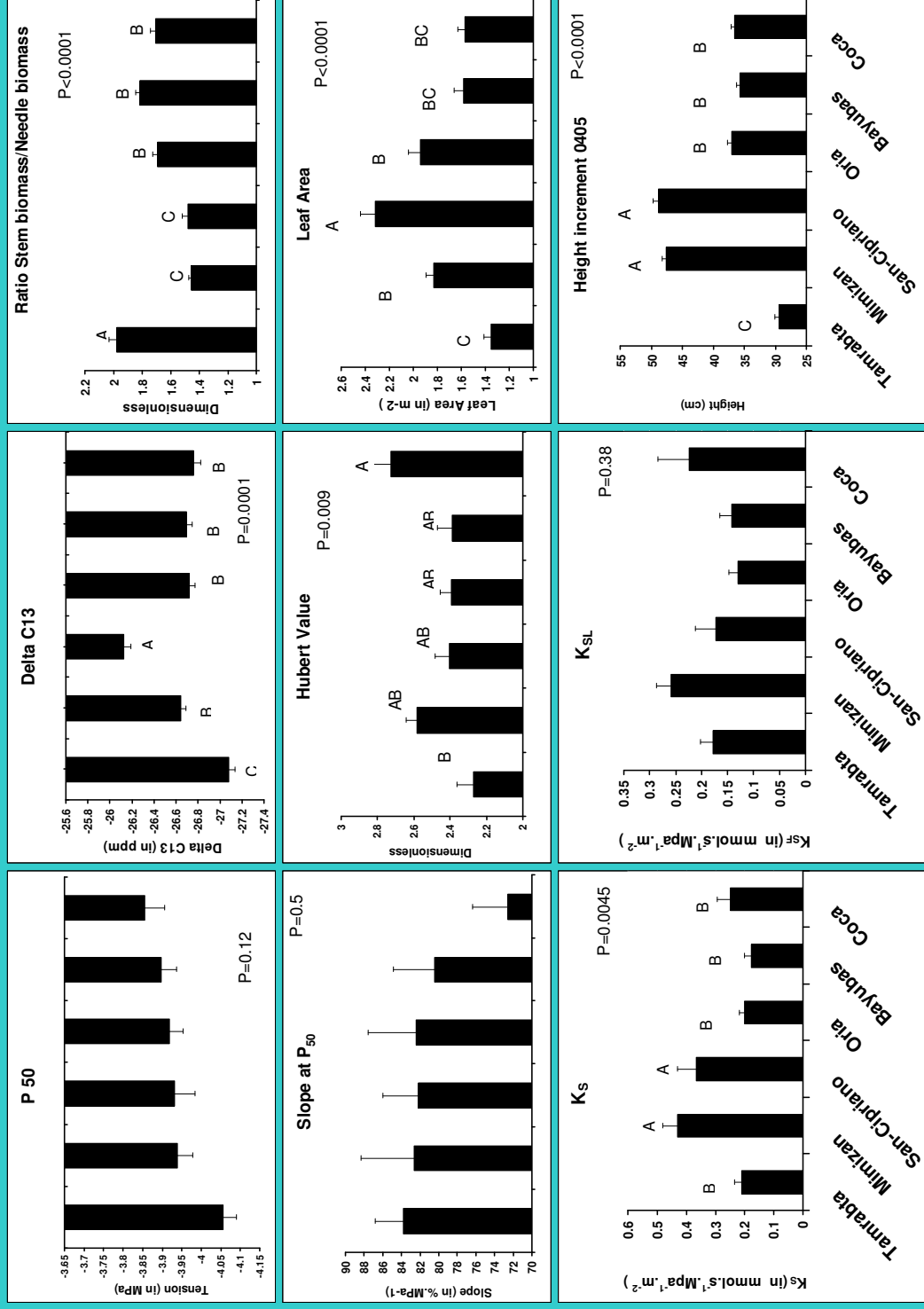
Results & Discussion

Heritability



Results & Discussion

Difference between Populations



No difference between populations for hydraulic traits, but great difference for the morphologic traits

Results & Discussion

If neutral markers :

$$Q_{ST} = F_{ST}$$

$$Q_{ST} > F_{ST}$$

$$Q_{ST} < F_{ST}$$

Characters	Qst	Mean_Fst	10% Percentile	90% Percentile	Selection Hypothesis
Ks	0.097	0.12	0.027	0.21	Fail to reject null hypothesis
P50	0.025	0.12	0.027	0.21	stabilizing selection
Slope	0.008	0.12	0.027	0.21	NA
DC13	0.145	0.12	0.027	0.21	Fail to reject null hypothesis
Ksf	0.008	0.12	0.027	0.21	stabilizing selection
HV	0.123	0.12	0.027	0.21	Fail to reject null hypothesis
Ratio stem/needle	0.247	0.12	0.027	0.21	Fail to reject null hypothesis
Leaf area	0.208	0.12	0.027	0.21	Fail to reject null hypothesis
Height increment 0405	0.393	0.12	0.027	0.21	Disruptive selection

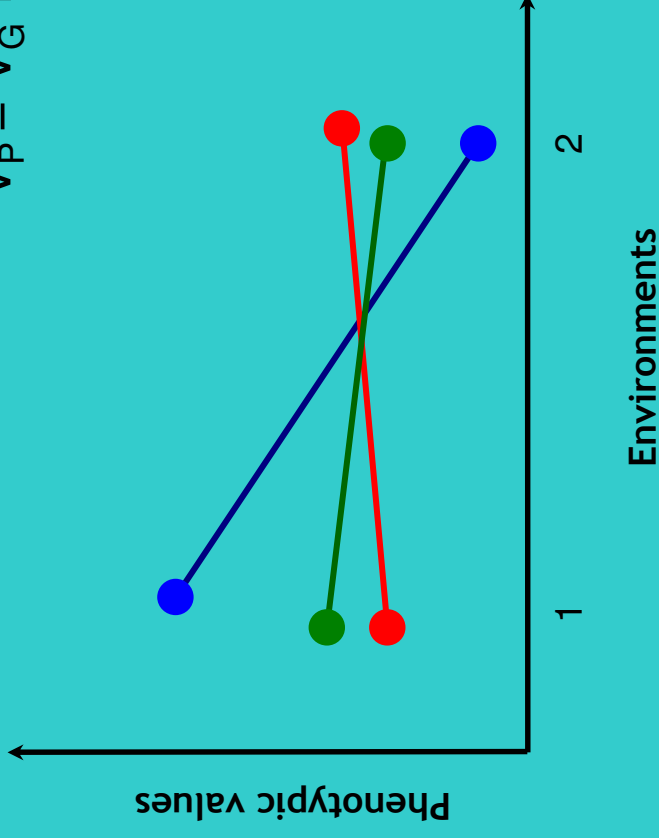
Conclusion

- High Heritability for hydraulics characters (intrapopulation variability high)
- Low phenotypic divergence between this population for the hydraulic characters.
- Local adaptation via the morphologic characters
- Maybe the hydraulic characters are under an stabilizing selection



Perspectives

$$V_P = V_G + V_E + 2\text{COV}_{EG}$$



- Phenotypic plasticity the same design in espana !
- Detection of QTL





Fonctionnement hydraulique de la feuille de peuplier et implication des aquaporines

Présenté le 23 Novembre 2009 par Lopez David
Gousset Aurélie, Venisse Jean-Stéphane, Cochard Hervé, Julien Jean-Louis



U.M.R. 547 INRA UBP PIAF Physique et Physiologies Intégratives de l'Arbre Fruitier et Forestier



Etude des déterminants de l'acclimatation ou de la survie
des arbres contrôlés par des processus biophysiques

Equipe HYDRO

Architecture hydraulique et
résistance à la sécheresse



Axe 1: Vulnérabilité à la
cavitation et impact de
l'embolie



Axe 2: Résistance
hydraulique foliaire et
implication des aquaporines



Objectifs:

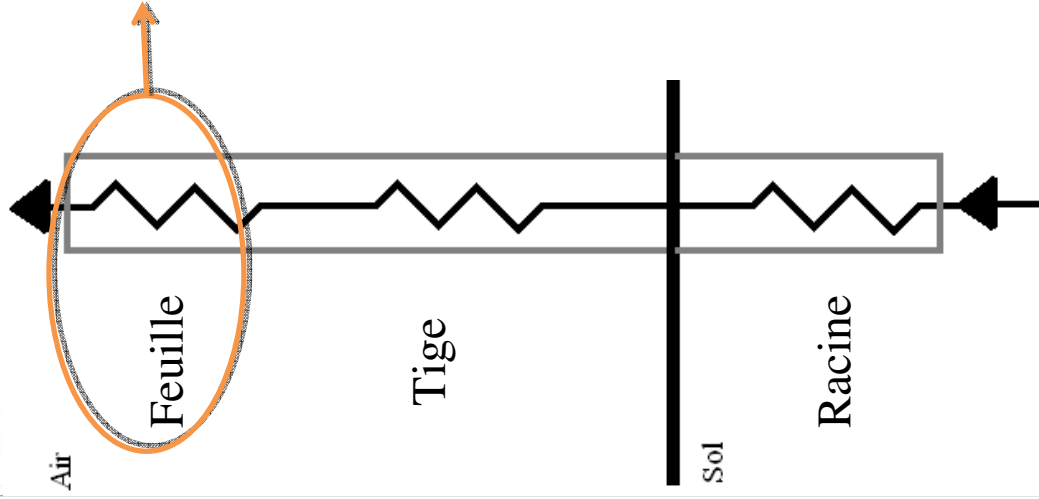
- Amélioration de la **résistance à la sécheresse** des arbres, **croissance** et **survie** à des sécheresses extrêmes
 - **Bases physiologiques et moléculaires** de l'efficacité d'utilisation de l'eau



**Quel est le lien entre fonctionnement hydraulique
de la feuille et l'expression des aquaporines chez le peuplier?**



Fonctionnement hydraulique des plantes



Résistance foliaire: 30 à 98% de R. totale (Nardini et Salleo, 2000; Brodribb *et al.*, 2002; Sack *et al.*, 2006).

Conductance hydraulique foliaire : K_{leaf}

$$K_{\text{leaf}} = F / (\Psi_{\text{leaf}} - \Psi_{\text{stem}}) \cdot S$$

en $\text{mmol-d}^{-1}\text{H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{Mpa}^{-1}$

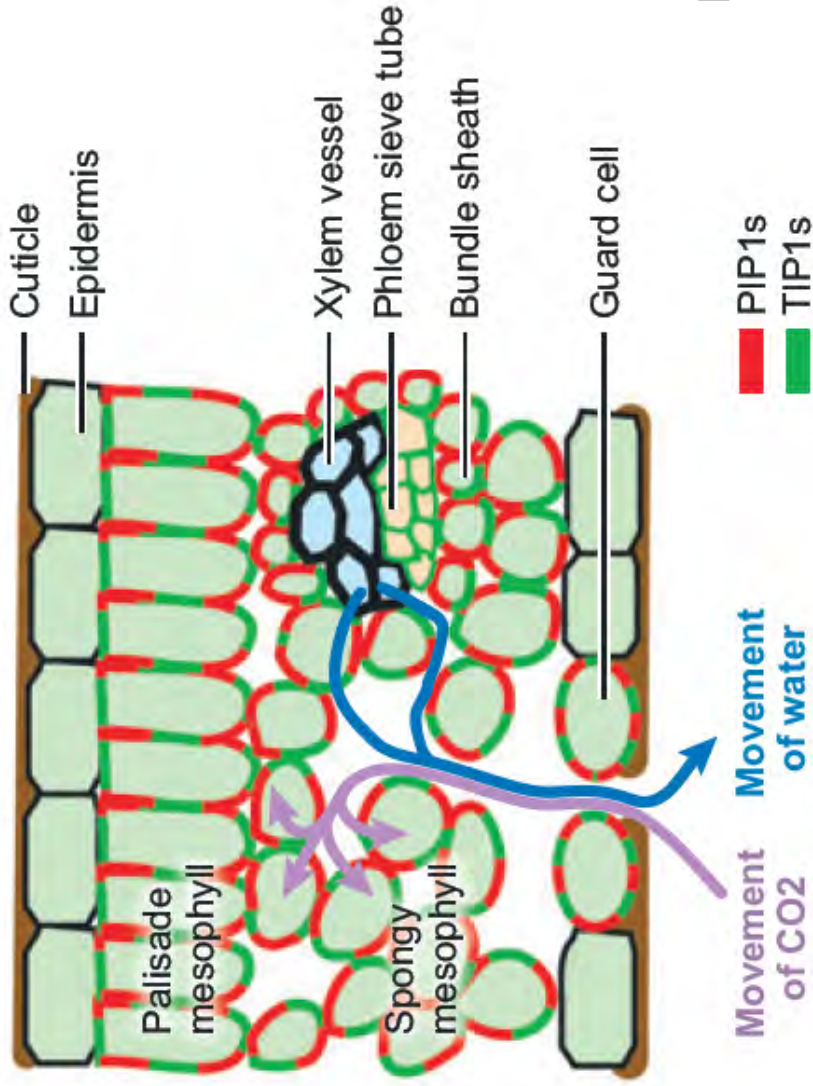
Modulée par:

- **Age** des feuilles, **état hydrique** de la plante (Aasama *et al.*, 2005).
- **Rythme circadien** chez le tournesol (Nardini *et al.*, 2005).
- **Quantité** et la **qualité** de la lumière (Sellin *et al.*, 2008; Voicu *et al.*, 2008).
- **Augmentation de K_{leaf} à la lumière corrélée avec l'expression d'aquaporines** (Cochard *et al.*, 2007).

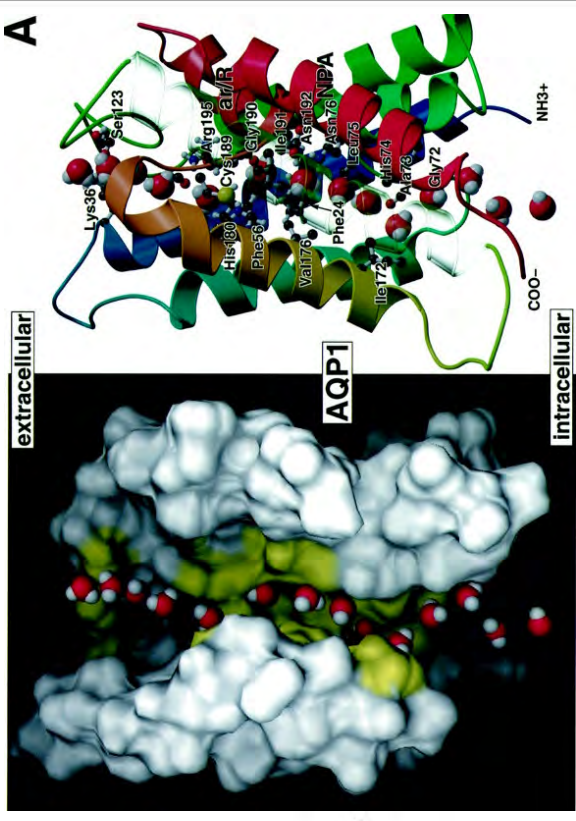


Les aquaporines

Introduction



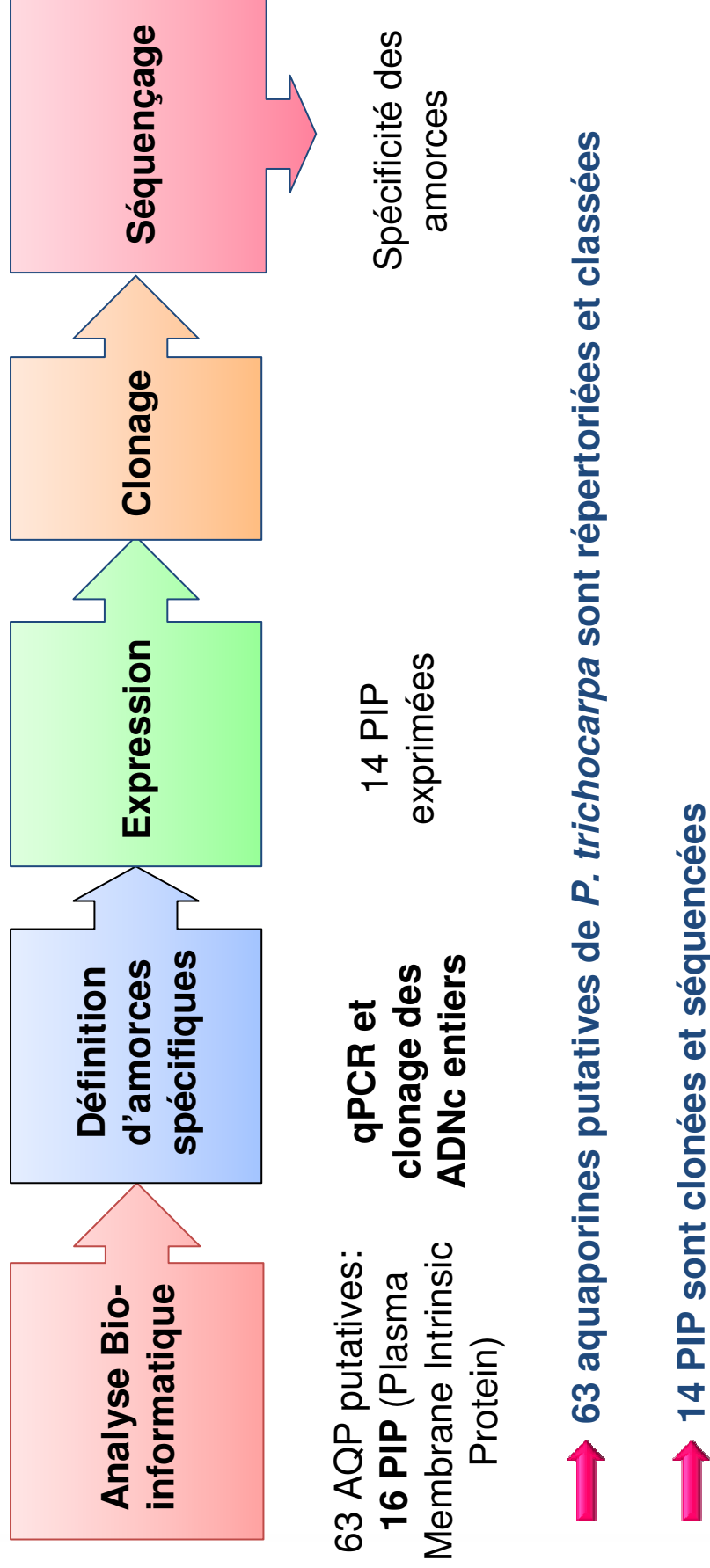
Maurel *et al.*, 2008



De Groot et Grubmüller, 2001

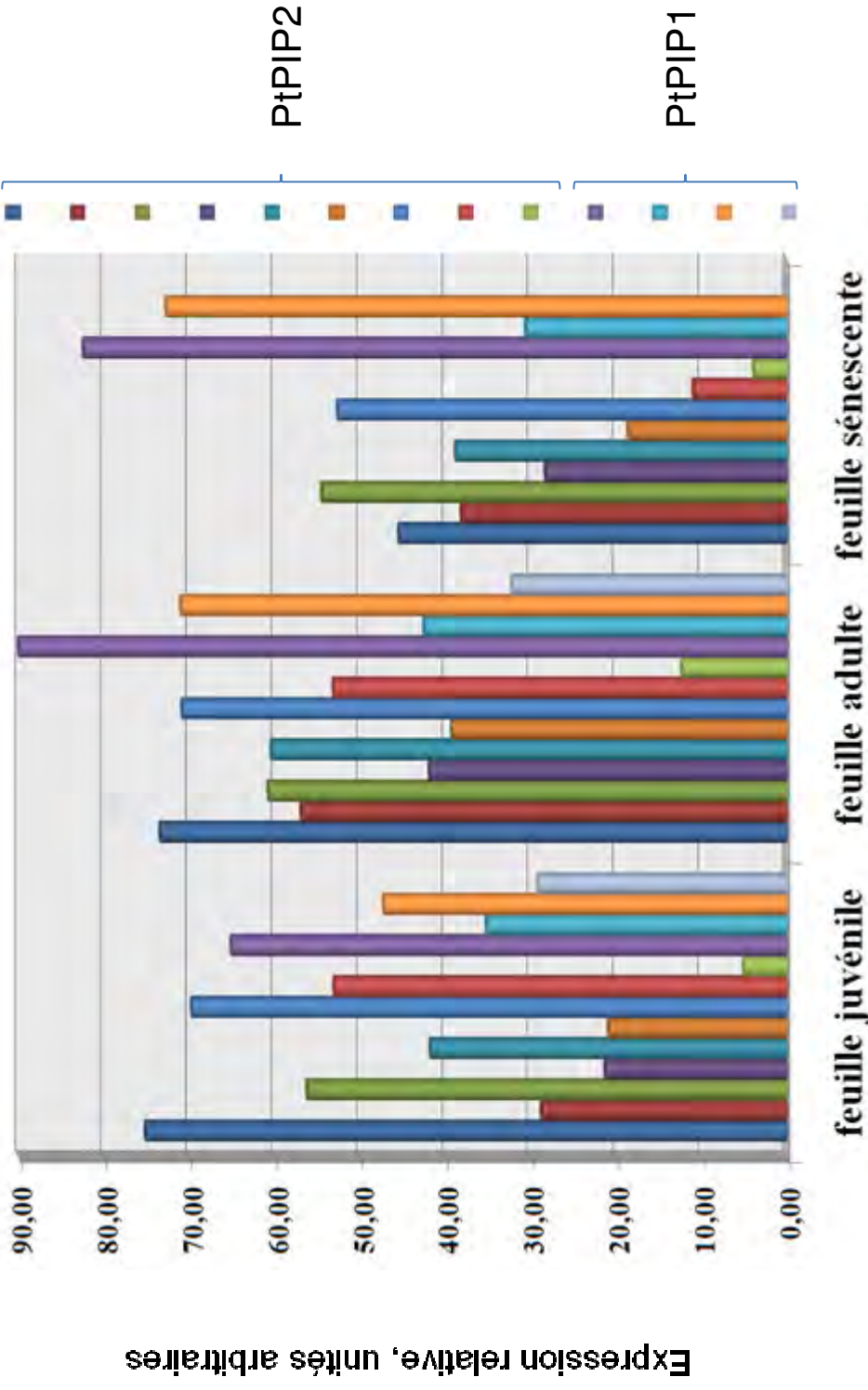


1. Identification des aquaporines putatives chez *P. trichocarpa*





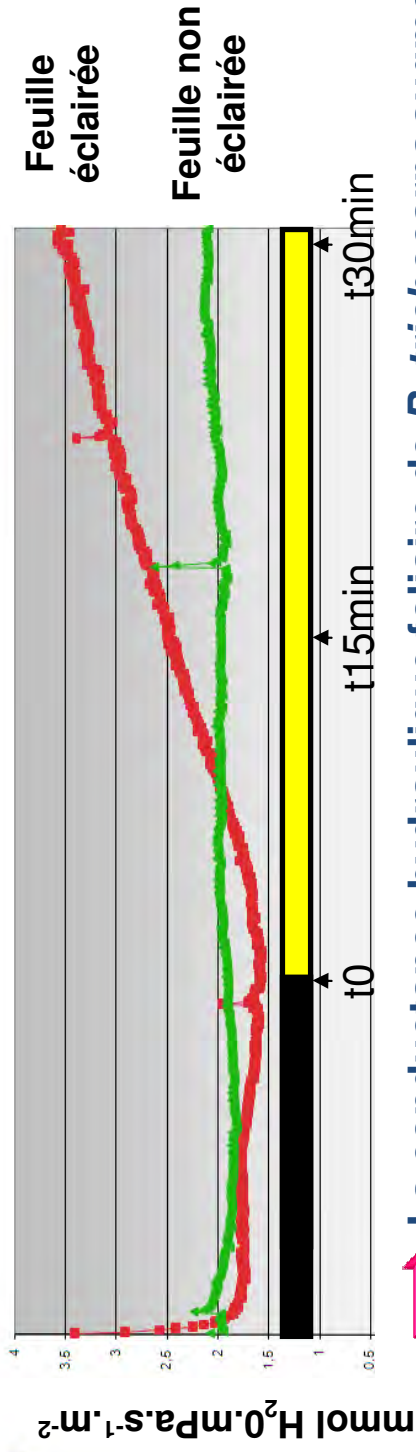
2. Caractérisation de l'expression des 14 PIP chez *P. trichocarpa*



➔ 13 des 14 PIP sont exprimées dans la feuille

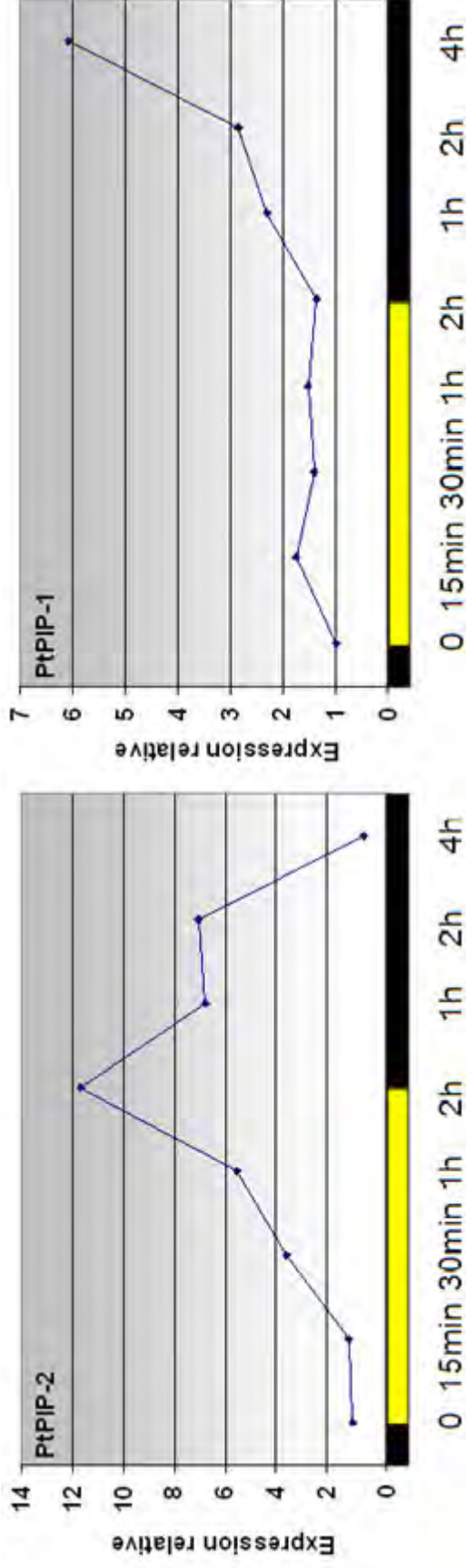
➔ L'expression relative de chaque isoforme est variable

3. Conductance hydraulique foliaire



➔ La conductance hydraulique foliaire de *P. trichocarpa* augmente à la lumière

4. Expression des PIP à la lumière



➔ L'expression des PIP est modulée à lumière

5. Valorisation des résultats: 3 espèces majeures

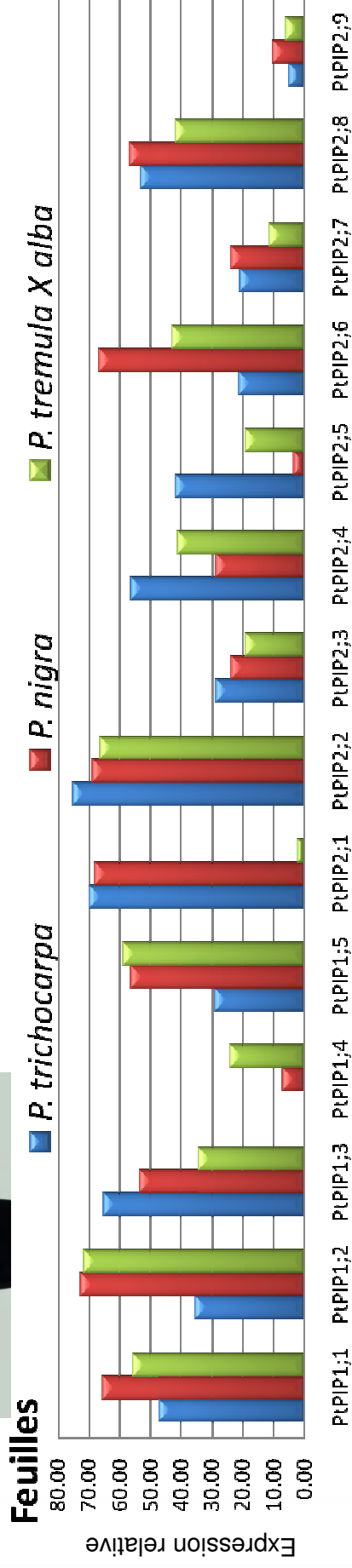
Espèce séquencée:
P. trichocarpa 101-74
Descendance cartographique



Parent de croisement:
P. nigra 71072-501



Transformation
génétique:
P. tremula X alba



➔ Les outils développés sur *P. trichocarpa* fonctionnent sur d'autres espèces

➔ L'expression des isoformes des PIP est différente entre les 3 espèces étudiées

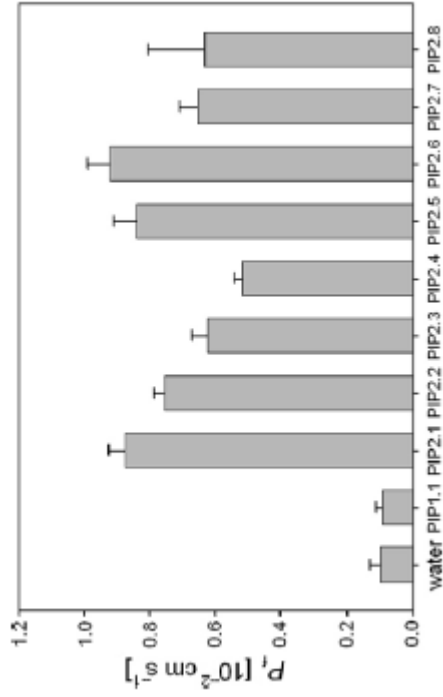
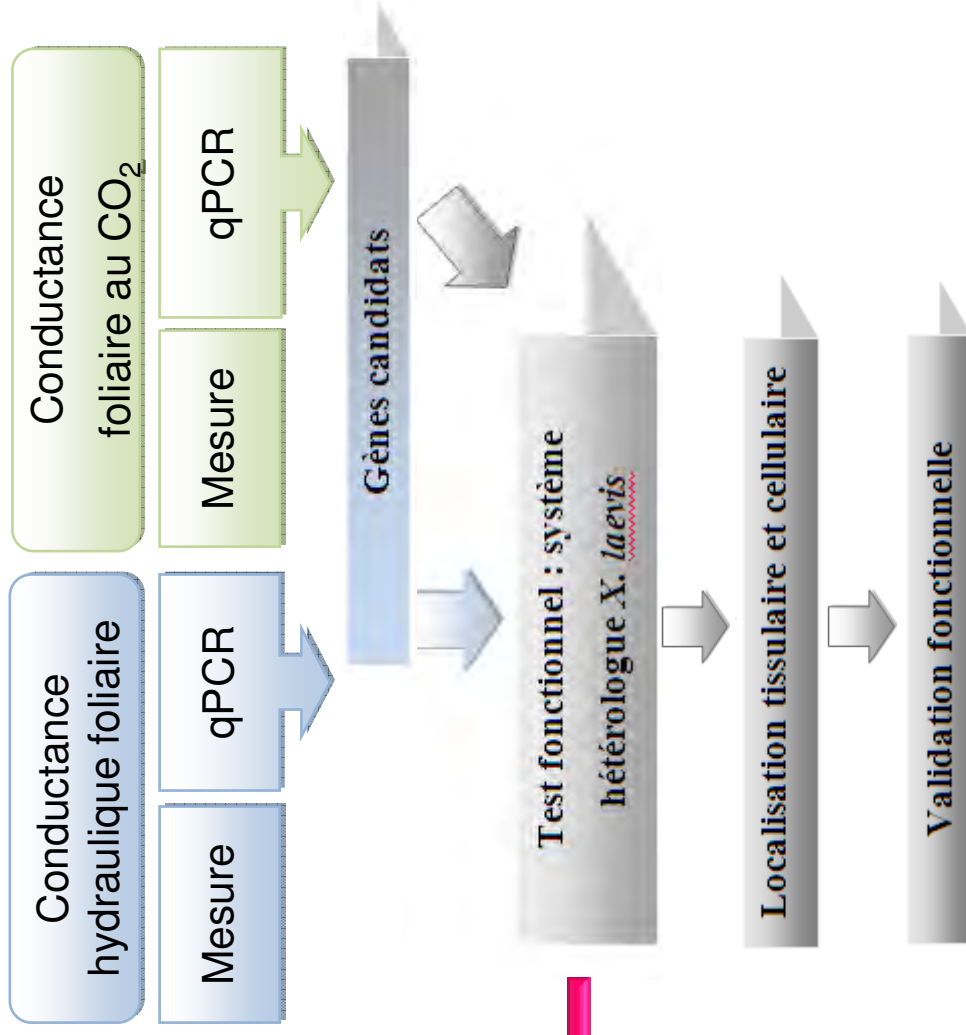


Conclusion des travaux

- *Populus Trichocarpa* possède un nombre important de gènes d'aquaporines (63)
- 14 PIP sont exprimées, dans tous les organes.
- La conductance hydraulique foliaire augmente à la lumière
- 4 PIP sont induites à la lumière, 4 sont induites à l'obscurité



Implication des aquaporines foliaires dans le fonctionnement hydrique et les échanges gazeux *in planta*



Secchi *et al.* 2009

Merci de votre attention





Mise en œuvre d'une approche QTL pour l'évaluation des réponses à la contrainte hydrique d'une descendance de porte-greffe de vigne

Colloque Xylème-eau-croissance Novembre 2009, Bordeaux





Mise en œuvre d'une approche QTL pour l'évaluation des réponses à la contrainte hydrique d'une descendance de porte-greffe de vigne

Introduction

- Impact du changement climatique sur les espèces vivantes (Parmesan et Yohe, 2003) et en particulier sur la vigne (Garcia de Cortazar, 2006)
- Modification du régime de pluviométrie ⇨ accentuation du niveau de stress hydrique en fin de cycle
- Particularités de la viticulture :
 - porte-greffe
 - nécessité d'une contrainte hydrique modérée (Van Leeuwen et Seguin, 1994)
 - irrigation actuellement interdite en AOC
- Programme d'amélioration génétique des porte-greffe de vigne





Comment le porte-greffe
peut agir sur les réponses
à la contrainte hydrique ?

③ Action sur la demande en eau

Notion de vigueur conférée :
croissance, vitesse d'émission des
feuilles, surface foliaire

Contrôle des échanges gazeux :
signal ABA

② Transfert de l'eau

Nombre et diamètres des
vaisseaux conducteurs

Conductivité hydraulique

① Action sur l'offre en eau :

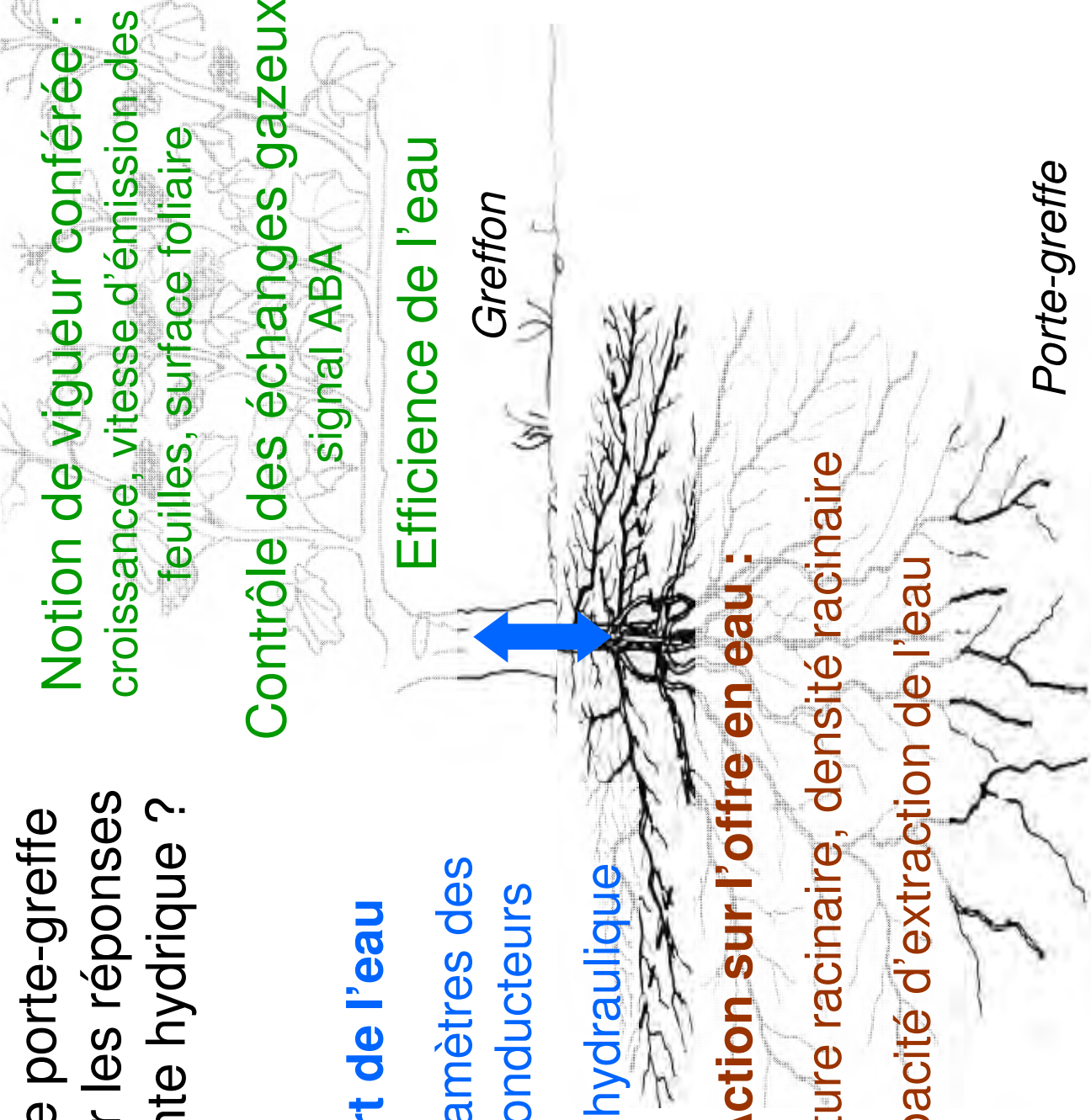
Architecture racinaire, densité racinaire

Capacité d'extraction de l'eau

Efficiencia de l'eau

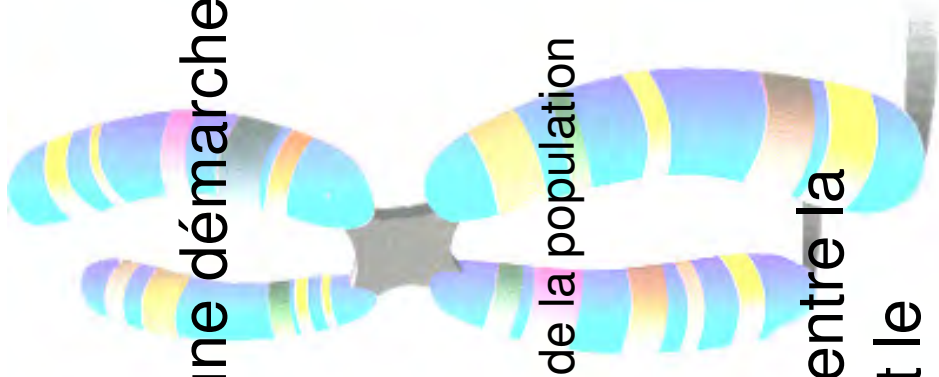
Greffon

Porte-greffe



Démarche QTL (Quantitative Trait Locus)

- Définition
- Ce qui est nécessaire pour conduire une démarche QTL :
 - Une population en ségrégation
 - Une carte génétique suffisamment saturée
 - Le phénotypage de caractères quantitatifs de la population



↻ But : établir une liaison statistique entre la variabilité d'un caractère quantitatif et le polymorphisme d'un marqueur moléculaire



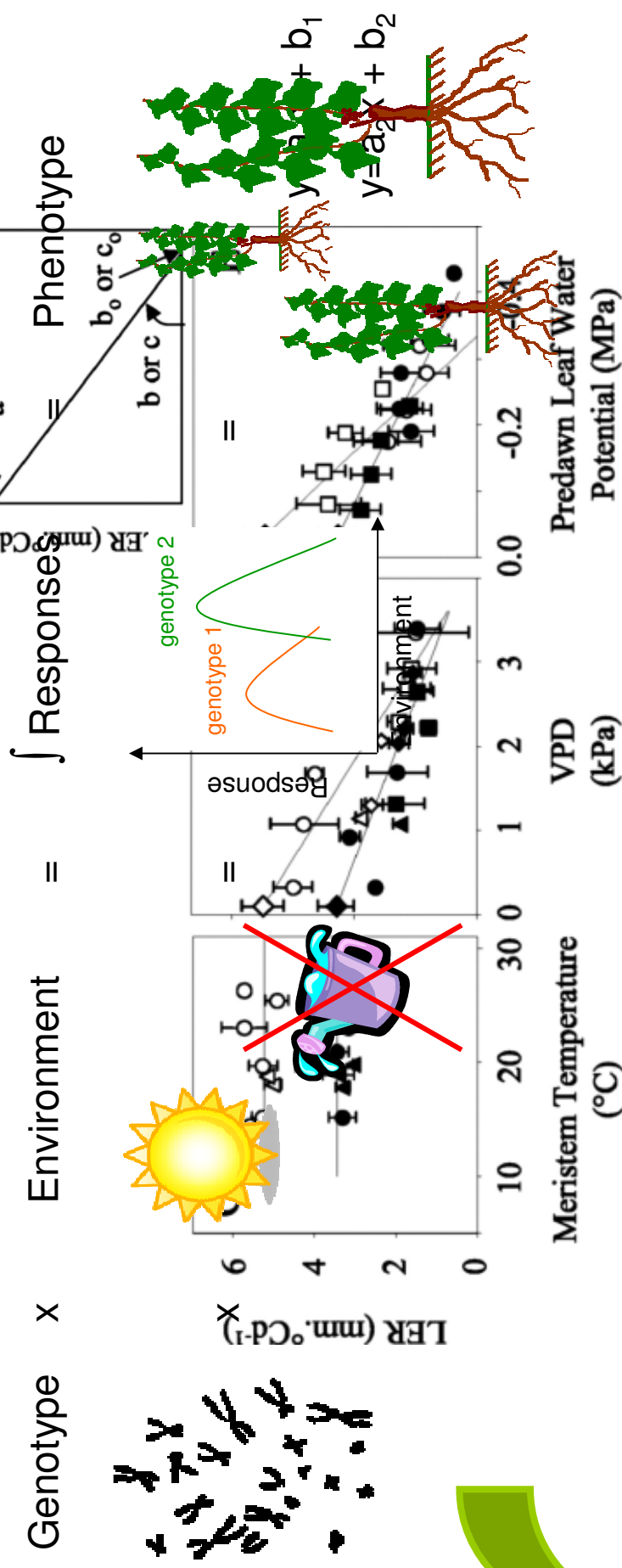


Mise en œuvre d'études de QTLs de l'adaptation à la sécheresse

- Exemple de caractère : $\delta^{13}\text{C}$ lié à l'efficacité de l'eau
Sur le pin maritime (Costa, 1999 ; Brendel, 2002)
Sur le chêne (Brendel *et al.*, 2008)
 - Difficultés car interactions génotype \times environnement
(Reymond *et al.*, 2004)
- ⇒ Problème pour détecter des QTLs répétables

Prise en compte de l'interaction génotype x environnement

- Caractère = courbe de réponse en fonction des conditions environnementales
Exemple : courbe de vitesse d'élongation des feuilles en fonction du déficit hydrique (Reymond *et al.*, 2003)



Cartographie des coefficients des équations de droite

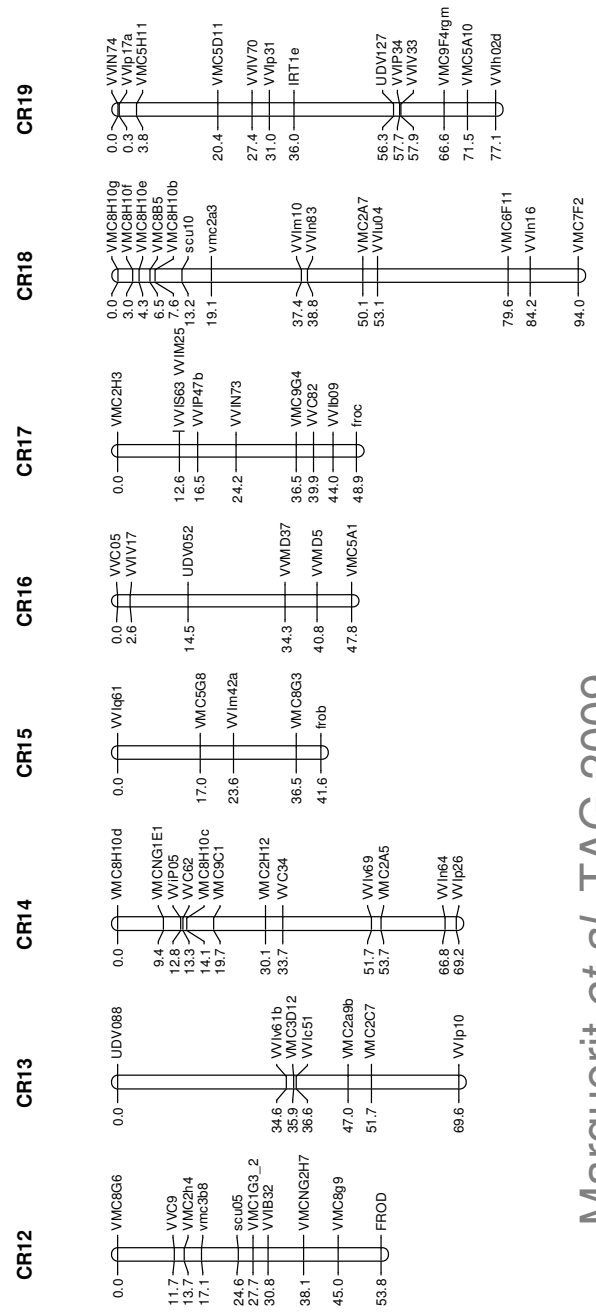
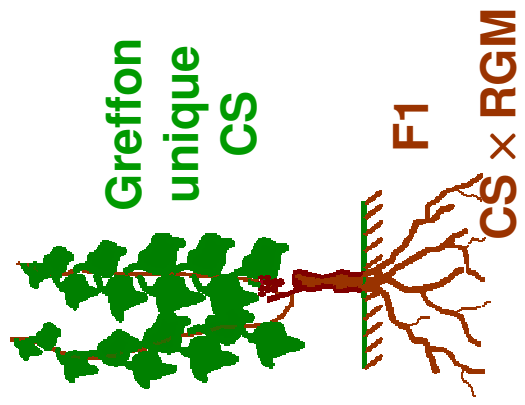
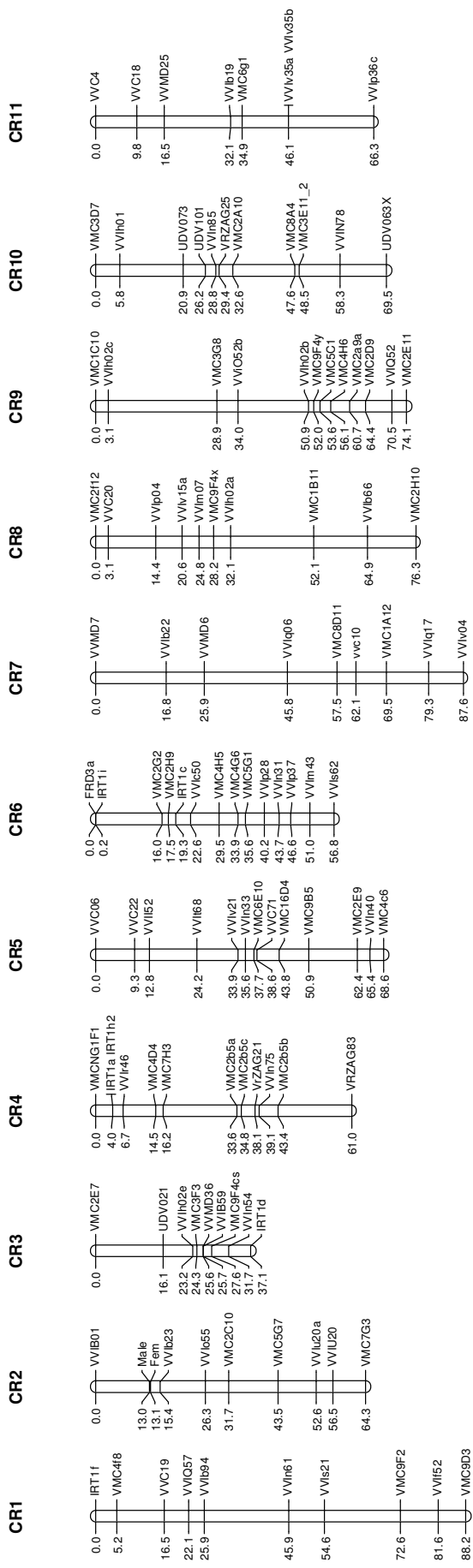
Recherche de QTLs à partir de la **plasticité phénotypique** (Elberse et al., 2004 ; Lacaze et al., 2009)



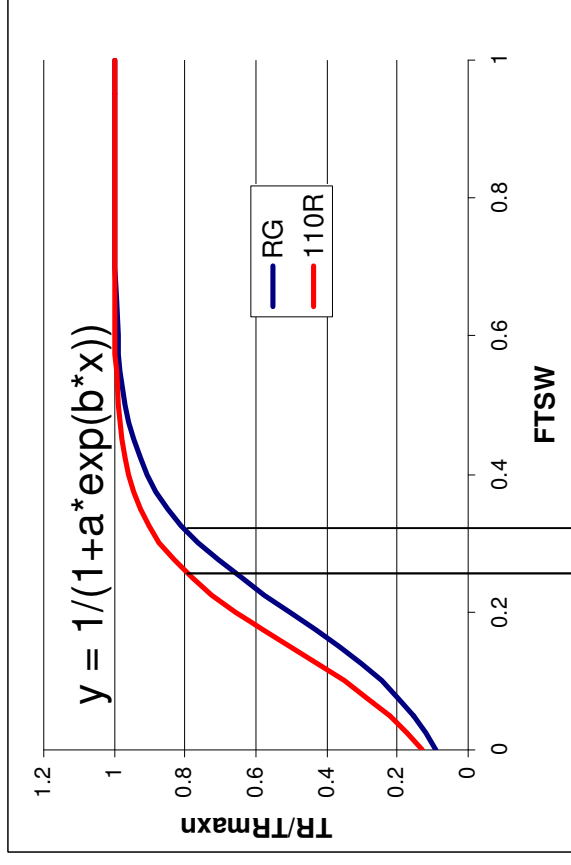
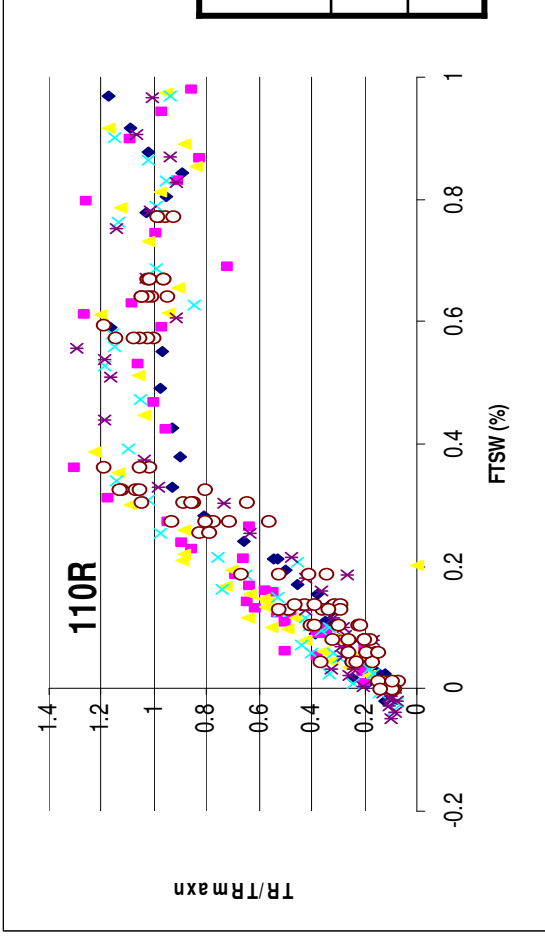
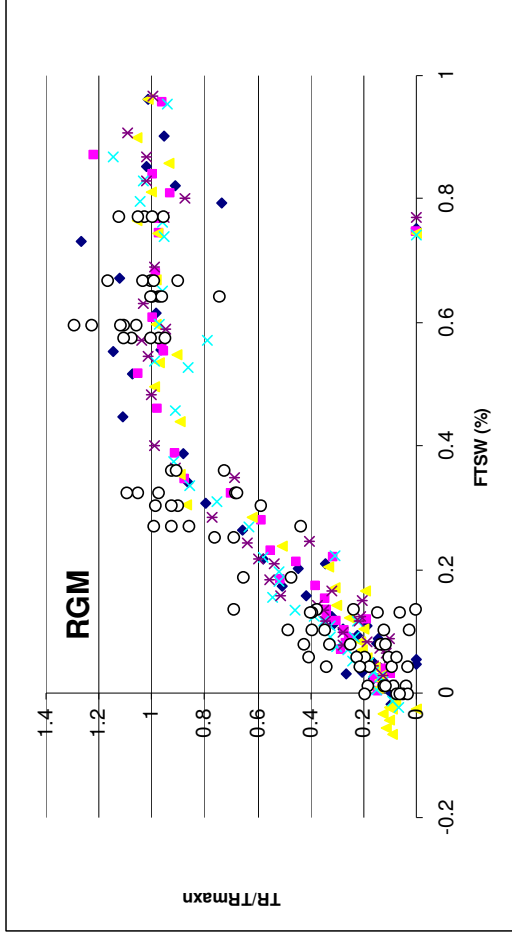
Objectifs de la thèse

- Mise en évidence d'une variabilité de caractères susceptibles de décrire l'adaptation à la contrainte hydrique
- ⇒ Définition de la tolérance à la contrainte hydrique pour un porte-greffe de vigne
- Détecter des QTLs « stables » au cours des différentes années de phénotypage
- Discussion de la notion d'interaction génotype × environnement
- ⇒ Originalité du modèle étudié : plante greffée

● Carte génétique construite selon une stratégie de pseudo-test cross



● Effet du porte-greffe sur la régulation de la transpiration



Genotype	Level (TR/TR _{maxn} =0,8)	IC+	IC-
110R	0,26	0,22	0,30
RGM	0,32	0,28	0,36

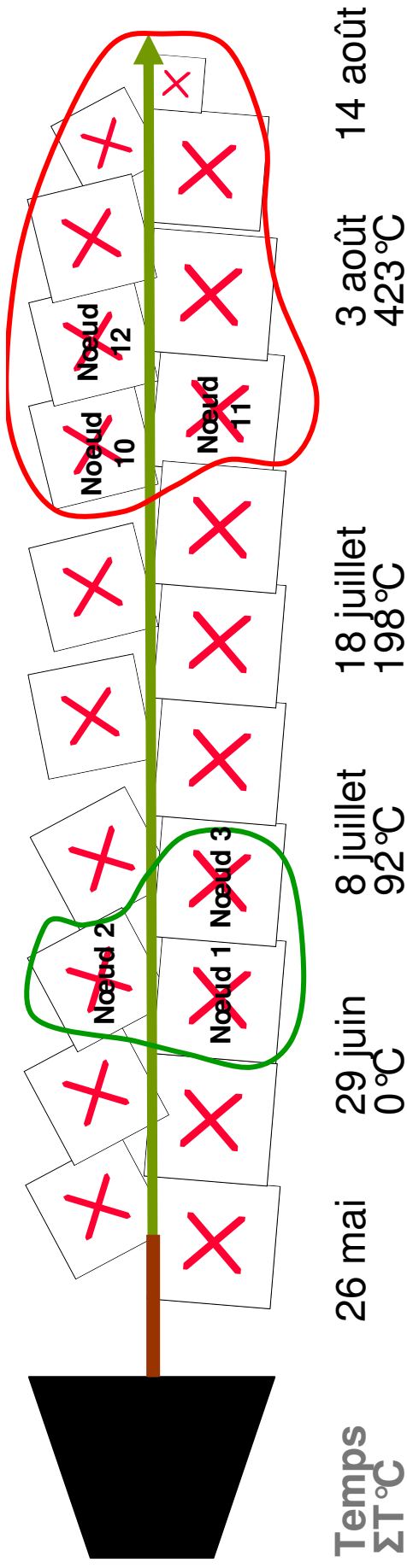


Définition d'un porte greffe adapté à la contrainte hydrique

● Plateforme de suivi de la transpiration

(coll. LEPSE Montpellier/ EPHYSE Bordeaux ; Sadok et al. 2007)





Temps
 $\Sigma T^{\circ}\text{C}$

26 mai

29 juin
0°C

8 juillet
92°C

18 juillet
198°C

3 août
423°C

14 août

Régime
hydraulique

Absence de
contrainte
hydraulique

Contrainte
hydraulique
progressive

Contrainte
hydraulique
stabilisée
(50% CAC)

Arrêt
transpiration
= fin
phénotypage

Contrôles

← SF — Contrôle transpiration et croissance —→ SF

Prélèvements

δC^{13}

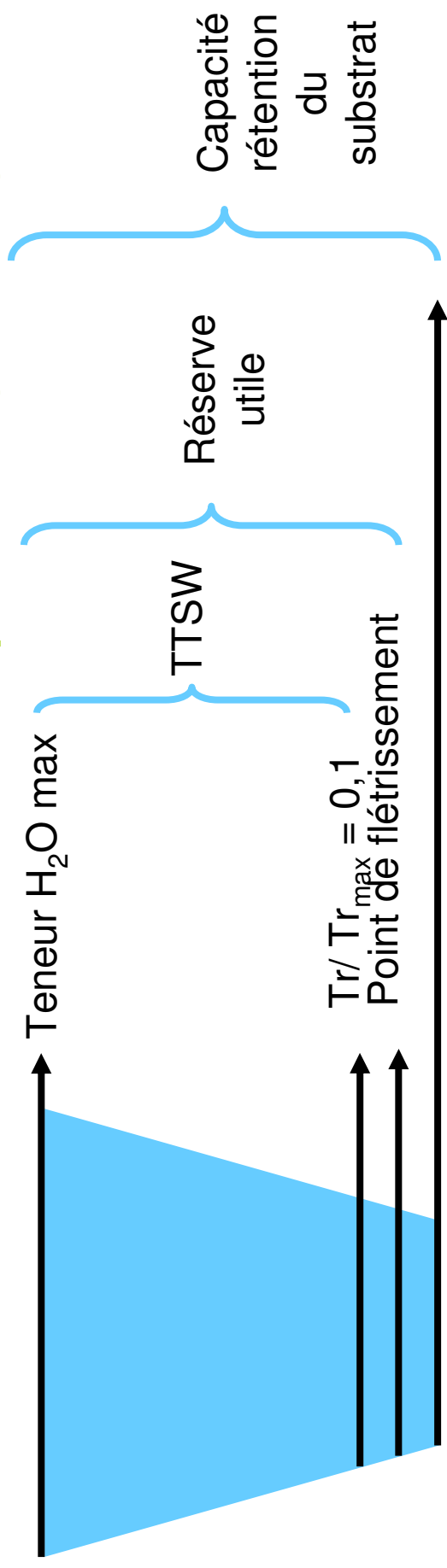
Effectués en fin de
manip

3 feuilles
prélevées

3 feuilles
prélevées



La Fraction d'eau transpirable (FTSW)



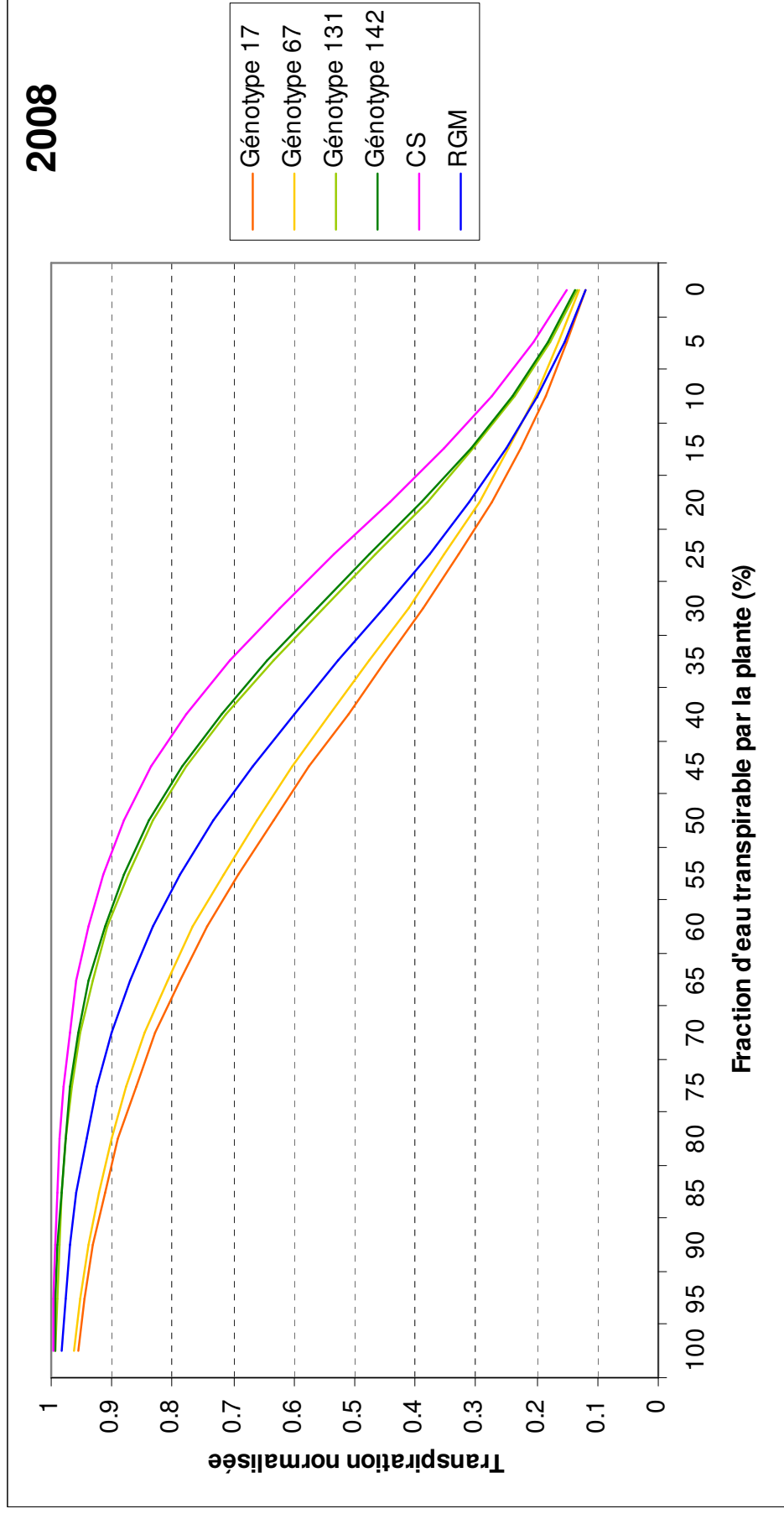
- A l'instant t, on parle de FTSW (%) (Sinclair et Ludlow, 1986)
- Expression de la transpiration relative en fonction de la fraction d'eau transpirable vérifiée pour :
 - de nombreuses espèces (Sadras et Milroy, 1996),
 - différents types de sols (Ritchie, 1981),
 - différents VPD (Ray et al., 2002)
- Robustesse et simplicité de la réponse de la transpiration (Sinclair, 2005)

Courbes de réponse de la transpiration

- Phénotypage 2007 et 2008
- Rappel des différences du dispositif
- **Méthode de travail :**
 - Travail sur l'évolution de la surface foliaire
 - Travail sur les données de transpiration (Sinclair et Ludlow, 1986 ; Bindi 2005)
 - Détermination de la TTSW (NTR < 0.1) pour chaque plante
 - Détermination du suivi de la FTSW au cours du phénotypage
 - Obtention des ajustements des courbes de réponses :
$$\text{NTR} = 1/(1 + a \times \text{EXP}(b \times \text{FTSW}))$$



Courbe de réponse transpiration en fonction de la FTSW





Conclusion

- Détection de QTLs communs aux deux années de phénotypage \Rightarrow méthode robuste
 - **Perspectives**
 - Travail données 2009
 - Travail similaire sur les courbes de croissance
 - Résultats des analyses de δC^{13}
- \Rightarrow Bonne représentation de l'ensemble des caractères affectés
- \Rightarrow Proposition de pistes de réflexion pour des études plus fines
- Mise en évidence du contrôle du porte-greffe sur les échanges gazeux du greffon pour un même niveau de contrainte





Merci de votre attention

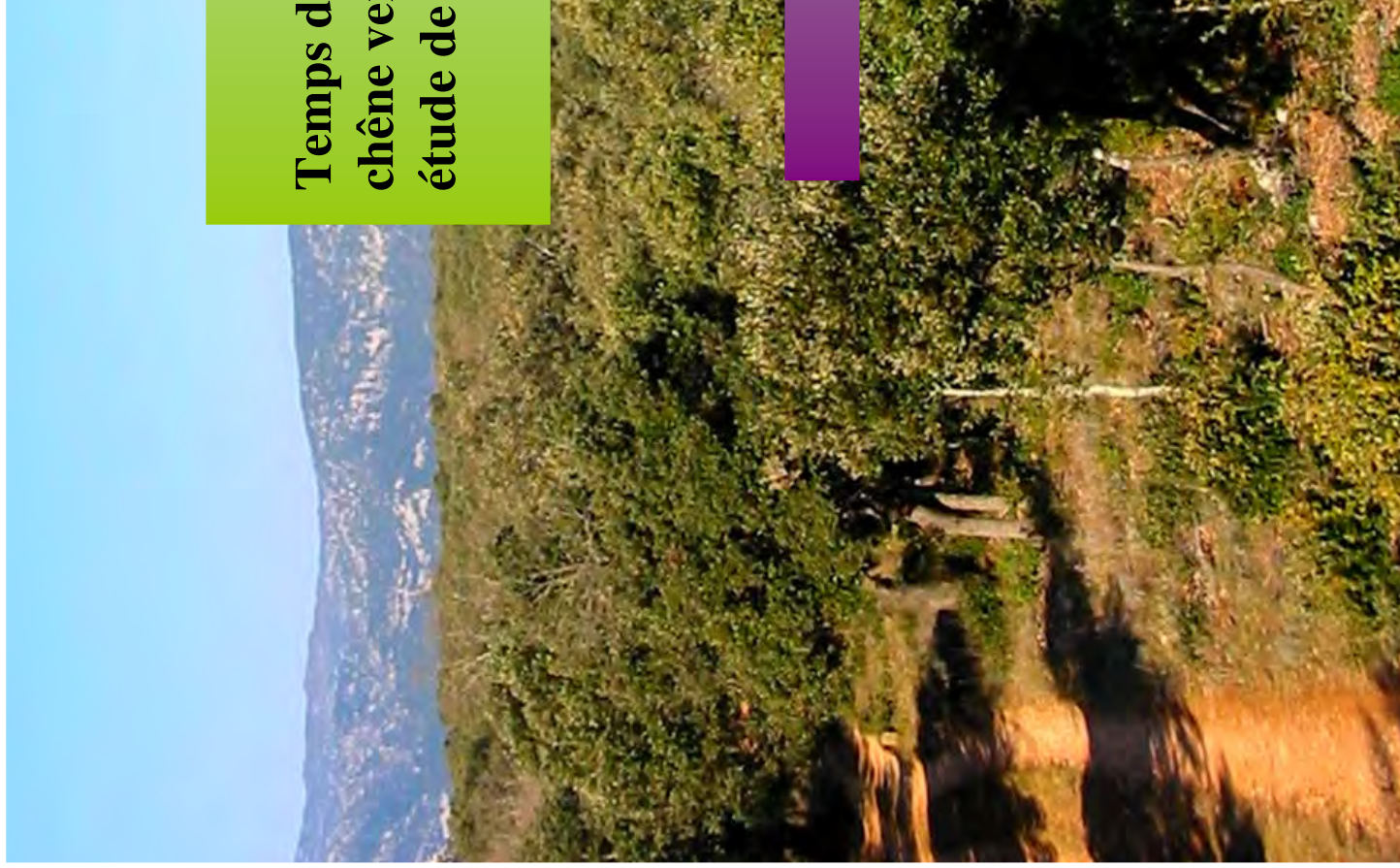


**Temps de réponse de l'architecture hydraulique du
chêne vert à la contrainte hydrique: couplage entre
étude de gradient et exclusions de précipitations**

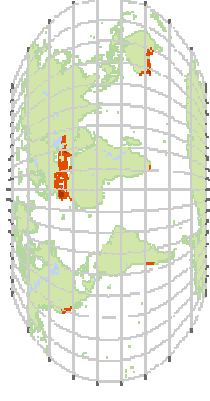
Laurent MISSON et Fabien BACH (M2)



**CENTRE D'ÉCOLOGIE
FONCTIONNELLE
& ÉVOLUTIVE**



Contexte



2.5 Mkm²

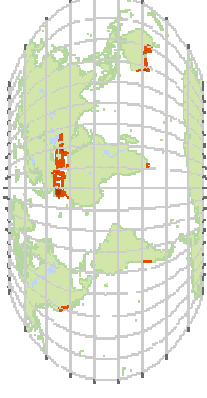
Climats méditerranéens

- Étés chauds et sec, hiver froids et humides
- 80% des précipitations en dehors de l'été
- Imprédictible, variabilité inter-annuelle importante
- Précipitations: événements rares et intenses

Contexte



Climats méditerranéens



2.5 Mkm²

Changements climatiques:
Diminution de précipitations

Giorgi (2006) GRL

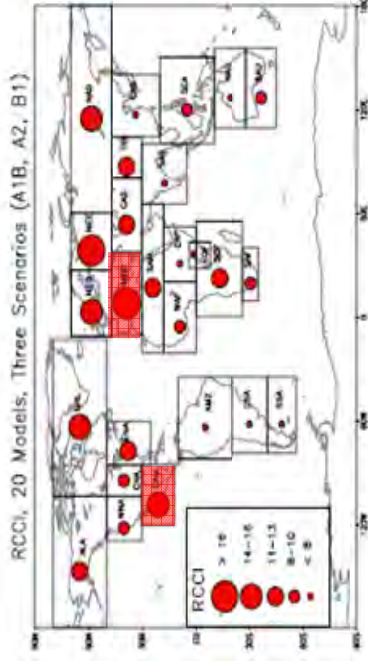


Figure 1. Regional Climate Change Index (RCCI) over 26 land regions of the World calculated from 20 coupled AOGCMs and 3 IPCC emission scenarios (A1B, A2, B1).

Table 2. Values of ΔP , $\Delta\sigma_A$, RWAF and $\Delta\sigma_T$ over the 26 Regions of Figure 1^a

Region	Season	ΔP , %	$\Delta\sigma_A$, %	RWAF	$\Delta\sigma_T$, %	ΔP , %	$\Delta\sigma_A$, %	RWAF	$\Delta\sigma_T$, %
NEEL	WS (May-Oct)	0.85 (0)	17.20 (2)	1.12 (1)	15.00 (4)	14.40 (2)	6.60 (1)	1.43 (2)	10.45 (4)
MED	WS (Oct-Mar)	9.73 (1)	24.94 (4)	1.09 (0)	-3.43 (0)	21.58 (4)	39.99 (4)	1.47 (2)	15.25 (4)
NEE	WS (May-Oct)	6.02 (1)	23.23 (4)	1.34 (2)	4.19 (0)	20.07 (4)	16.71 (2)	1.93 (4)	-12.40 (2)
NAS	WS (May-Oct)	11.40 (2)	14.69 (2)	1.39 (2)	3.39 (0)	27.27 (4)	9.41 (1)	1.96 (4)	5.28 (1)
CAS	WS (Nov-Apr)	-2.08 (0)	21.89 (4)	1.29 (1)	2.02 (0)	-9.26 (1)	16.13 (2)	1.55 (4)	4.31 (0)
TIB	WS (Apr-Sep)	7.94 (1)	3.15 (0)	1.42 (2)	3.00 (0)	15.93 (4)	12.62 (2)	1.54 (4)	3.61 (0)

Contexte



* **Ajustement des arbres à la contrainte hydrique est un **syndrome****

Conductance stomatique (Buckley and Mott, 2001)

Sclérophyllie (Mooney and Dunn 1970)

Densité du bois (Hacke et al. 2001)

Architecture (Ogaya et al. 2004)

Allocation de carbone (Magnani et al. 2002)

Surface foliaire et densité (Joffre et Rambal 1993)

(...)

Cellulaire

Feuille

Système conducteur

Couronne

Arbre

Peuplement

Contexte



* Ajustement des arbres à la contrainte hydrique est un **syndrome**

Conductance stomatique (Buckley and Mott, 2001)

Sclérophyllie (Mooney and Dunn 1970)

Densité du bois (Hacke et al. 2001)

Architecture (Ogaya et al. 2004)

Allocation de carbone (Magnani et al. 2002)

Surface foliaire et densité (Joffre et Rambal 1993)

(...)

Cellulaire

Feuille

Système conducteur

Couronne

Arbre

Peuplement

* Ces réponses s'organisent selon une **hiérarchie**, chaque élément étant **imbriqué** dans un niveau organisationnel supérieur, et **contenant** les niveaux organisationnels inférieurs (Allen and Starr 1982).

Questions



(1) Comment **s'organise** cette hiérarchie ?

Questions



- (1) Comment **s'organise** cette hiérarchie ?
- (2) Quelles sont les **interactions** entre niveaux organisationnels ?

Questions



- (1) Comment **s'organise** cette hiérarchie ?
- (2) Quelles sont les **interactions** entre niveaux organisationnels ?
- (3) Comment les changements au niveau **[n+1]** influencent le fonctionnement des niveaux **[n]** et **[n-1]** (ou le contraire) ?

Questions



- (1) Comment **s'organise** cette hiérarchie ?
- (2) Quelles sont les **interactions** entre niveaux organisationnels ?
- (3) Comment les changements au niveau **[n+1]** influencent le fonctionnement des niveaux **[n]** et **[n-1]** (ou le contraire) ?
- (4) Quels sont les **temps de réponses** de ces changements à chaque niveau organisationnel ?

Questions



- (1) Comment **s'organise** cette hiérarchie ?
- (2) Quelles sont les **interactions** entre niveaux organisationnels ?
- (3) Comment les changements au niveau **[n+1]** influencent le fonctionnement des niveaux **[n]** et **[n-1]** (ou le contraire) ?
- (4) Quels sont les **temps de réponses** de ces changements à chaque niveau organisationnel ?
- (5) Temps de réponses **liés** à l'organisation spatiale ?

Questions



- (1) Comment **s'organise** cette hiérarchie ?
- (2) Quelles sont les **interactions** entre niveaux organisationnels ?
- (3) Comment les changements au niveau **[n+1]** influencent le fonctionnement des niveaux **[n]** et **[n-1]** (ou le contraire) ?
- (4) Quels sont les **temps de réponses** de ces changements à chaque niveau organisationnel ?
- (5) Temps de réponses **liés** à l'organisation spatiale ?

Objectifs: développer / tester la théorie des hiérarchies
(O'Neill et al. 1986)

Methodologie?

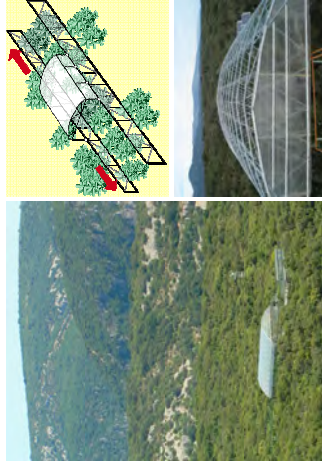


Méthodologie?



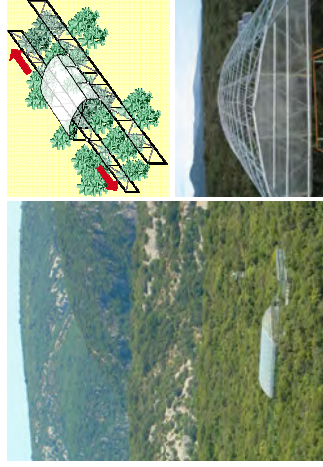
Couplage entre exclusions de précipitations et études de gradient ?

Méthodologie?



- (1) Processus **rapides**: toit mobile
(100% automne 2008 – printemps 2009)

Méthodologie?

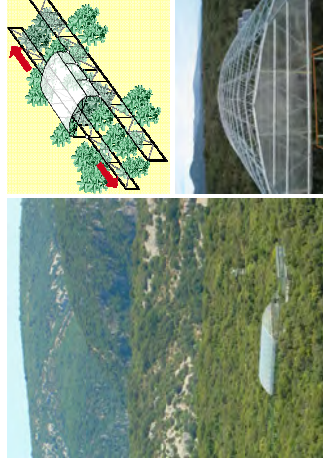


- (1) Processus **rapides**: toit mobile
(100% automne 2008 – printemps 2009)



- (2) Changements à **moyen-terme**: gouttières
(-20% en continu depuis 2003; 6 ans)

Méthodologie?



- (1) Processus **rapides**: toit mobile
(100% automne 2008 – printemps 2009)



- (2) Changements à **moyen-terme**: gouttières
(-20% en continu depuis 2003; 6 ans)

- (3) Acclimatation à **long-terme**: gradient
(1200 mm – 900 mm – 600 mm)



Matériel et méthodes



Variables hydrauliques

PLC	Perte de conductivité hydraulique
Ksini	Conductivité spécifique initiale
Ksmax	Conductivité spécifique maximale
KLini	Conductivité spécifique foliaire initiale
KLmax	Conductivité spécifique foliaire maximale

Matériel et méthodes

Variables hydrauliques

PLC	Perte de conductivité hydraulique
Ksini	Conductivité spécifique initiale
Ksmax	Conductivité spécifique maximale
KLini	Conductivité spécifique foliaire initiale
KLmax	Conductivité spécifique foliaire maximale



Variables foliaires



LA	Surface foliaire totale du rameau
Nf	Nombre de feuilles
LAmean	Surface foliaire individuelle du rameau
Ps-f	Poids sec des feuilles
Ps-f-mean	Poids sec individuel des feuilles
LMA	Masse foliaire divisée par la surface foliaire

Matériel et méthodes

Variables hydrauliques

PLC	Perte de conductivité hydraulique
Ksini	Conductivité spécifique initiale
Ksmax	Conductivité spécifique maximale
KLini	Conductivité spécifique foliaire initiale
KLmax	Conductivité spécifique foliaire maximale

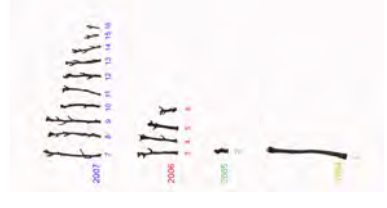


Variables foliaires

LA	Surface foliaire totale du rameau
Nf	Nombre de feuilles
LAmean	Surface foliaire individuelle du rameau
Ps-f	Poids sec des feuilles
Ps-f-mean	Poids sec individuel des feuilles
LMA	Masse foliaire divisée par la surface foliaire

Variables de branches

Lmax	Longueur maximale d'un rameau
Nr	Nombre de rameaux
Ltot	Longueur totale de rameaux
Lmean	Longueur moyenne d'un rameau
Ps-r	Poids sec total des rameaux
Ps-r-mean	Poids sec moyen d'un rameau
Densité	Densité du bois
Diamètre	Diamètre
HV	Huber Value = aire de xylème / LA





Variabilité intra-arbre ?

- (1) Amplitude des variations ?
- (2) Principaux facteurs expliquant cette variabilité ?

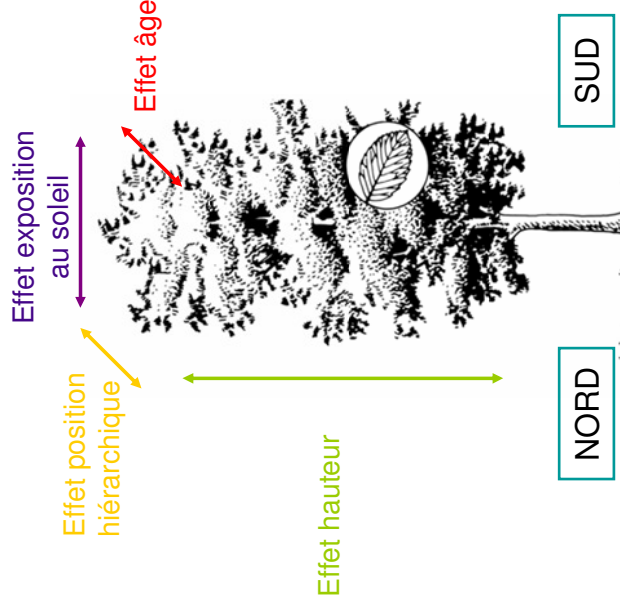


Matériel et méthodes

Variabilité intra-arbre ?

- (1) Amplitude des variations ?
- (2) Principaux facteurs expliquant cette variabilité ?

- Effet hauteur (haut vs bas)
- Effet position hiérarchique (apical vs latéral)
- Effet orientation (nord vs sud)
- Effet âge (2007 vs 2008)



Résultats



1. Etude de la variabilité intra-arbre du chêne vert

Résultats

1. Etude de la variabilité intra-arbre du chêne vert

Forte variabilité intra-arbre

Âge : affecte toutes les variables

Hauteur : variables foliaires / branches

Orientation : variables hydrauliques

	Effet hauteur (haut → bas)	Effet position (apical → latéral)	Effet orientation (nord → sud)	Effet âge (2007 → 2008)
Variables hydrauliques	PLC	0.013 * (↘)	0.007 ** (↘)	<0.001 *** (↘)
	Ksini	0.239 ns	0.160 ns	<0.001 *** (↘)
	Ksmax	0.867 ns	0.491 ns	0.014 * (↘)
	KLini	0.838 ns	0.590 ns	0.002 ** (↘)
	KLmax	0.696 ns	0.780 ns	0.009 ** (↘)
Variables foliaires	LA	0.402 ns	0.043 ns	<0.001 *** (↘)
	Nf	<0.001 *** (↘)	0.040 * (↘)	<0.001 *** (↘)
	LAmean	<0.001 *** (↘)	0.926 ns	0.491 ns
	Ps-f	0.027 * (↘)	0.043 * (↘)	0.539 ns
	Ps-f.mean	<0.001 *** (↘)	1.000 ns	0.258 ns
	LMA	<0.0001 *** (↘)	0.724 ns	0.423 ns
	Lmax	0.105 ns	0.763 ns	0.017 * (↘)
Variables des branches	Nr	0.002 ** (↘)	0.162 ns	0.299 ns
	Ltot	0.239 ns	0.678 ns	0.052 ns
	Lmean	0.005 ** (↘)	0.228 ns	0.534 ns
	Ps-r	0.001 *** (↘)	0.009 ** (↘)	0.001 ** (↘)
	Ps-r.mean	0.546 ns	0.318 ns	0.638 ns
	Densité	0.171 ns	0.080 ns	0.341 ns
	Diamètre	<0.001 *** (↘)	0.086 ns	0.030 * (↘)
	HV	0.102 ns	0.080 ns	0.341 ns
				0.498 ns
				0.780 ns
			<0.001 *** (↘)	
			0.138 ns	

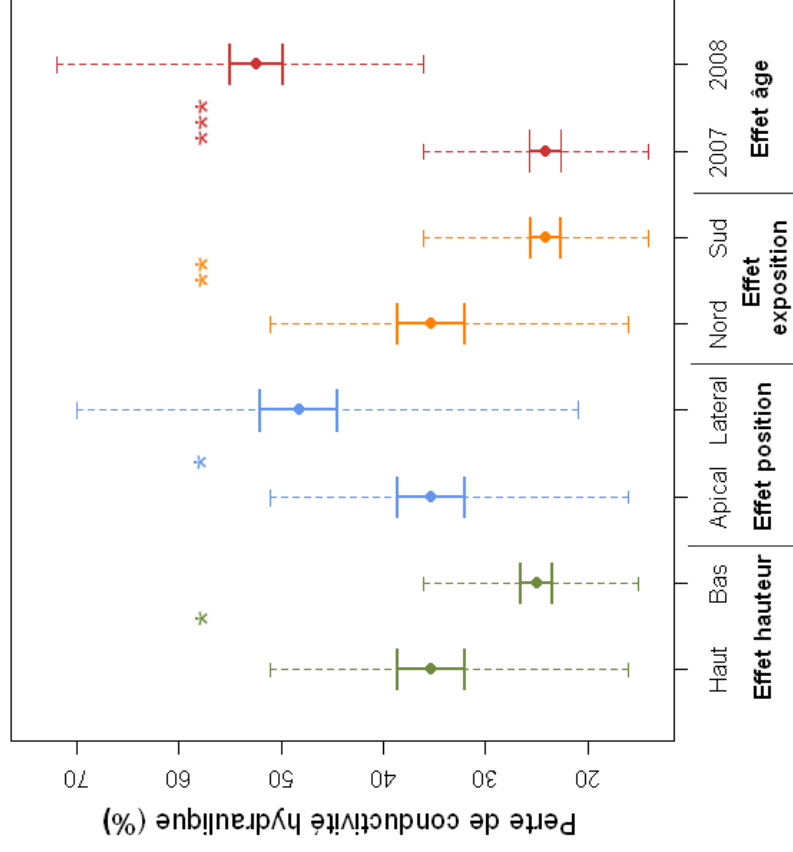
ns : p > 0.05 ; * : p < 0.05 ; ** : p < 0.01 ; *** : p < 0.001



Résultats

1. Etude de la variabilité intra-arbre du chêne vert

Forte variabilité intra-arbre

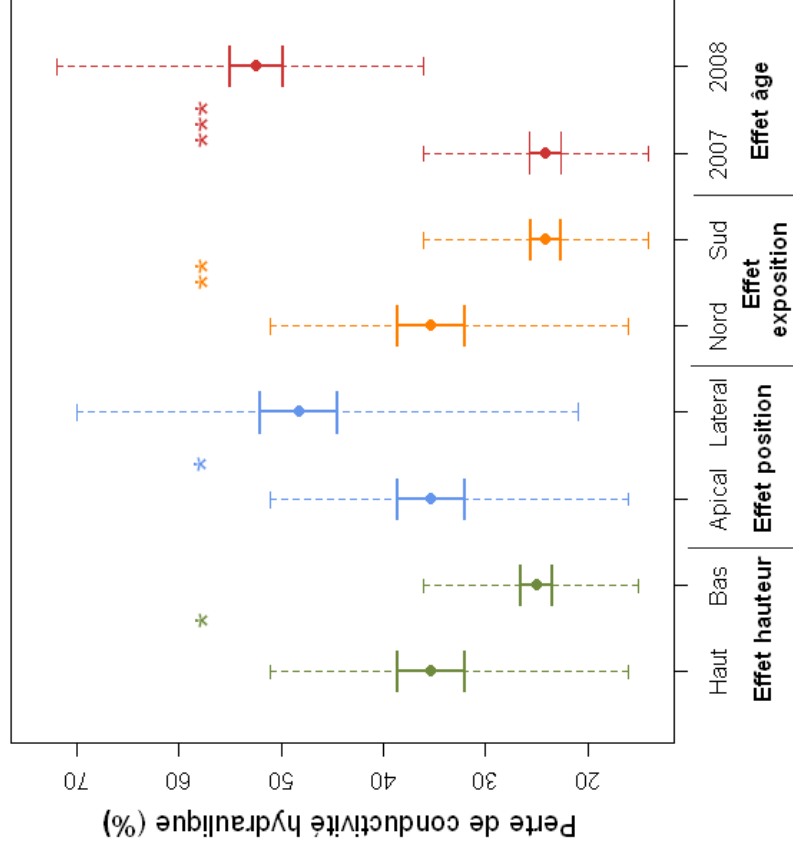




Résultats

1. Etude de la variabilité intra-arbre du chêne vert

Forte variabilité intra-arbre

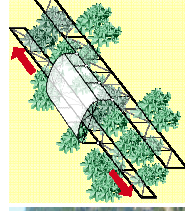
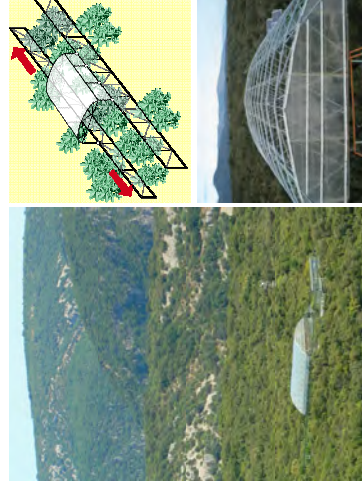


→ Echantillonnage !!!
hauteur, position,
exposition, âge fixé

Résultats



2 (a) Réponse à **court terme**: toit mobile





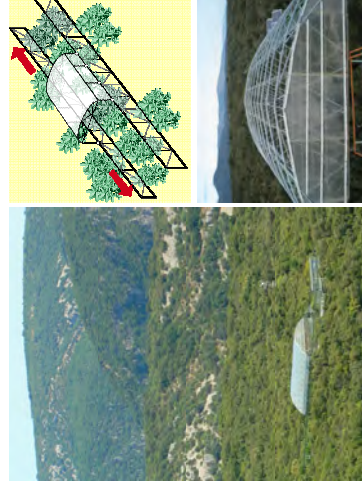
Résultats

2 (a) Réponse à court terme: toit mobile

Exclusion d'automne 2008

	Effet traitement			p-value
	parcelle contrôle	parcelle sèche		
Variables hydrauliques	PLC	47.1 ± 3.7	42.2 ± 5.7	0.483 ns
	Ksini	7.3 ± 0.6*10 ⁷	9.5 ± 1.4*10 ⁷	0.134 ns
	Ksmax	1.5 ± 0.2*10 ⁸	1.8 ± 0.3*10 ⁸	0.302 ns
	KLini	531.0 ± 49.0	639.7 ± 123.8	0.541 ns
	KLmax	1026.3 ± 88.8	1228.0 ± 334.9	0.914 ns
	LA	25 ± 2.3*10 ³	29.9 ± 4.2*10 ³	0.231 ns
Variables foliaires	Nf	130.7 ± 12.7	163.3 ± 30.9	0.253 ns
	LAmean	195.7 ± 10.4	193.3 ± 19.6	0.747 ns
	Ps-f	6.2 ± 0.5	7.2 ± 1.1	0.407 ns
	Ps-f-mean	4.9 ± 0.2*10 ⁻²	4.7 ± 0.5*10 ⁻²	0.541 ns
	LMA	248.7 ± 2.9	240.5 ± 8.9	0.329 ns
	Lmax	16.5 ± 0.9	16.0 ± 1.3	1 ns
Variables des branches	Nr	13.4 ± 0.9	12.2 ± 0.8	0.413 ns
	Ltot	68.9 ± 5.1	60.6 ± 3.6	0.417 ns
	Lmean	5.1 ± 0.3	5.0 ± 0.2	0.685 ns
	Ps-r	2.8 ± 0.2	2.7 ± 0.1	1 ns
	Ps-r-mean	0.21 ± 0.02	0.23 ± 0.02	0.449 ns
	Densité	0.945 ± 0.004	0.945 ± 0.005	0.693 ns
	Diamètre	0.46 ± 0.01	0.49 ± 0.02	0.196 ns
	HV	7.6 ± 0.8*10 ⁻⁶	6.9 ± 0.9*10 ⁻⁶	0.838 ns

- Aucune différence entre parcelles



ns : p > 0.05 ; * : p < 0.05 ; ** : p < 0.01 ; *** : p < 0.001



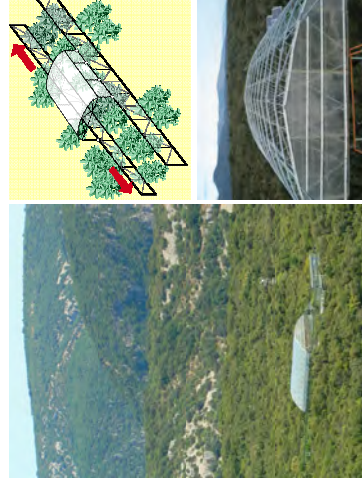
Résultats

2 (a) Réponse à court terme: toit mobile

Exclusion d'automne 2008

	Effet traitement		
	parcelle contrôle	parcelle sèche	p-value
Variables hydrauliques			
PLC	47.1 ± 3.7	42.2 ± 5.7	0.483 ns
Ksini	7.3 ± 0.6*10 ⁷	9.5 ± 1.4*10 ⁷	0.134 ns
Ksmax	1.5 ± 0.2*10 ⁸	1.8 ± 0.3*10 ⁸	0.302 ns
KLini	531.0 ± 49.0	639.7 ± 123.8	0.541 ns
KLmax	1026.3 ± 88.8	1228.0 ± 334.9	0.914 ns
Variables foliaires			
LA	25 ± 2.3*10 ³	29.9 ± 4.2*10 ³	0.231 ns
Nf	130.7 ± 12.7	163.3 ± 30.9	0.253 ns
LAmean	195.7 ± 10.4	193.3 ± 19.6	0.747 ns
Ps-f	6.2 ± 0.5	7.2 ± 1.1	0.407 ns
Ps-f-mean	4.9 ± 0.2*10 ⁻²	4.7 ± 0.5*10 ⁻²	0.541 ns
LMA	248.7 ± 2.9	240.5 ± 8.9	0.329 ns
Variables des branches			
Lmax	16.5 ± 0.9	16.0 ± 1.3	1 ns
Nr	13.4 ± 0.9	12.2 ± 0.8	0.413 ns
Ltot	68.9 ± 5.1	60.6 ± 3.6	0.417 ns
Lmean	5.1 ± 0.3	5.0 ± 0.2	0.685 ns
Ps-r	2.8 ± 0.2	2.7 ± 0.1	1 ns
Ps-r-mean	0.21 ± 0.02	0.23 ± 0.02	0.449 ns
Densité	0.945 ± 0.004	0.945 ± 0.005	0.693 ns
Diamètre	0.46 ± 0.01	0.49 ± 0.02	0.196 ns
HV	7.6 ± 0.8*10 ⁻⁶	6.9 ± 0.9*10 ⁻⁶	0.838 ns

ns : p > 0.05 ; * : p < 0.05 ; ** : p < 0.01 ; *** : p < 0.001



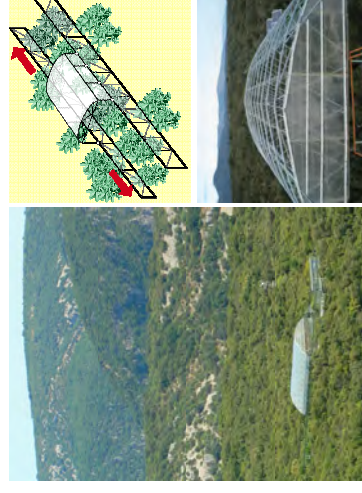
- Aucune différence entre parcelles

- Différence de 0.8 MPa
- Absence de pluie: août, sept. et oct. (1:25 ans) !!!
- 300 mm de pluie du 1^{er} au 2 nov !!!



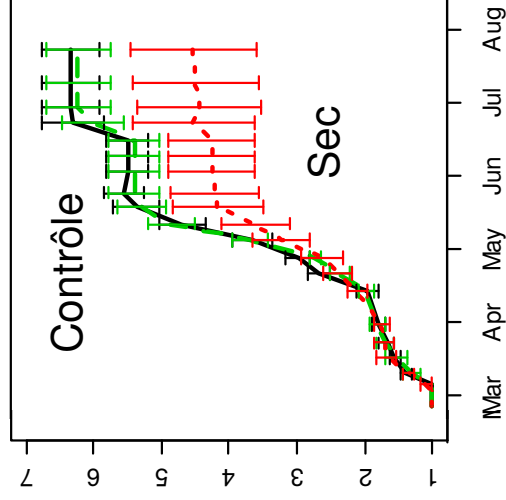
Résultats

2 (a) Réponse à **court terme**: toit mobile



Exclusion de printemps 2009

Stade phénologique



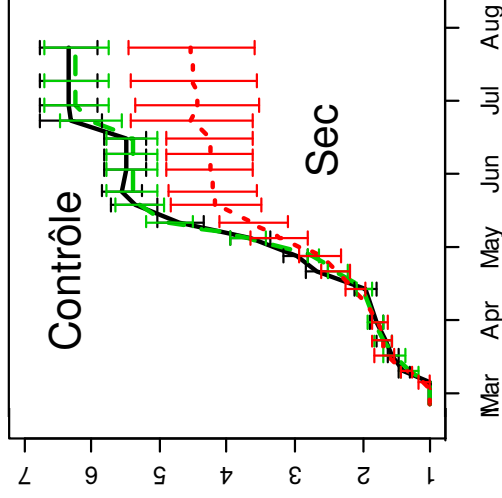
2009

Résultats

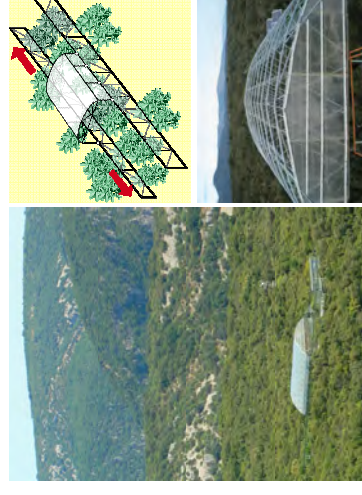
2 (a) Réponse à court terme: toit mobile

Exclusion de printemps 2009

Stade phénologique



2009



- Réduction « préventive » de surface foliaire:
→ conservation de l'eau
- Hydraulique ?
- Vieillesse de la canopée,...



Résultats

2 (b) Changements à **moyen terme**: exclusion continue de 20%



Résultats

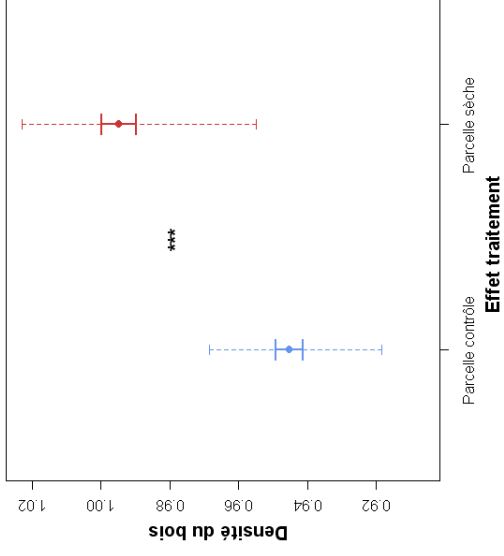
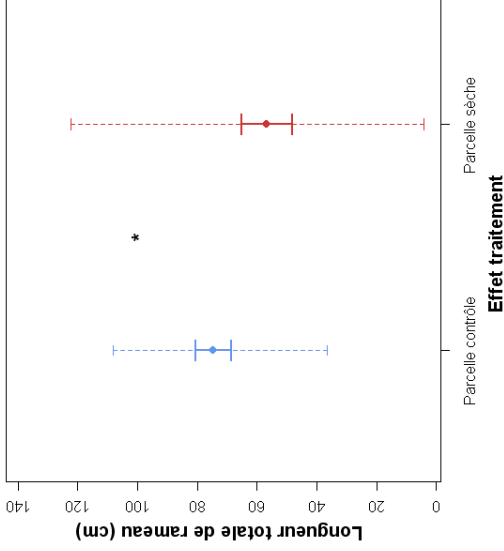
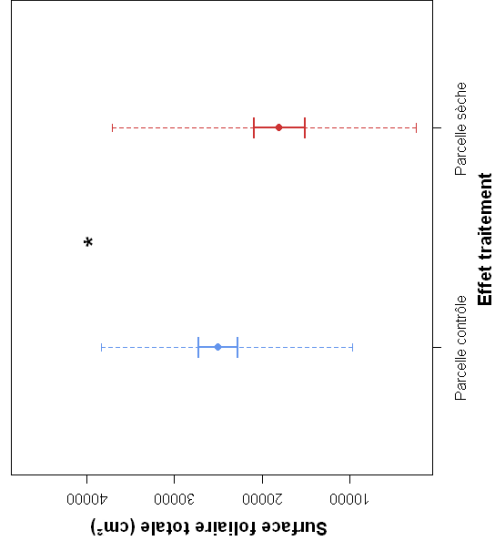


2 (b) Changements à **moyen terme**: exclusion continue de 20%

- Aucune variation de la PLC
- KL \nearrow due à une \searrow de LA (huber value augmente)
- de LA due à une tendance à \searrow de Nf
- Ps-f \searrow due à une \searrow de Nf
- LMA constant

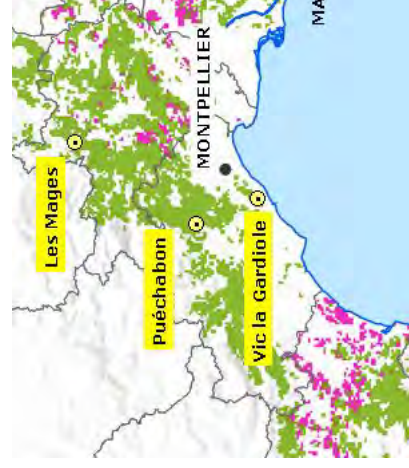


- \searrow de la ramification: Ltot \searrow due à \searrow Nr
- \nearrow de la densité du bois



Résultats

2 (c) Acclimatation à **long terme**: gradient (1200 mm – 600mm)

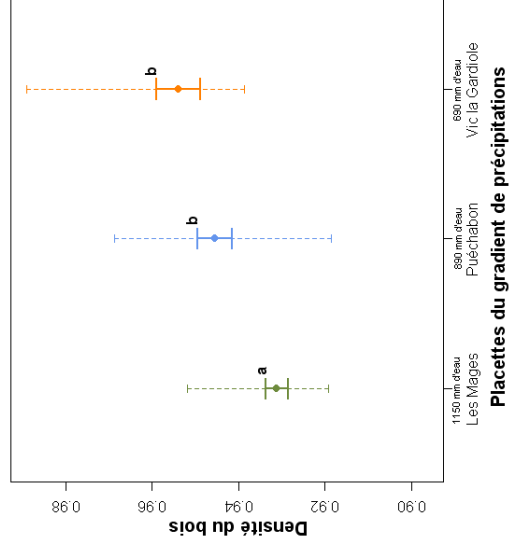
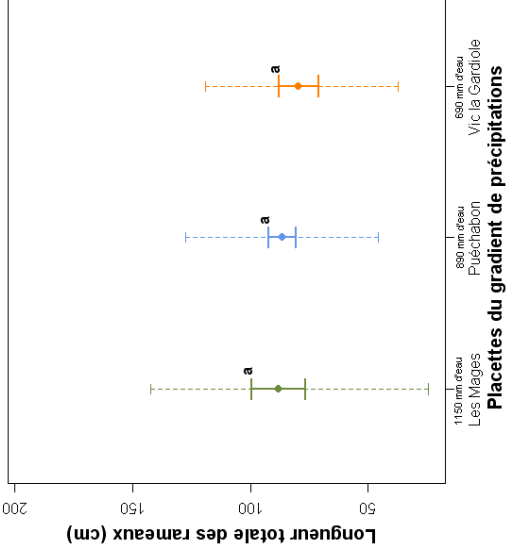
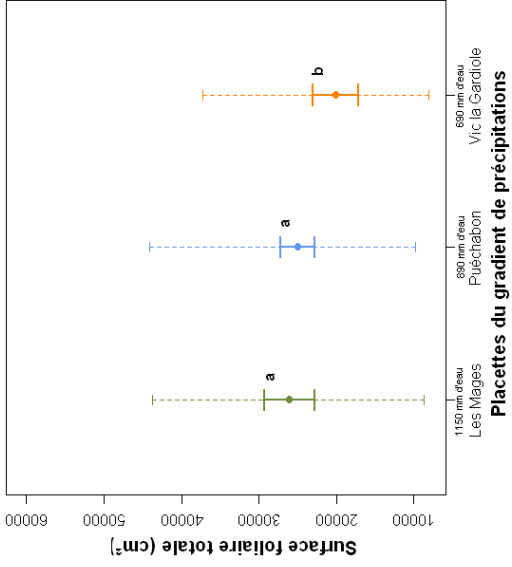
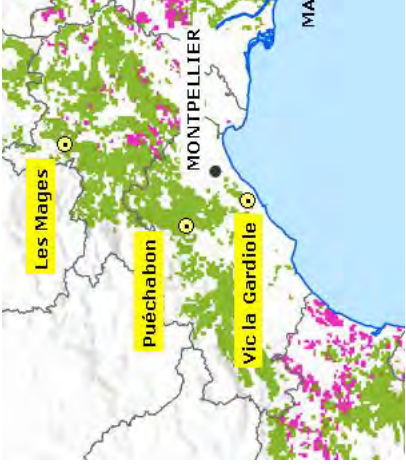


Résultats

2 (c) Acclimatation à long terme: gradient (1200 mm – 600mm)

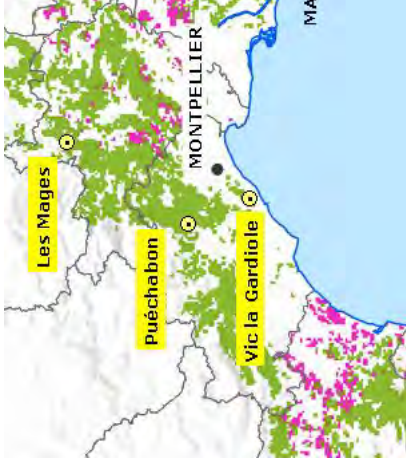
Similitudes avec l'exclusion -20%

- ↘ de LA, de Nf et de Ps-f
- tendance à la ↘ de Ltot, Nr et Ps-r
- ↗ de la densité du bois des rameaux



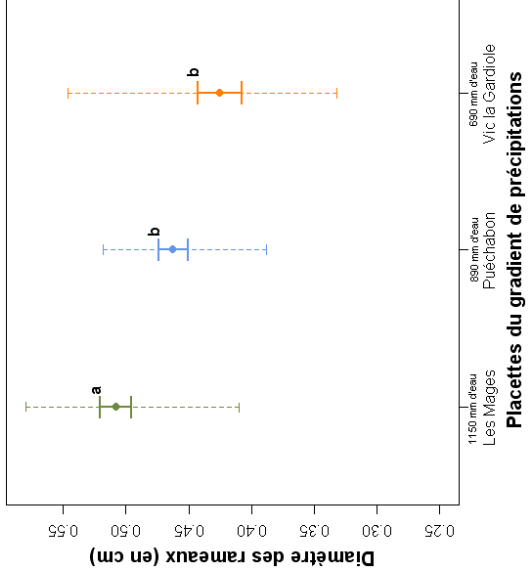
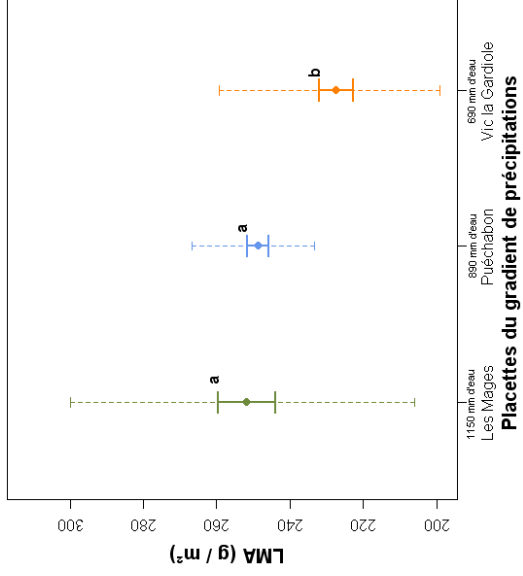
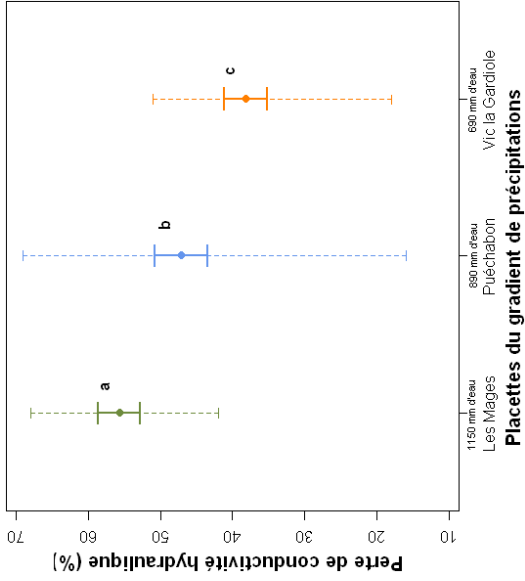
Résultats

2 (c) Acclimatation à long terme: gradient (1200 mm – 600mm)



Différences avec l'exclusion -20%

- Forte variation de la PLC entre placettes: ↘ dans le sec
- Aucune variation des autres paramètres hydrauliques
- ↘ du LMA
- ↘ du diamètre des rameaux: huber value est constante



Résumé



(1) Réduction très rapide de la surface foliaire : nombre de feuille (coûts?)

Résumé



(1) Réduction très rapide de la surface foliaire : nombre de feuille (coûts?)

(2) Diminution plus lente de la surface conductrice

1^{er} temps: Huber value augmente

2^{ème} temps: Huber value reste constante (Shinozaki 1962, pipe model)

Résumé



- (1) Réduction très **rapide** de la surface foliaire : nombre de feuille (coûts?)
- (2) Diminution plus **lente** de la surface conductrice
 - 1^{er} temps: Huber value augmente
 - 2^{ème} temps: Huber value reste constante (Shinozaki 1962, pipe model)
- (3) **Long-terme**: moins perte de conductivité (PLC) dans le sec?

Résumé



(1) Réduction très rapide de la surface foliaire : nombre de feuille (coûts?)

(2) Diminution plus lente de la surface conductrice

1^{er} temps: Huber value augmente

2^{ème} temps: Huber value reste constante (Shinozaki 1962, pipe model)

(3) Long-terme: moins perte de conductivité (PLC) dans le sec?

Effets conjugués: 1. ↘ d'indice foliaire (conservation de l'eau)

2. ↘ de surface conductrice (conservation de l'eau)

3. ↗ de densité du bois (résistance?)

Résumé



(1) Réduction très **rapide** de la surface foliaire : nombre de feuille (coûts?)

(2) Diminution plus **lente** de la surface conductrice

1^{er} temps: Huber value augmente

2^{ème} temps: Huber value reste constante (Shinozaki 1962, pipe model)

(3) **Long-terme**: moins perte de conductivité (PLC) dans le sec?

Effets conjugués: 1. ↘ d'indice foliaire (conservation de l'eau)

2. ↘ de surface conductrice (conservation de l'eau)

3. ↗ de densité du bois (résistance?)

(4) Modification de la **ramification** : nombre de rameaux (coûts?)

Résumé



(1) Réduction très **rapide** de la surface foliaire : nombre de feuille (coûts?)

(2) Diminution plus **lente** de la surface conductrice

1^{er} temps: Huber value augmente

2^{ème} temps: Huber value reste constante (Shinozaki 1962, pipe model)

(3) **Long-terme**: moins perte de conductivité (PLC) dans le sec?

Effets conjugués: 1. ↘ d'indice foliaire (conservation de l'eau)

2. ↘ de surface conductrice (conservation de l'eau)

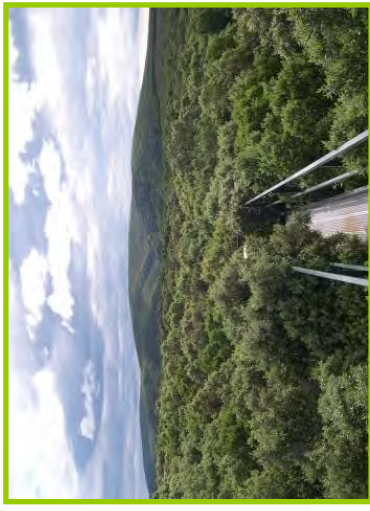
3. ↗ de densité du bois (résistance?)

(4) Modification de la **ramification** : nombre de rameaux (coûts?)

(5) Impacts sur le **fonctionnement physiologique foliaire**? Nicolas Martin



Merci de votre attention



**Which role for C metabolism in growth
response to soil water deficit ?
An integrated perspective in the model
plant Arabidopsis thaliana**

Bertrand Muller



LEPSE

**Irène Hummel
Florent Pantin
Gaëlle Rolland
Myriam Dauzat**

MPI-MP Goim

**Yves Gibon
Mark Stitt
Maria Piques
Ronan Sulpice**

***Arabidopsis* as a model for drought tolerance**



***Arabidopsis thaliana* can grow where
no other plant does**



Koornneef et al.,
2004

***Largely distributed in the
northern hemisphere in
ranges of natural habitats***

A bunch of questions regarding C metabolism and drought

Several growth models are C based → are they relevant under WD ?

Is C metabolism driving growth ? Or is growth driving C metabolism ?

Is growth of stressed plants source or sink limited ?

What is the cost (C derivation) of osmotic adjustment ?

Modification of C metabolism under WD :

What are they at different level (metabolites – enzymes – genes) ?

Is there deep re-programming of C metabolism ?

C metabolism and water deficit in the litterature : no clear picture

Are water stressed plants under C shortage ?

- less C assimilated (stomatal closure)
- more C allocated to non photosynthesizing structures (roots)
(Sharp and Davies 1989)
- down regulation Pn
(Farquar and Sharkey 1982; Cornic et al., 1989)

C molecules stacked in the vacuole for osmoregulation ?

(Clifford et al., 1998)

C supply increases tolerance to water deficit (CO₂, sugars)

(Widodo et al., 2003; McLaughling and Boyer, 2004)

Independence of leaf growth response to WD and light intensity

(Tardieu et al., 2000; Sadok et al., 2007)

Favourable role of C metabolism under WD

(Kim et al., 2000, maize INV; Quick et al., 1989 SPS)

Favourable role of C-N molecules (Proline, glycine betaine) as

C metabolism and water deficit in the litterature :
often biased picture due to focus on few metabolites / pathways (eg
proline) and biased methods for imposing water deficit

A plea to use unbiased methods to impose WD → Phenopsis

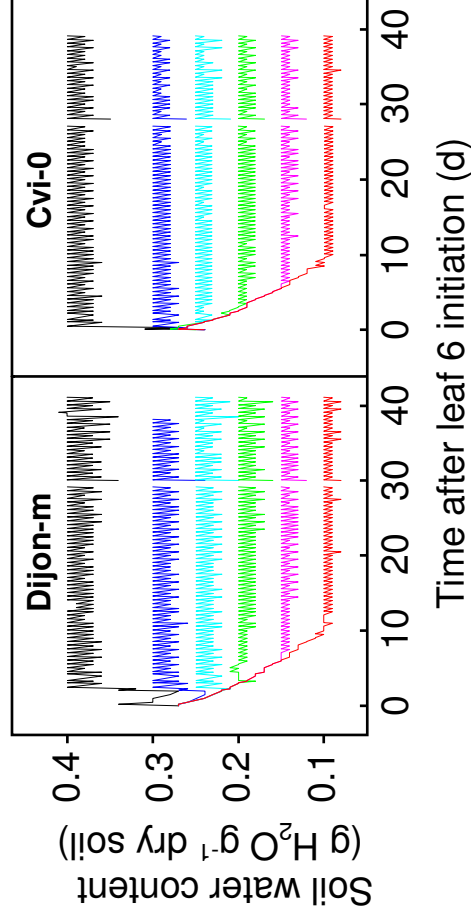
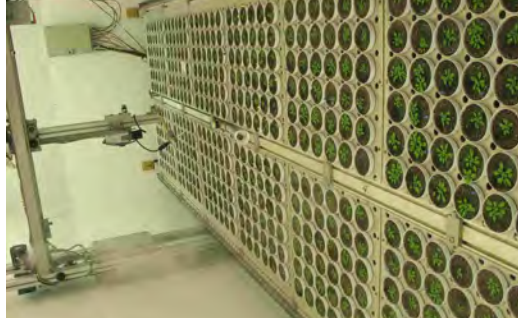
automaton

A plea to use untargeted view of C metabolism → large scale enzyme
activities platform (Gibon et al 2004) + metabolites + gene expression

PHENOPS

An automated platform for imposing reproducible water deficits and monitoring leaf phenotypes

- Target soil water deficit based on Y- J curves
- Weighing and watering 500 pots / day / robot
- 3 robots at work
- Capacity of 400 genotypes / year



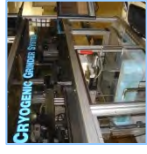
<http://bioweb.supagro.inra.fr/phenopsis/>

Granier et al. 2006 New Phytol

MOLECULAR PHENOTYPING

A robot-based platform for enzymes metabolites and genes

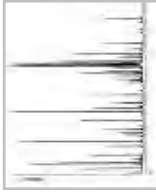
Cryo sampling



Enzymes



Metabolites

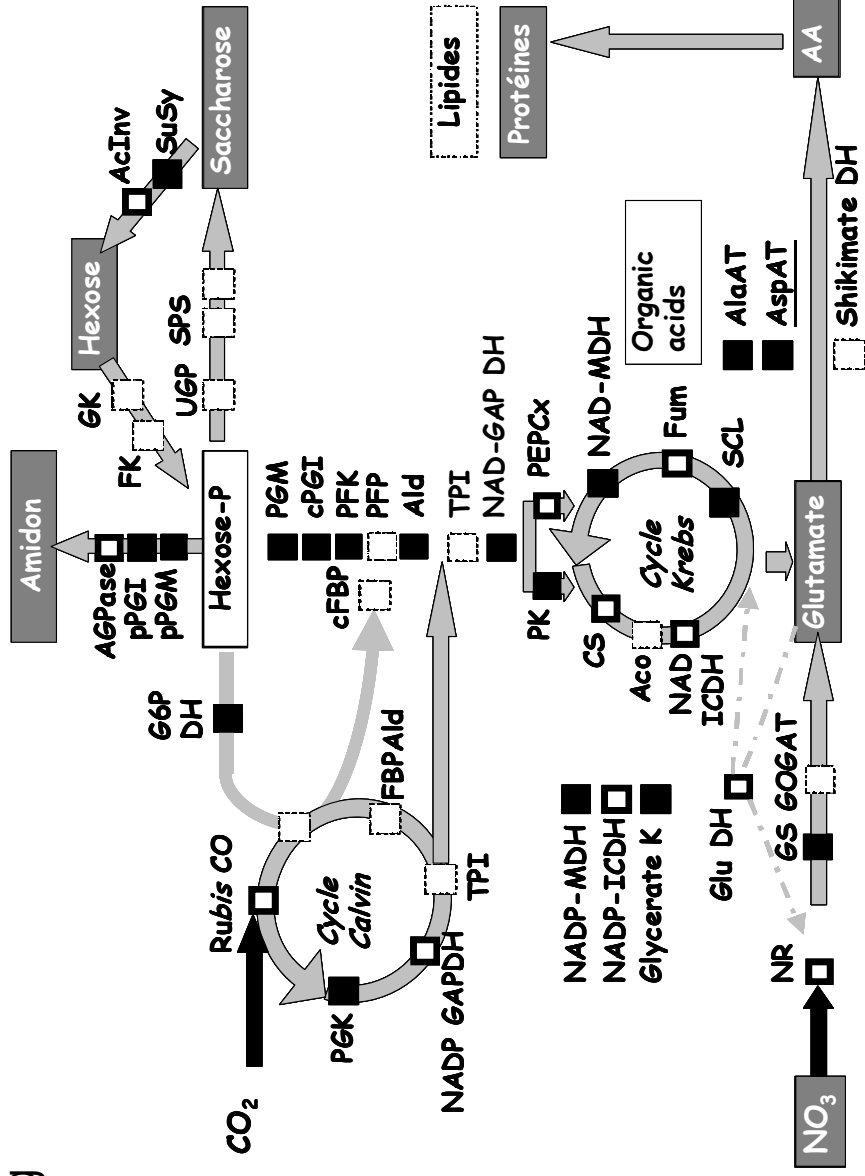


QPCR



40 enzyme activities of the central metabolism
 30 are retained (based on CV%)
 10 metabolites

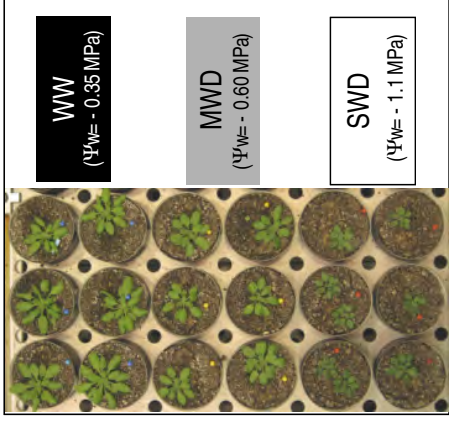
Sugar responsive genes (C status)



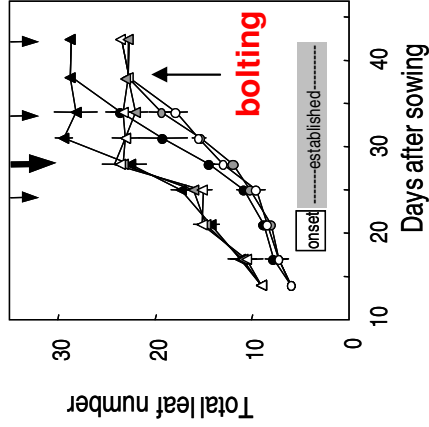
Gibon et al. 2004 Plant Cell

Water deficit impairs growth but not photosynthesis

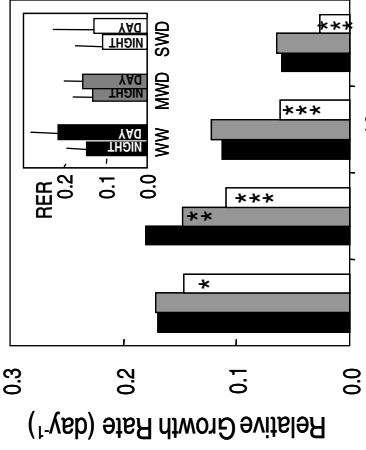
→ C status improved ?



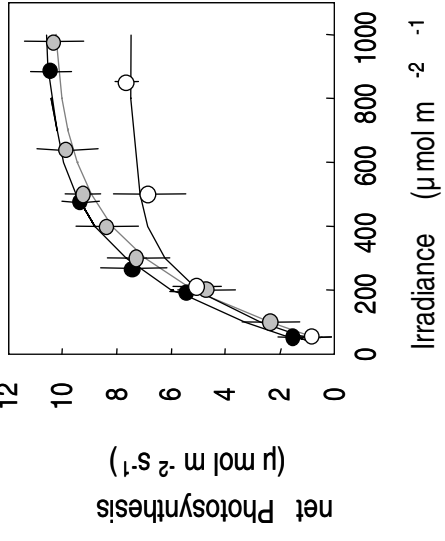
Harvest at 7, 10, 16 and 24 days after stress onset



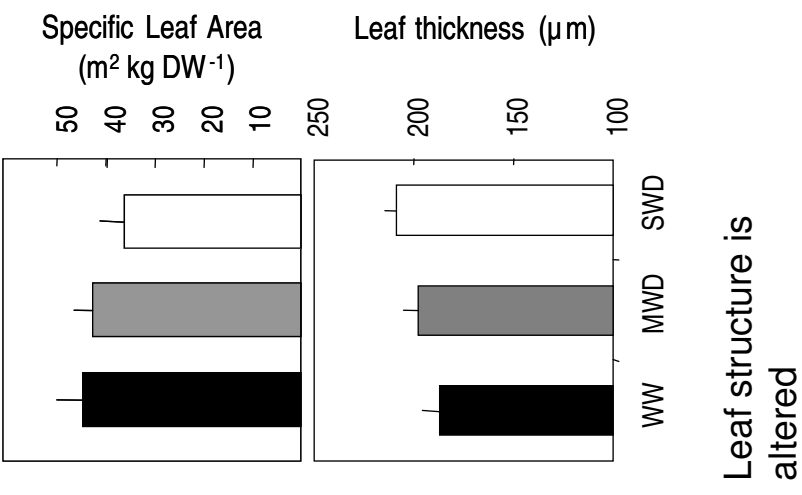
Reduced total leaf # and emergence is slowed down but flowering



RGR is reduced as well as day RER



Pn is maintained even at severe WD



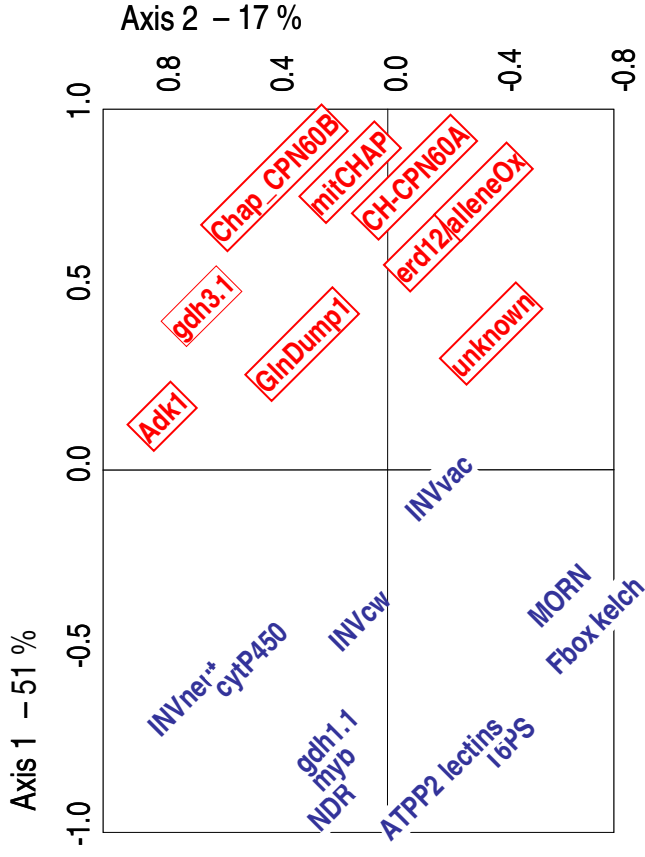
C metabolism responds to sugar starvation → markers

The Plant Cell, Vol. 17, 3257-3281, December 2005, www.plantcell.org © 2005 American Society of Plant Biologists

Sugars and Circadian Regulation Make Major Contributions to the Global Regulation of Diurnal Gene Expression in *Arabidopsis*

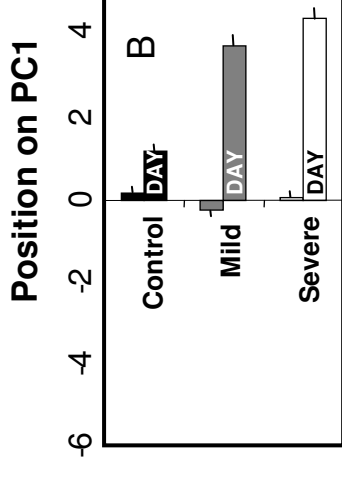
Oliver E. Bläsing,^{a,1} Yves Gibon,^a Manuela Günther,^a Melanie Höhne,^a Rosa Morcuende,^b Daniel Osuna,^a Oliver Thimm,^a Björn Usadel,^a Wolf-Rüdiger Scheible,^a and Mark Stitt^a

Genome wide analysis → several other markers of C status



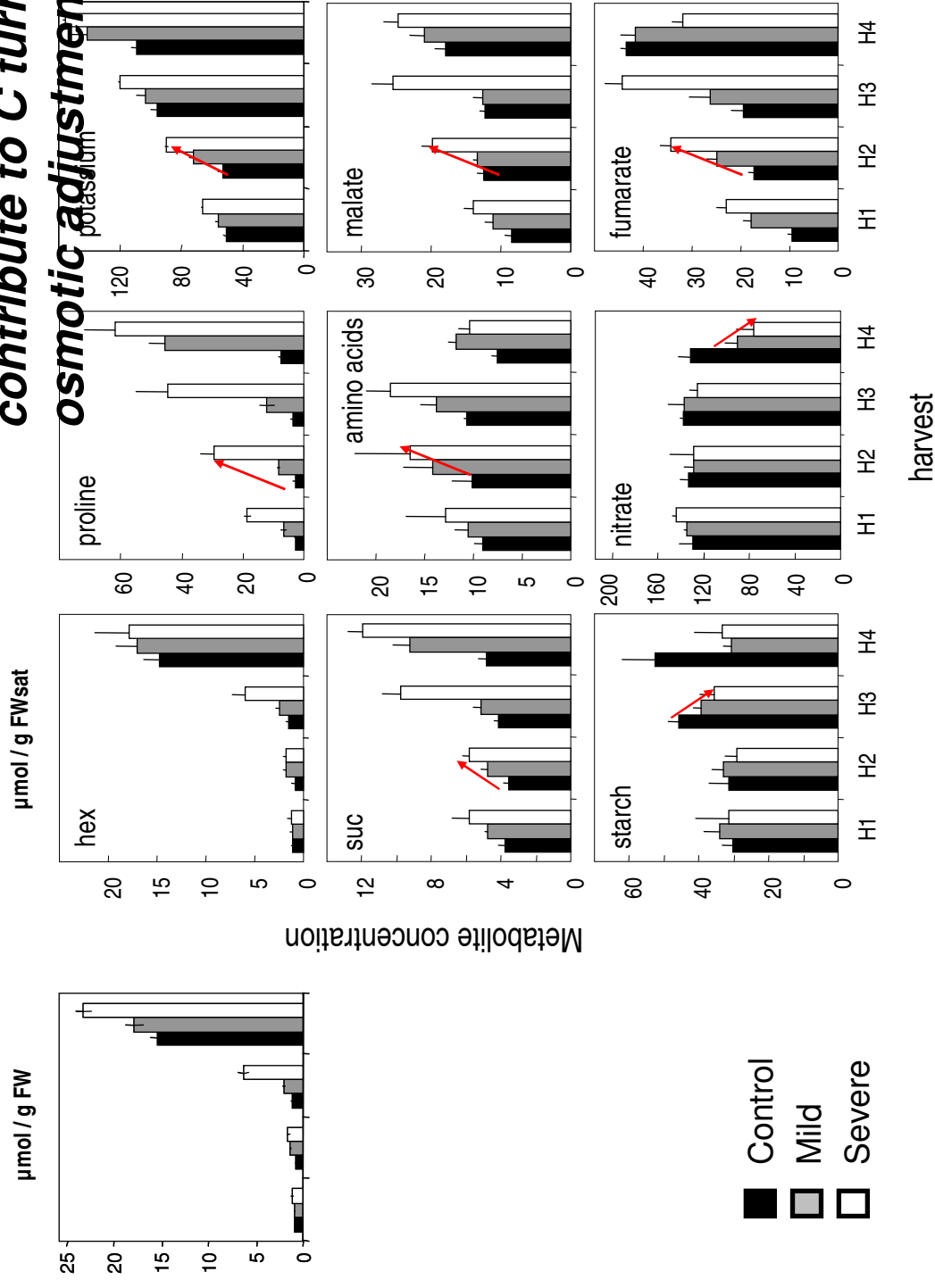
up regulated by starvation

down regulated by starvation



→ Water deficit improved C status by days

Increases in metabolite concentrations → How do these molecules contribute to C turnover ? to osmotic adjustment ?

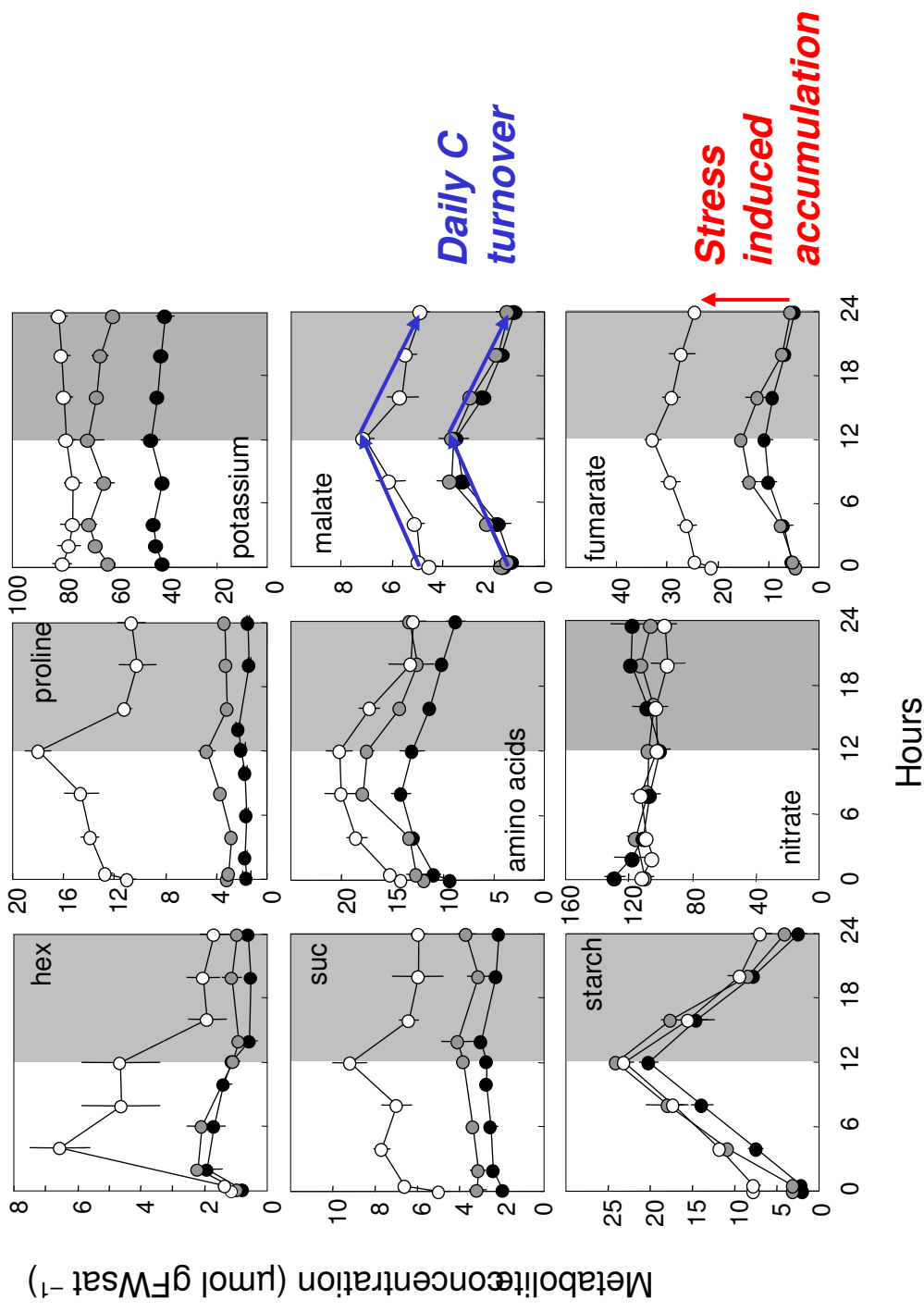


Rosettes were harvested at the end of the day after 7, 10, 16 and 24 days of water stre

Dayly variation in metabolite concentrations

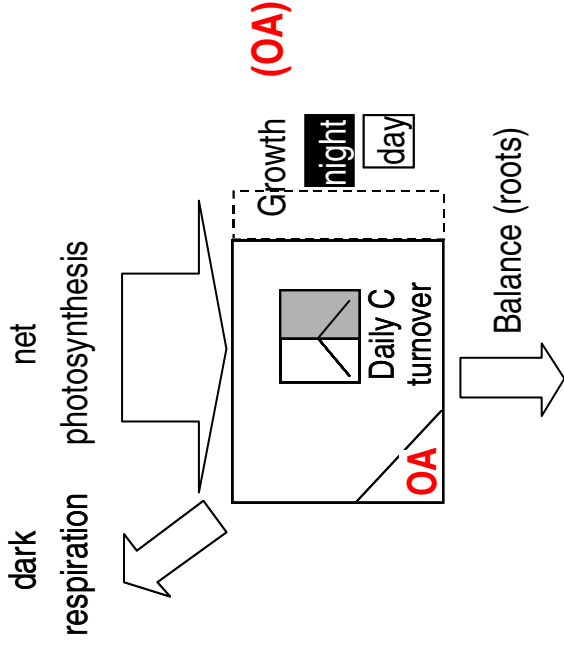
Dual role for C molecules

- as **daily C storage** (incl amino acids, org acids)
- as component of **osm adjustment**

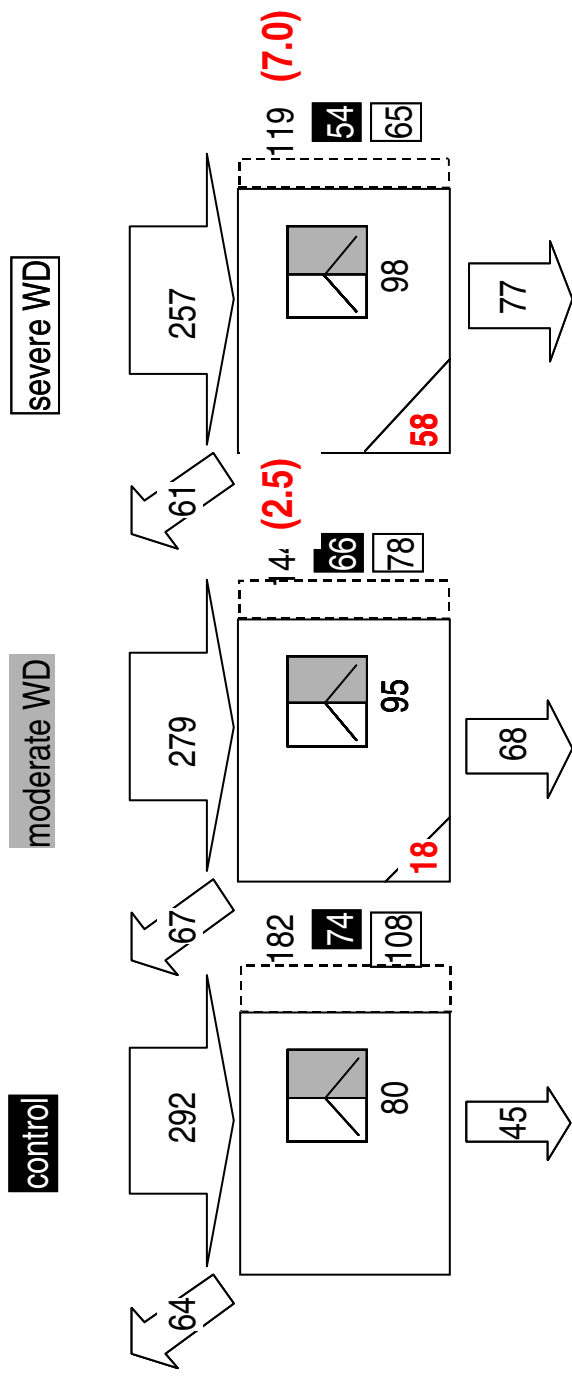


C balance under WD

- slight \downarrow of Pn
- maintenance of Rd
- increase in C turnover
- decreased C demand for shoot growth
- increase in C export to roots
- osm adjustment at low cost

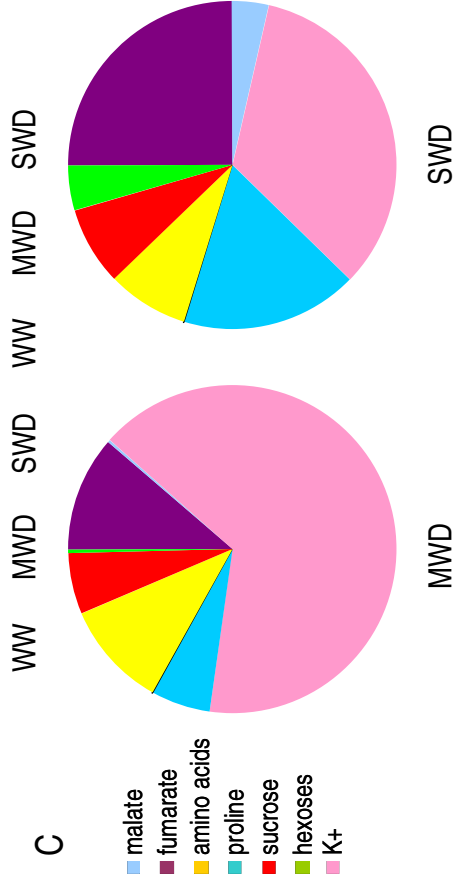
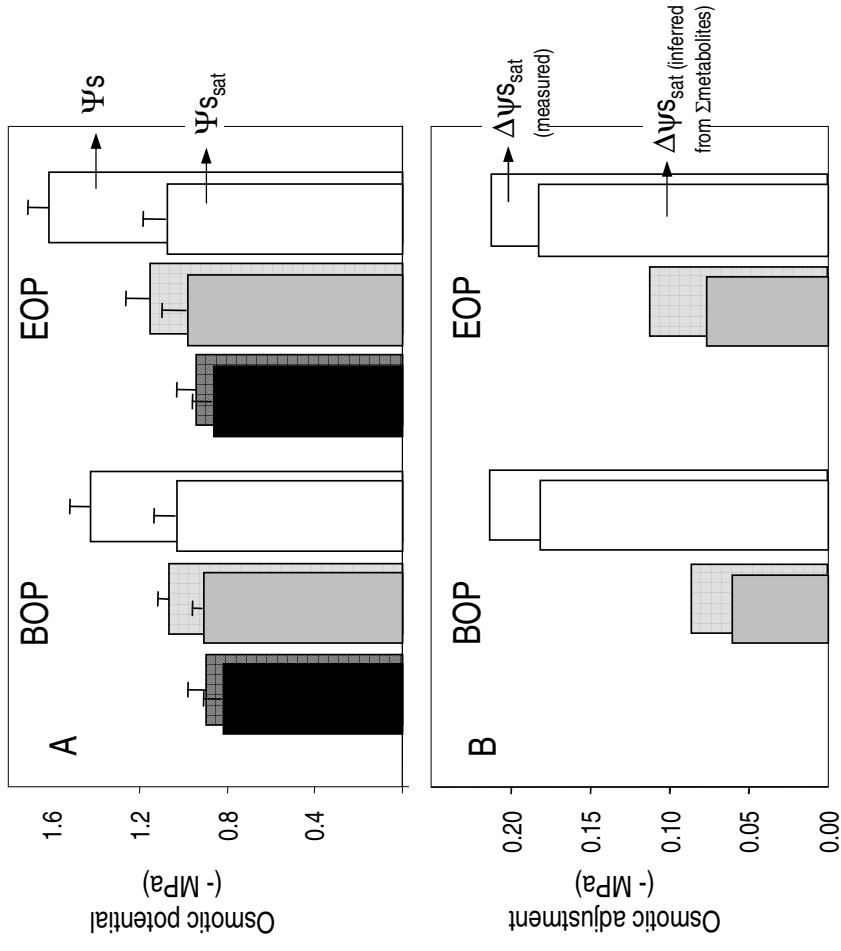


All values at 28 DAS in mg equivalent CHO $g_{DW}^{-1} day^{-1}$



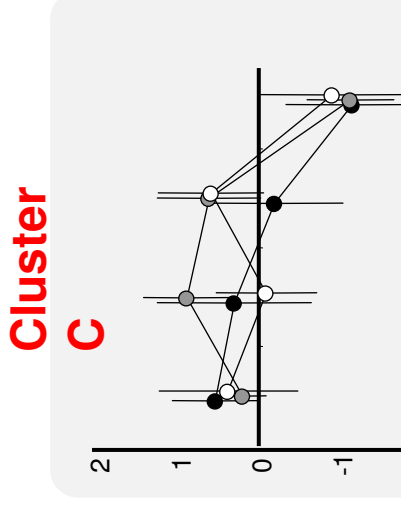
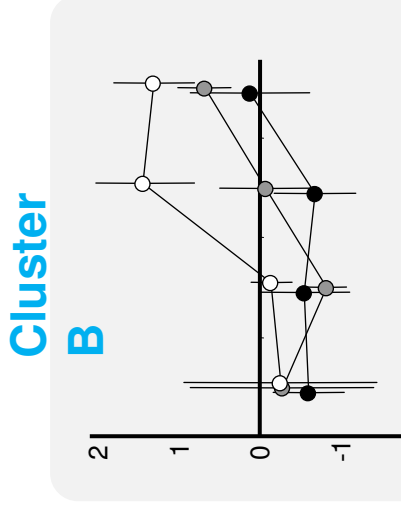
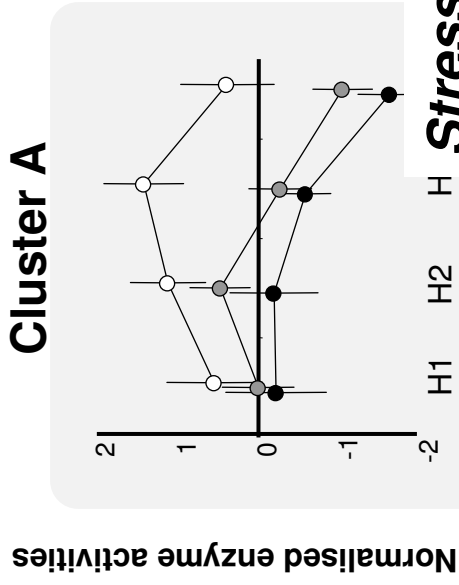
Osmotic adjustment under WD

- huge variations of OP
- a great proportion accounted for by RWC reduction
- metabolites making major contribution were captured
- Organic acid and proline contribute to OA
- K⁺ was counter ion

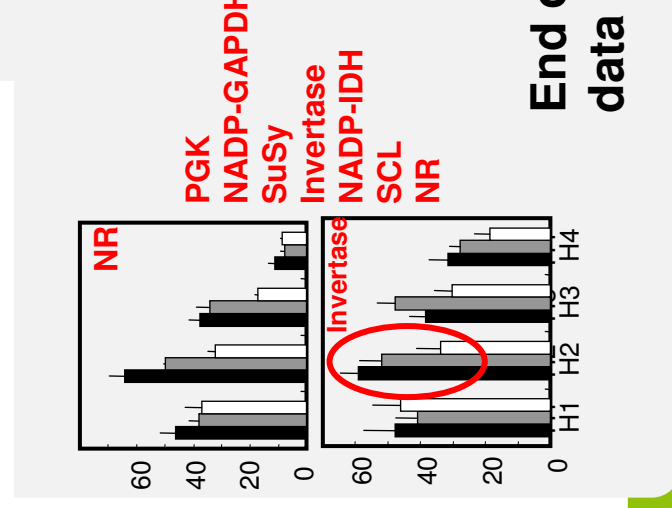
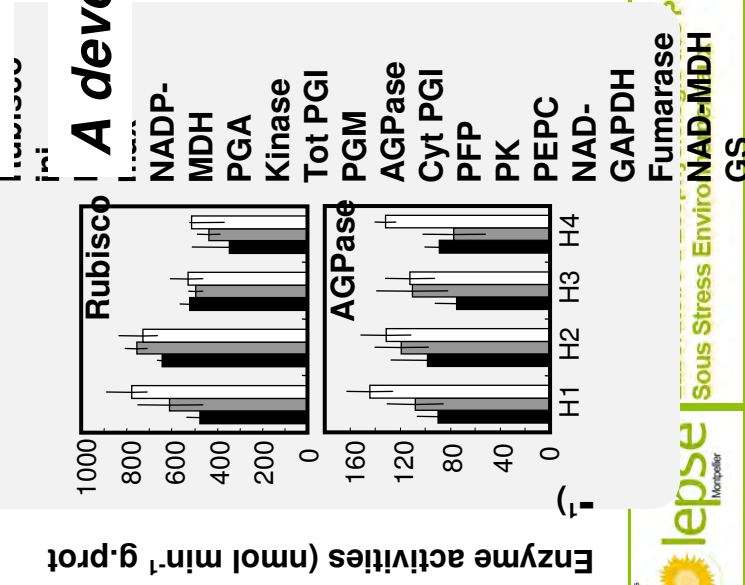


→ How these metabolic changes were achieved enzymatically ?

No sign of massive reprogramming of C metabolism in response to water deficit

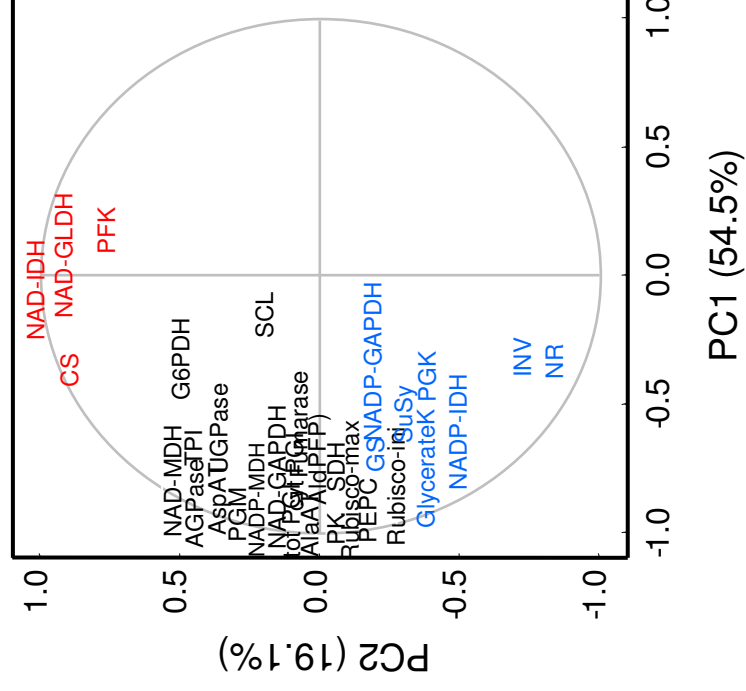
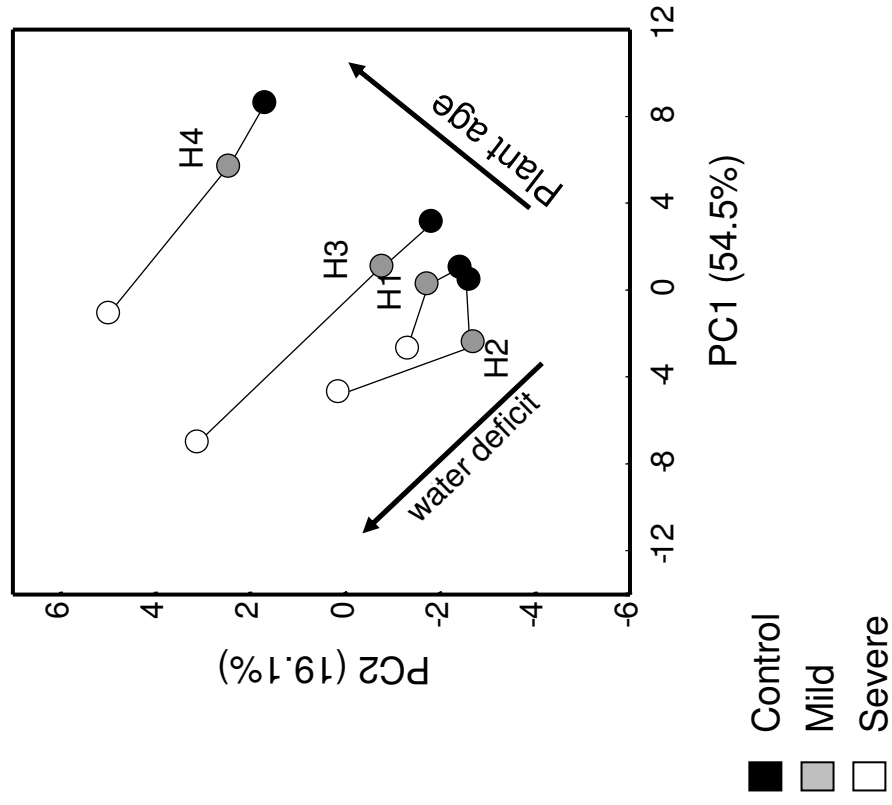


Stress effect in early stages is low and \nearrow with time



End of day data

Slow drift in enzyme activities with development and increase of stress effect with plant age



OUTLOOK

- Water deficit does not lead to C-depletion. By contrast, we observed the opposite with a set of metabolites accumulating and markers for C-starvation (enzymes, genes) going down
- Growth decreases more than photosynthesis which contributes to increase root export and then decrease shoot growth
- Several metabolites have a **dual role** as transient stores for C and as contributors to osmotic adjustment under drought
- The organic component of the **osmotic adjustment** costs little of the daily C balance
- No in-depth reprogramming** of the machinery of central metabolism was necessary for these adjustments.

Water transport in roots and leaves

A stable isotope perspective

J. Ogee¹, L. Wingate¹, J. Jouanguy¹, A. Bosc¹, M. Sartore¹, D. Bert¹, C. Lambrot¹
K. Maseyk², P. Biron², P. Richard², T. Bariac²

Mark Bakker³

Bernard Genty⁴

¹ *Inra-Ephyse, Villenave d'Ornon, France*

² *Inra/Cnrs-BIOEMCO, Thiverval-Grignon, France*

³ *Inra-TCEM, Villenave d'Ornon, France*

⁴ *CEA/Cnrs-LEMP, Cadarache, France*



Part I: roots

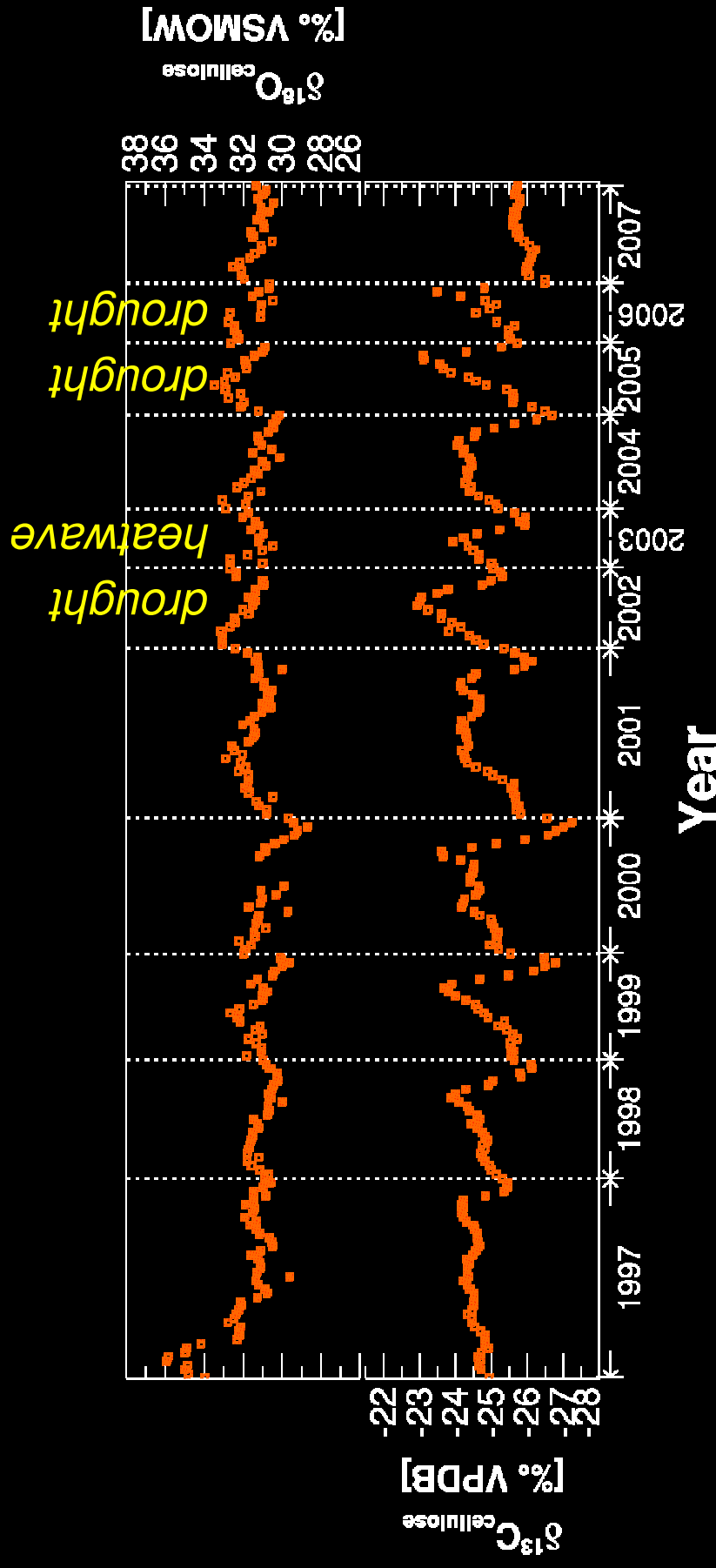
Impact of fine root soil distribution
and soil evaporation

on the oxygen isotopic composition of xylem water

Isotopic signals in tree-ring cellulose



Le Bray, France

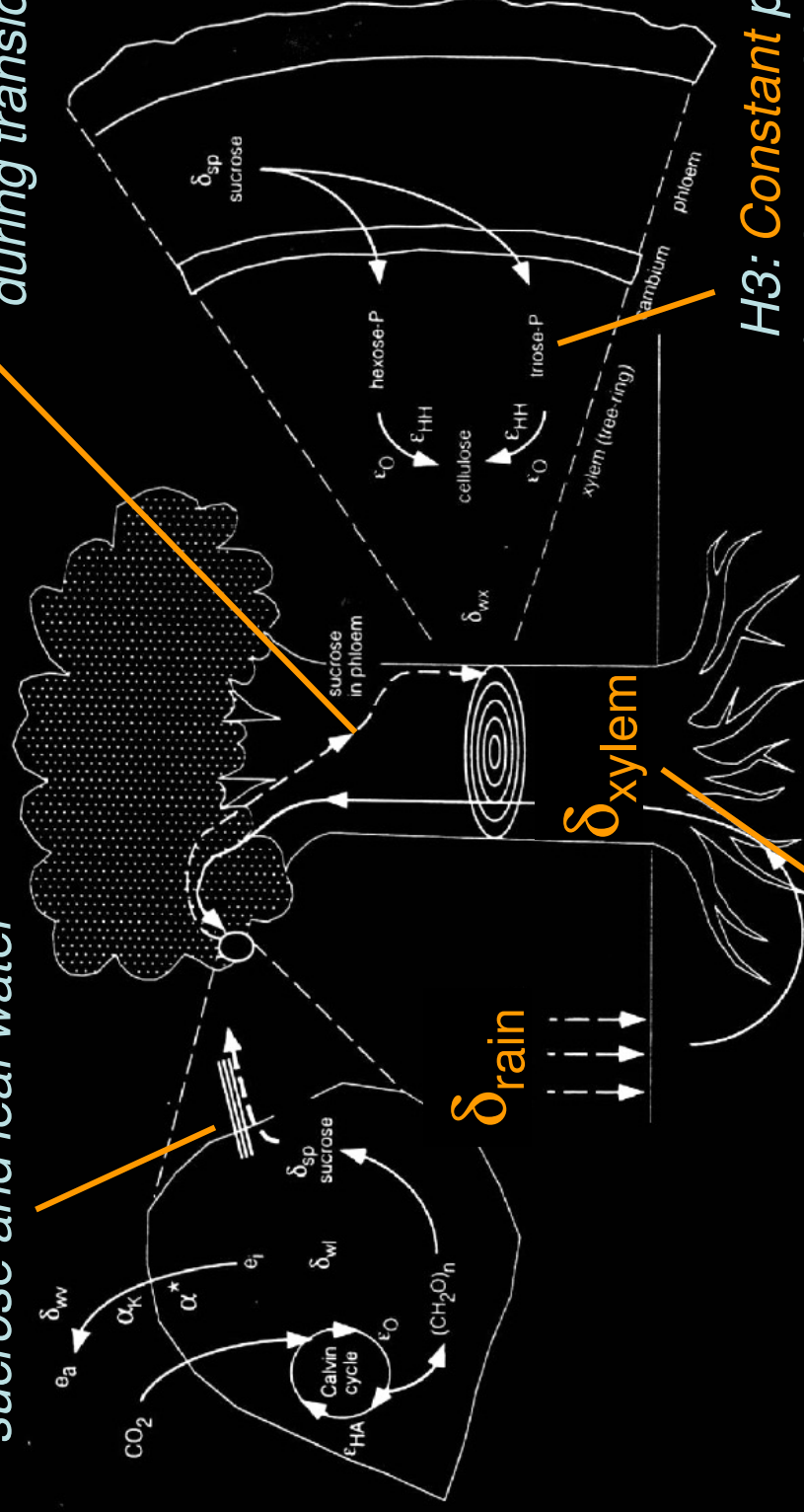


→ Climate, photosynthesis, transpiration or C allocation signals

Model of $\delta^{18}\text{O}$ cellulose

H1: Full equilibration between sucrose and leaf water

H2: No fractionation during translocation



H3: Constant proportion of exchangeable oxygens

H4: $\delta_{\text{xylem}} = \delta_{\text{rain}}$

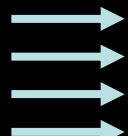
Saurer et al. (1997)

Barbour and Farquhar (2000)

Roden et al. (2000)

Do we have $\delta_{\text{xylem}} = \delta_{\text{rain}}$?

δ_{rain}

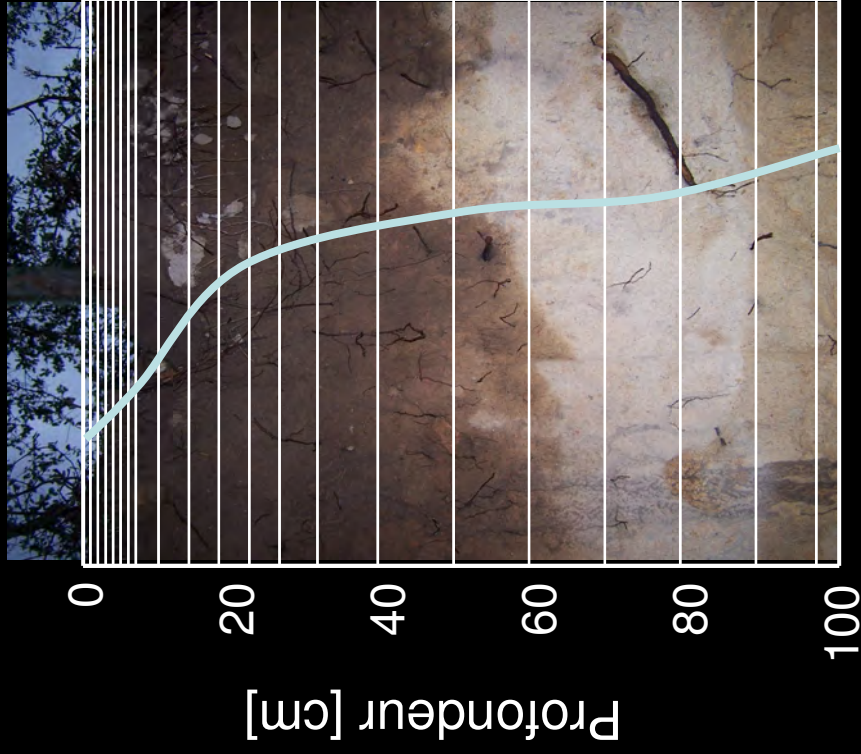


δ_{xylem}

evaporation



Transport of soil water isotopologues



Soil moisture [$\text{m}^3 \text{m}^{-3}$]

Soil-root hydraulic resistance
(dominates in dry soils)

$$C_{\psi} \frac{\partial \psi}{\partial t} =$$

Storage

$$+ \frac{\partial}{\partial z} \left[(K + D_{v,\psi}) \frac{\partial \psi}{\partial z} - K \right]$$

Darcy's law

$$+ \frac{\partial}{\partial z} \left[D_{v,T} \frac{\partial T}{\partial z} \right]$$

Thermal diffusion

$$- \frac{\psi - z - \psi_{\text{xylem}}}{r_{\text{uptake}} + r_{\text{xylem}}} \times L_{\text{root}}$$

Root extraction

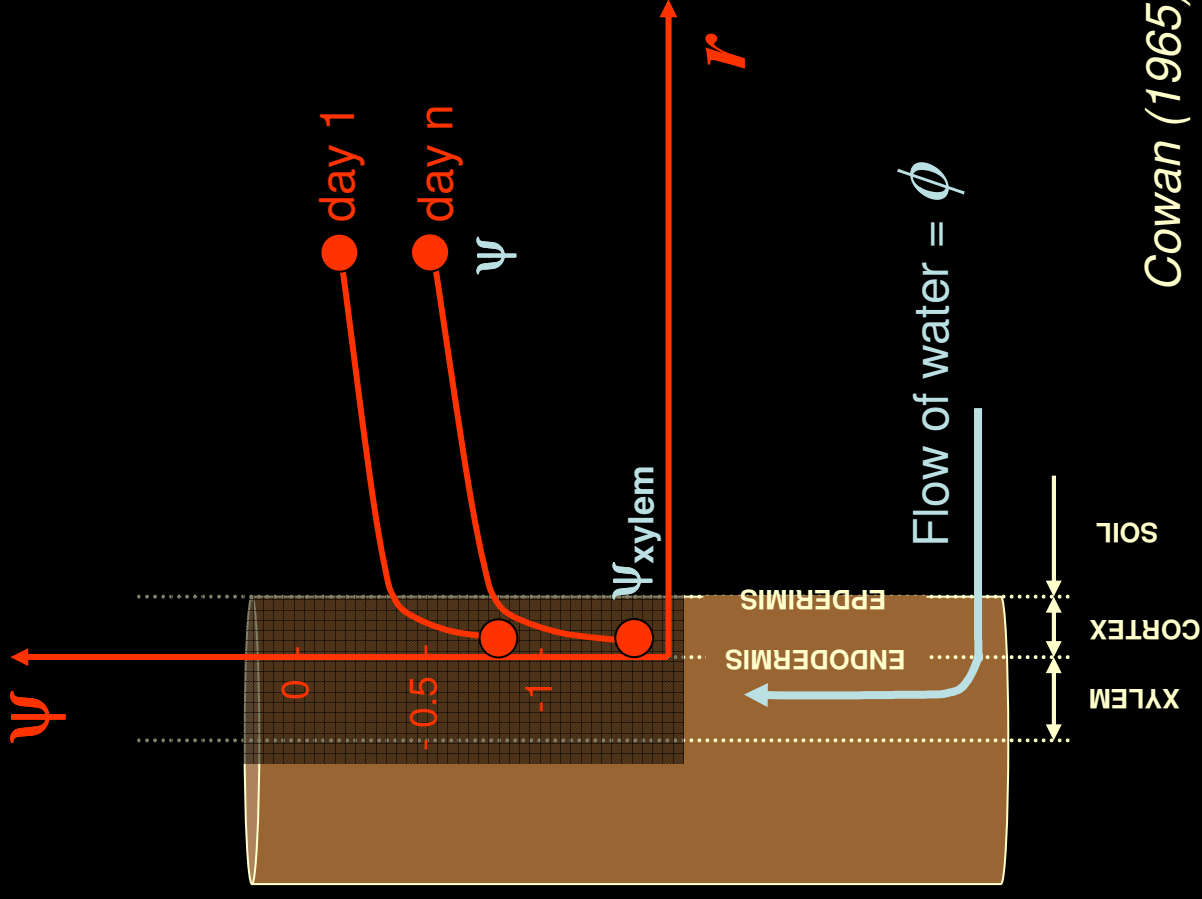
$L_{\text{root}} =$ fine
root length
density

Xylem hydraulic resistance from
root to trunk base ($\approx 5 \text{ Ts m}^{-1}$)

Single-root radial water extraction model

How to model r_{uptake} ?

$$\frac{\partial \psi}{\partial z} = D \frac{\partial^2 \psi}{\partial r^2} + \frac{D}{r} \frac{\partial \psi}{\partial r}$$



Cowan (1965)
Federer (1979)

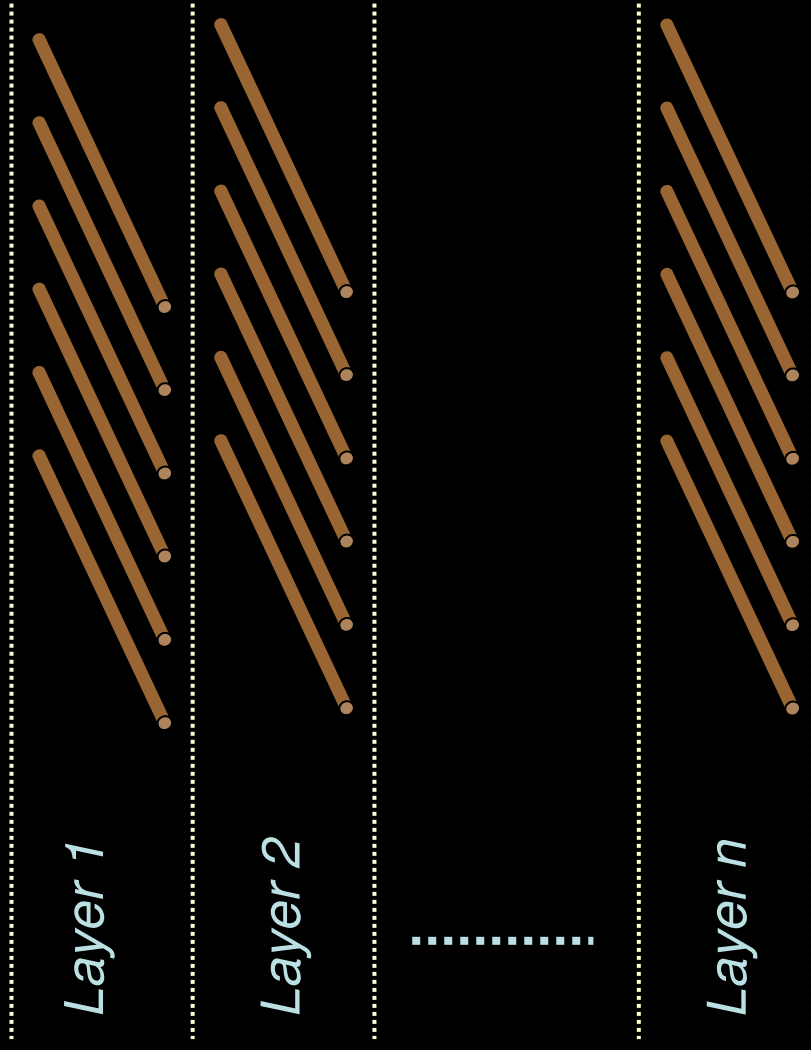
Root system water extraction model

V_{root} = volume
of fine roots
per unit
volume of soil

$$V_{\text{root}} - 3 - 2 \frac{\ln V_{\text{root}}}{1 - V_{\text{root}}}$$

$$r_{\text{uptake}} = \frac{1}{K} \frac{8\pi}{8\pi}$$

K = soil
hydraulic
conductivity



Cowan (1965)
Federer (1979)

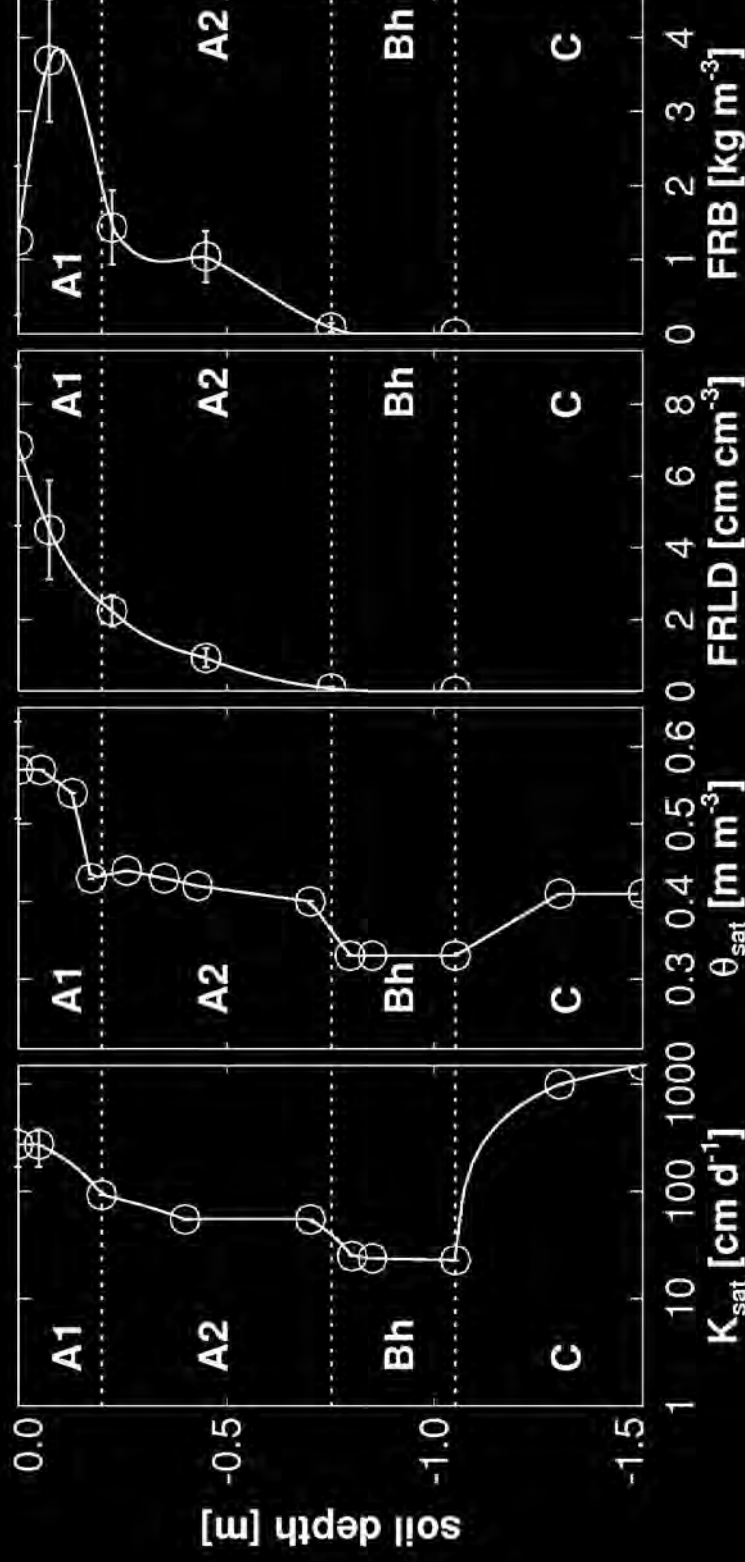
Model parameterisation at Le Bray site

Soil hydraulic conductivity at saturation

Soil volumetric porosity

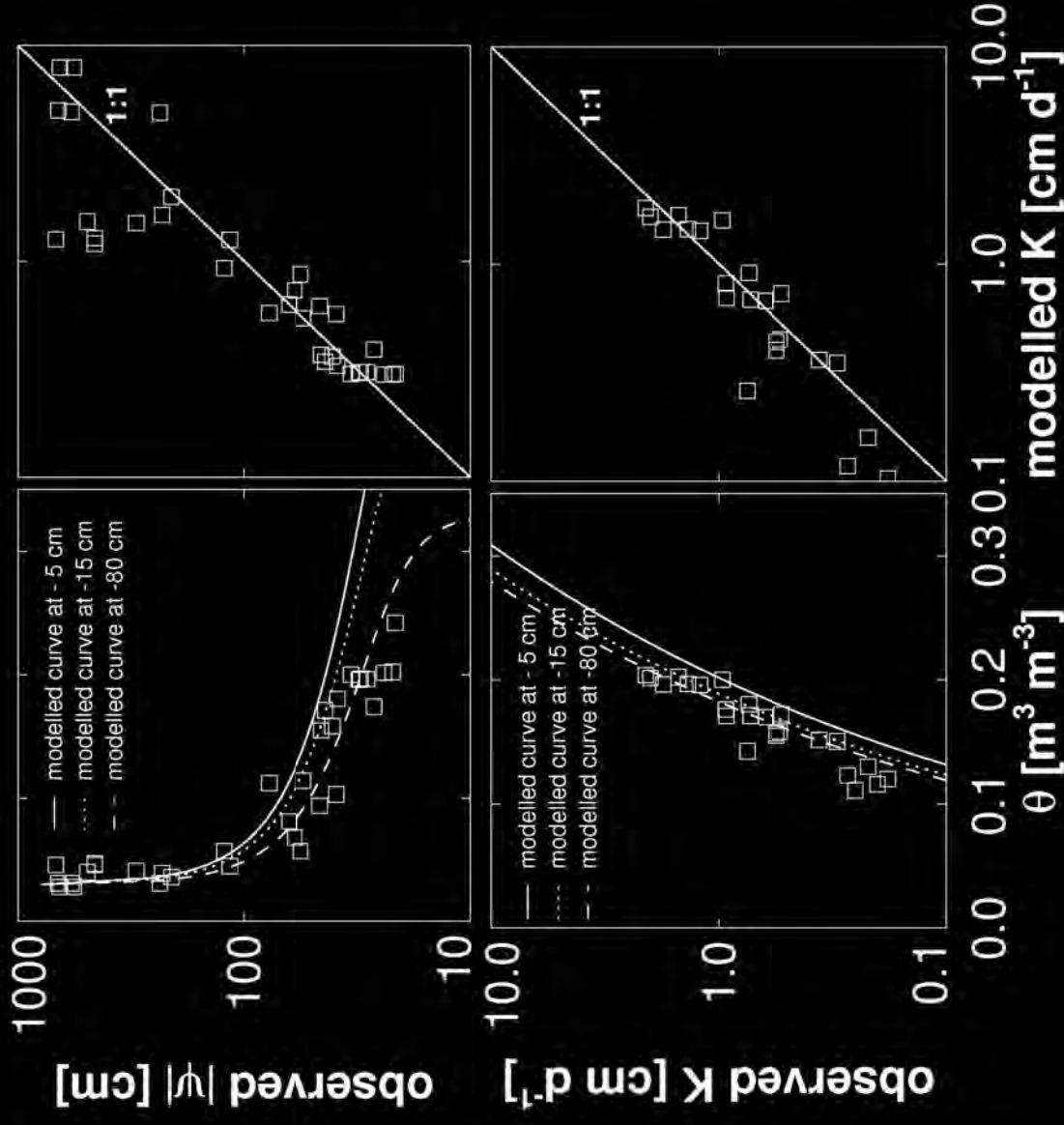
Fine root length density (< 2mm)

Fine root biomass (< 2 mm)



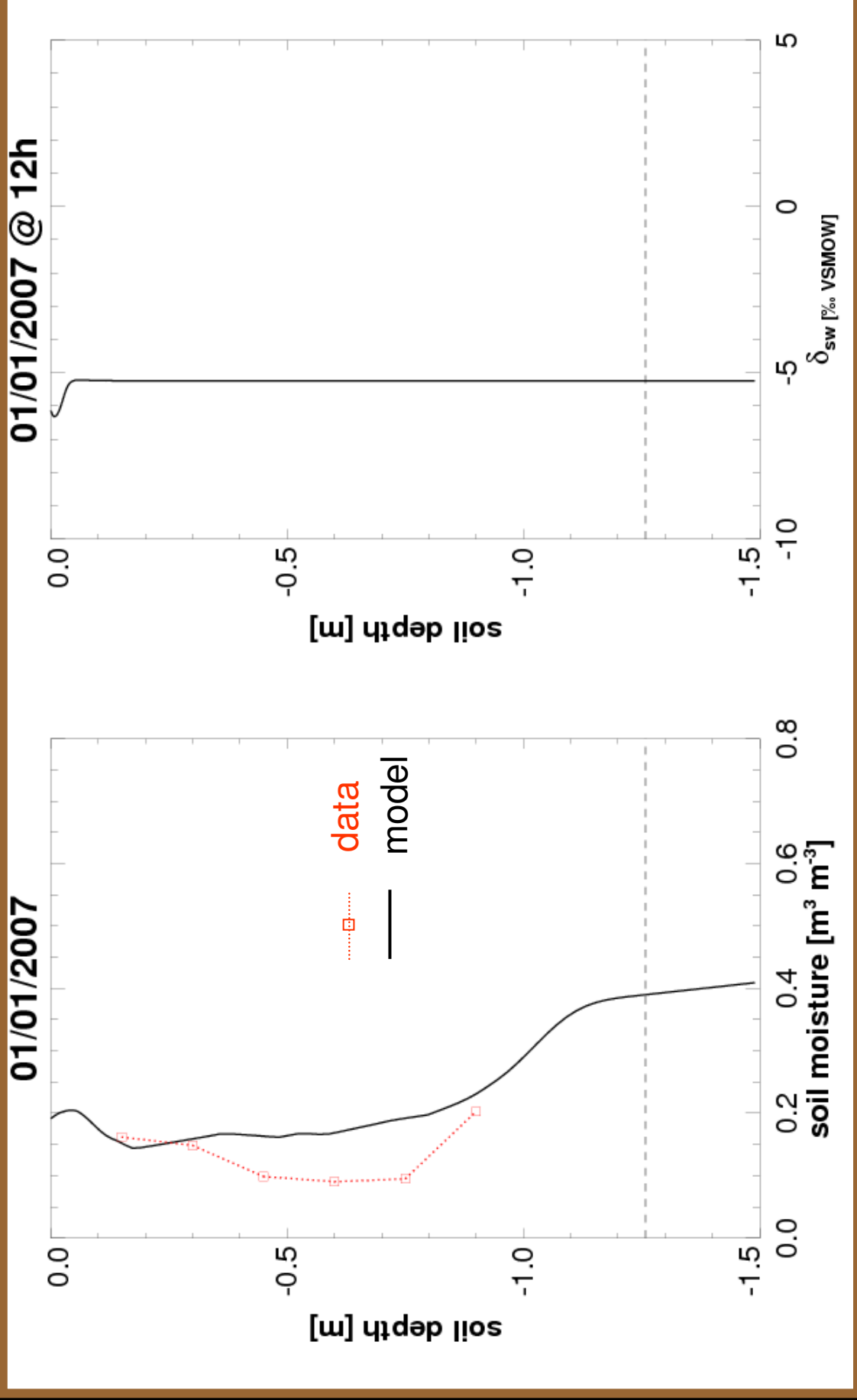
Ogée et al. (in preparation)

Model parameterisation at Le Bray site

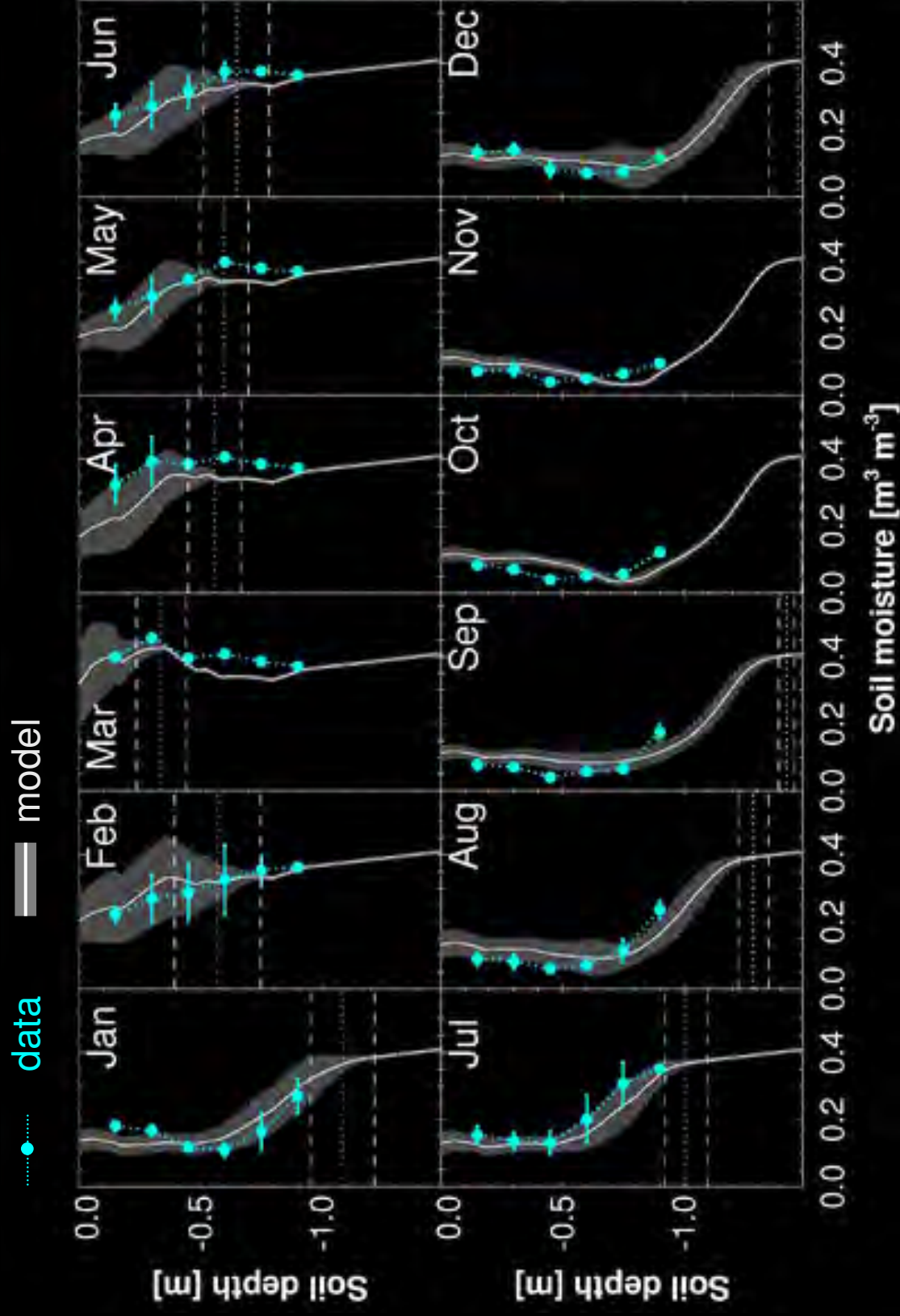


Ogée et al. (in preparation)

Model validation at Le Bray site

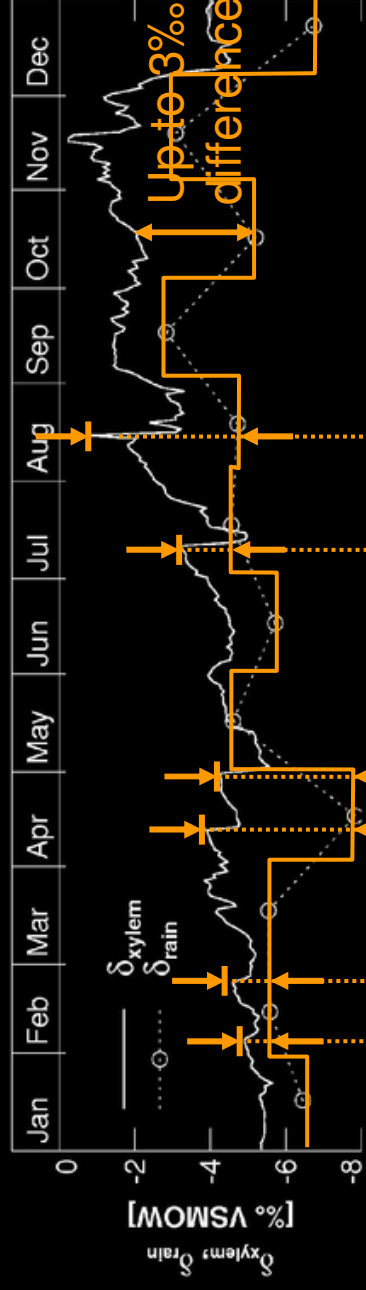


Model validation at Le Bray site



Ogée et al. (in preparation)

Do we have $\delta_{\text{xylem}} = \delta_{\text{rain}}$?



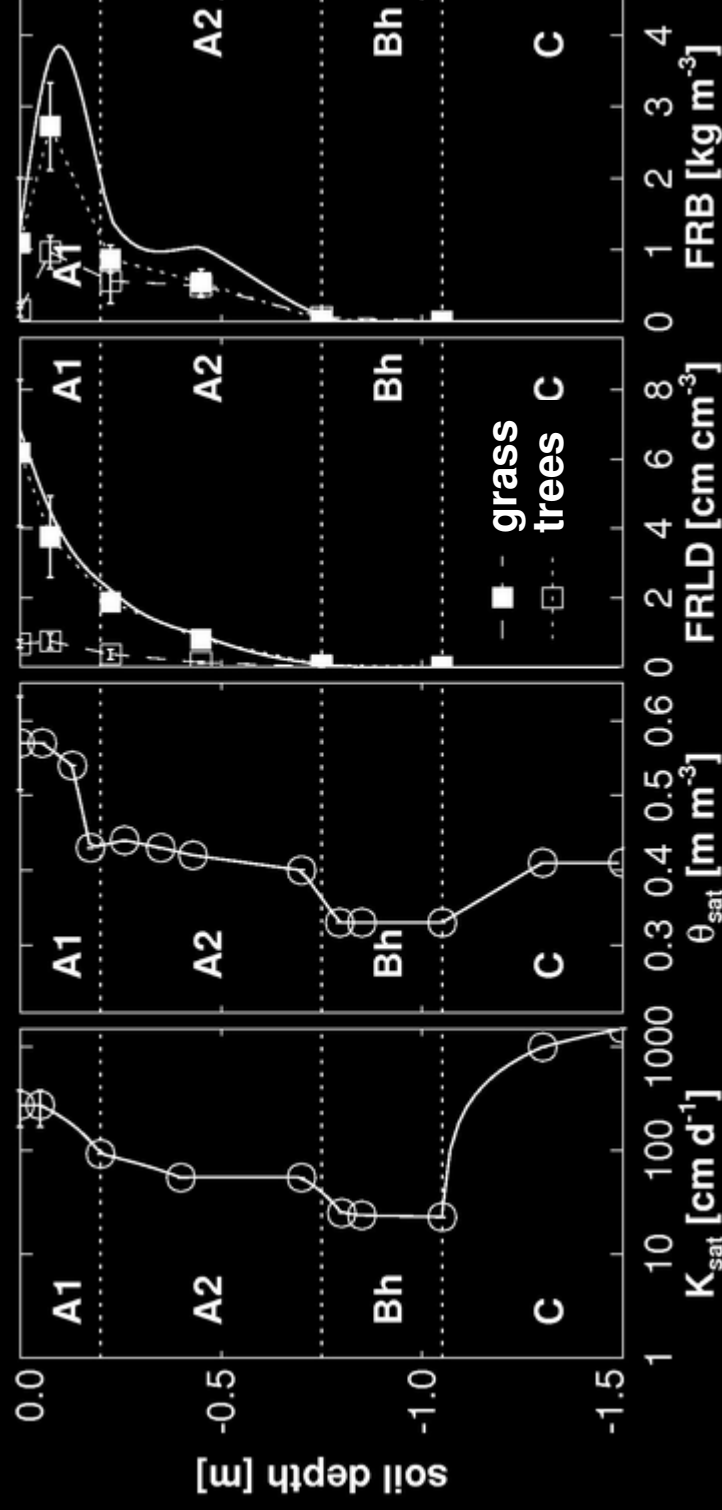
Separating canopy and understorey

Soil hydraulic conductivity at saturation

Soil volumetric porosity

Fine root length density (< 2mm)

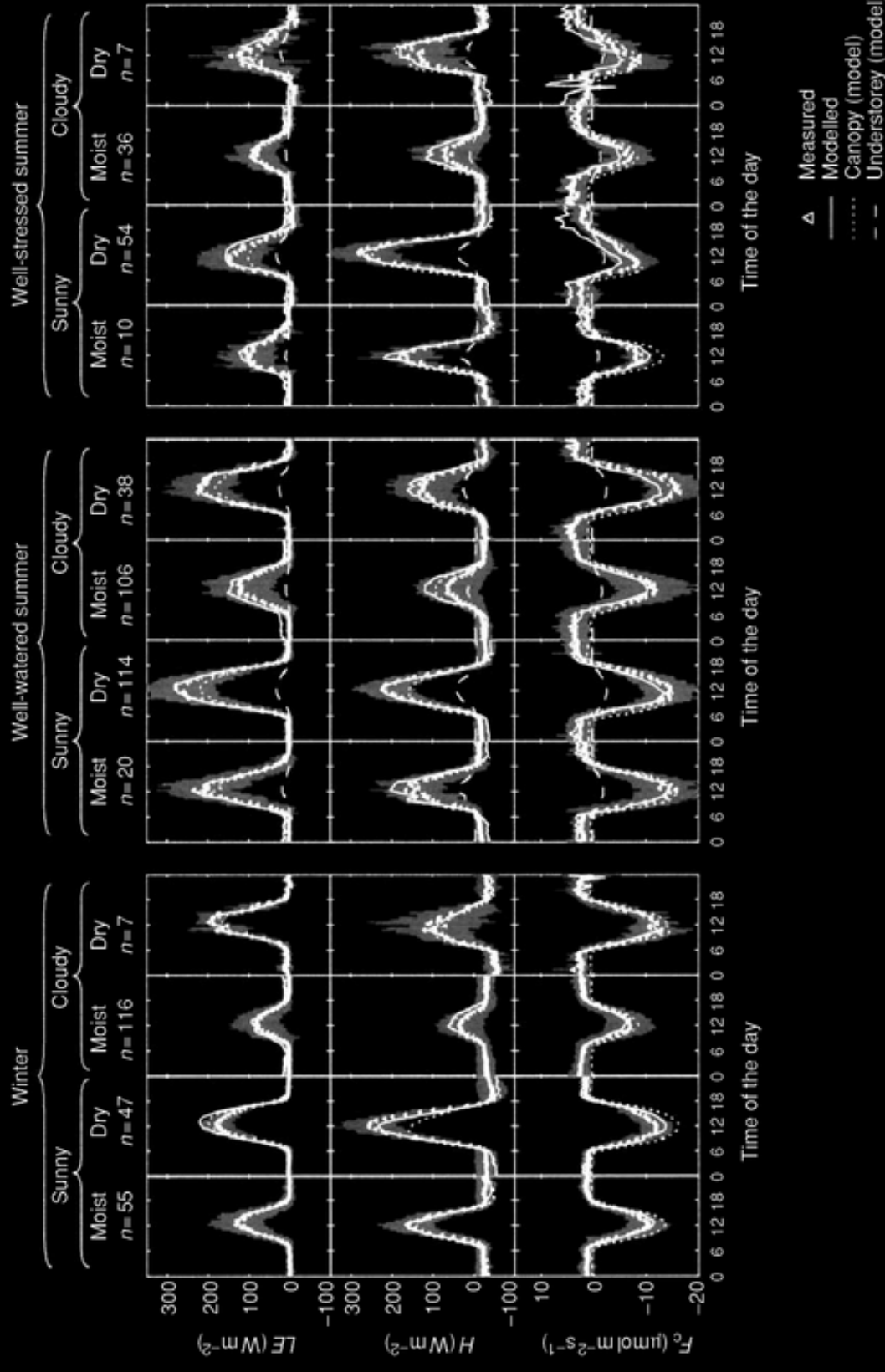
Fine root biomass (< 2 mm)



Ogée et al. (in preparation)

Separating canopy and understorey

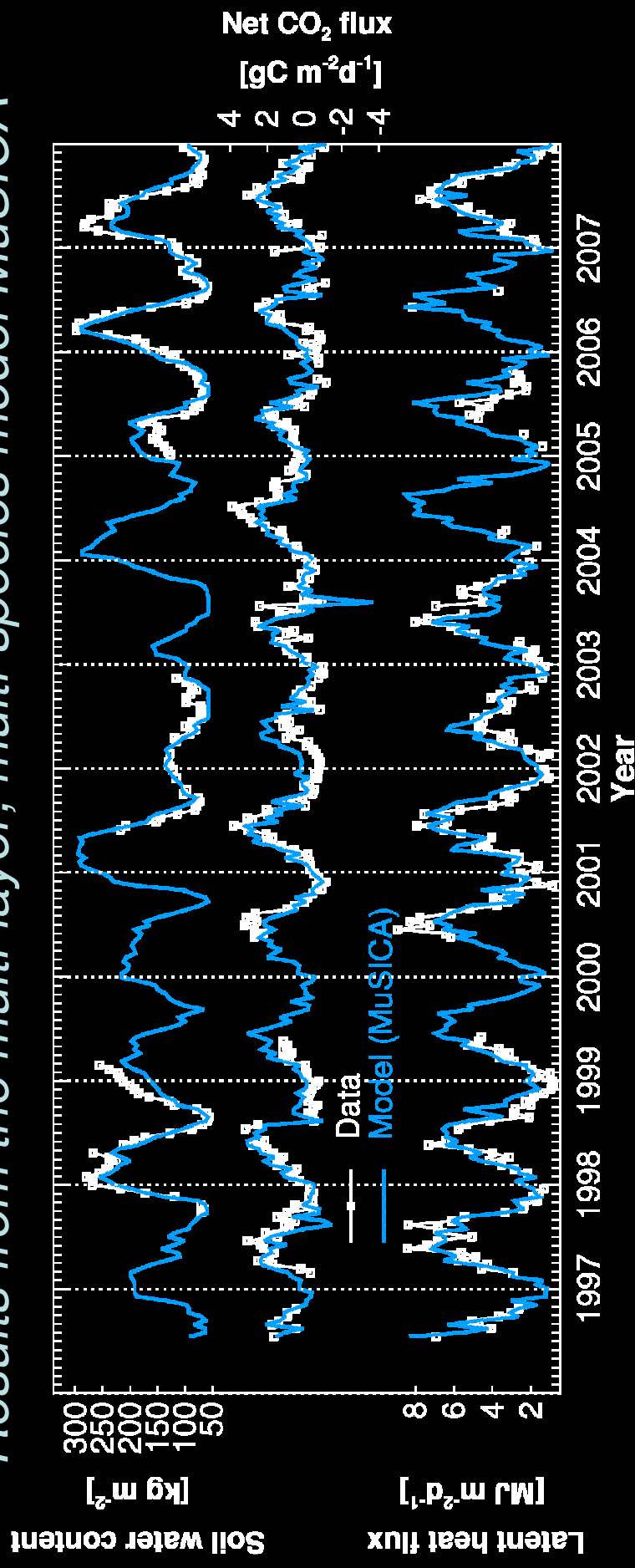
Results from the multi-layer, multi-species model *MuSICA*



Ogée et al. (2003)

Extending the study to longer periods

Results from the multi-layer, multi-species model MuSICA



Ogée et al. (in prep)

Part I: preliminary conclusions

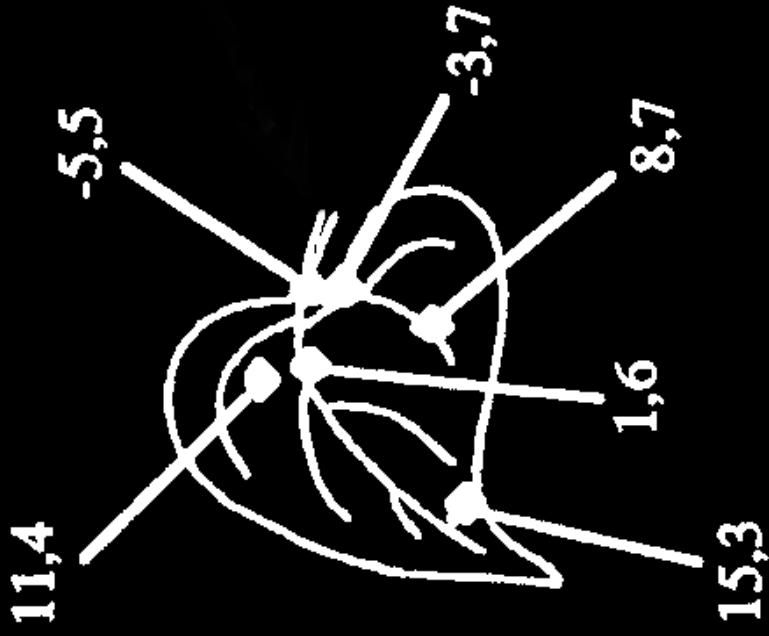
Over a growing season δ_{xylem} follows closely δ_{rain}
but ...

- tends to be always **more enriched** than δ_{rain}
- **up to 2-4‰**, i.e., about 1-2‰ on $\delta^{18}\text{O}_{\text{cellulose}}$
- depends on intensity of **rain** and **transpiration**
- could be even more dramatic during **dry years**

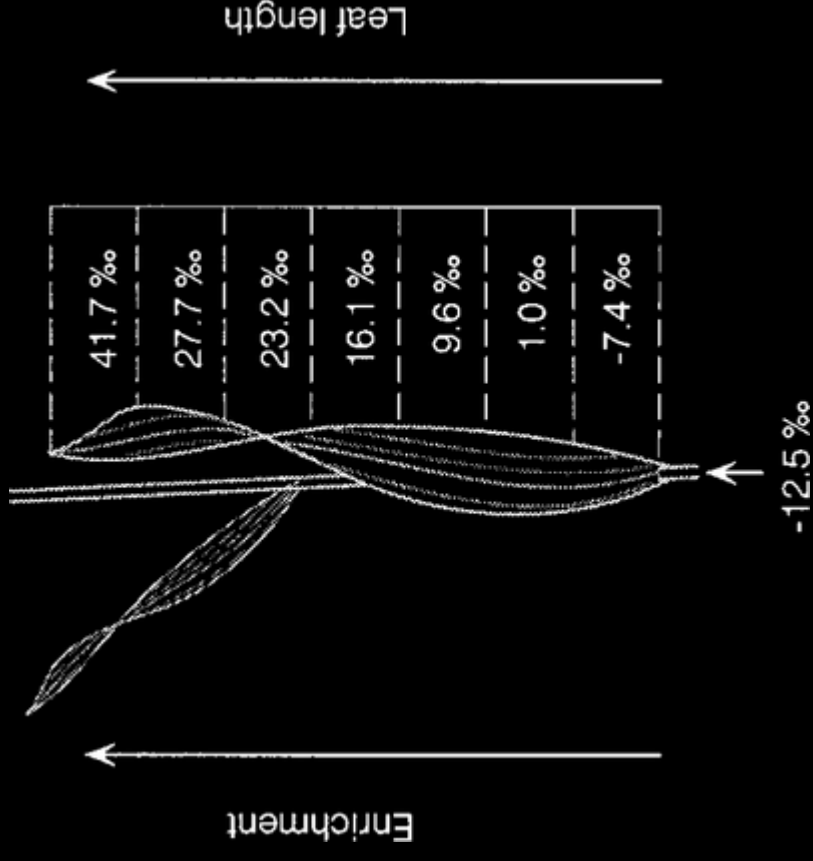
Part II: leaves

Studying the water redistribution inside the leaves
by isotopic mapping

- In large leaves the isotope composition of the water ($^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ or D/H) is not uniform



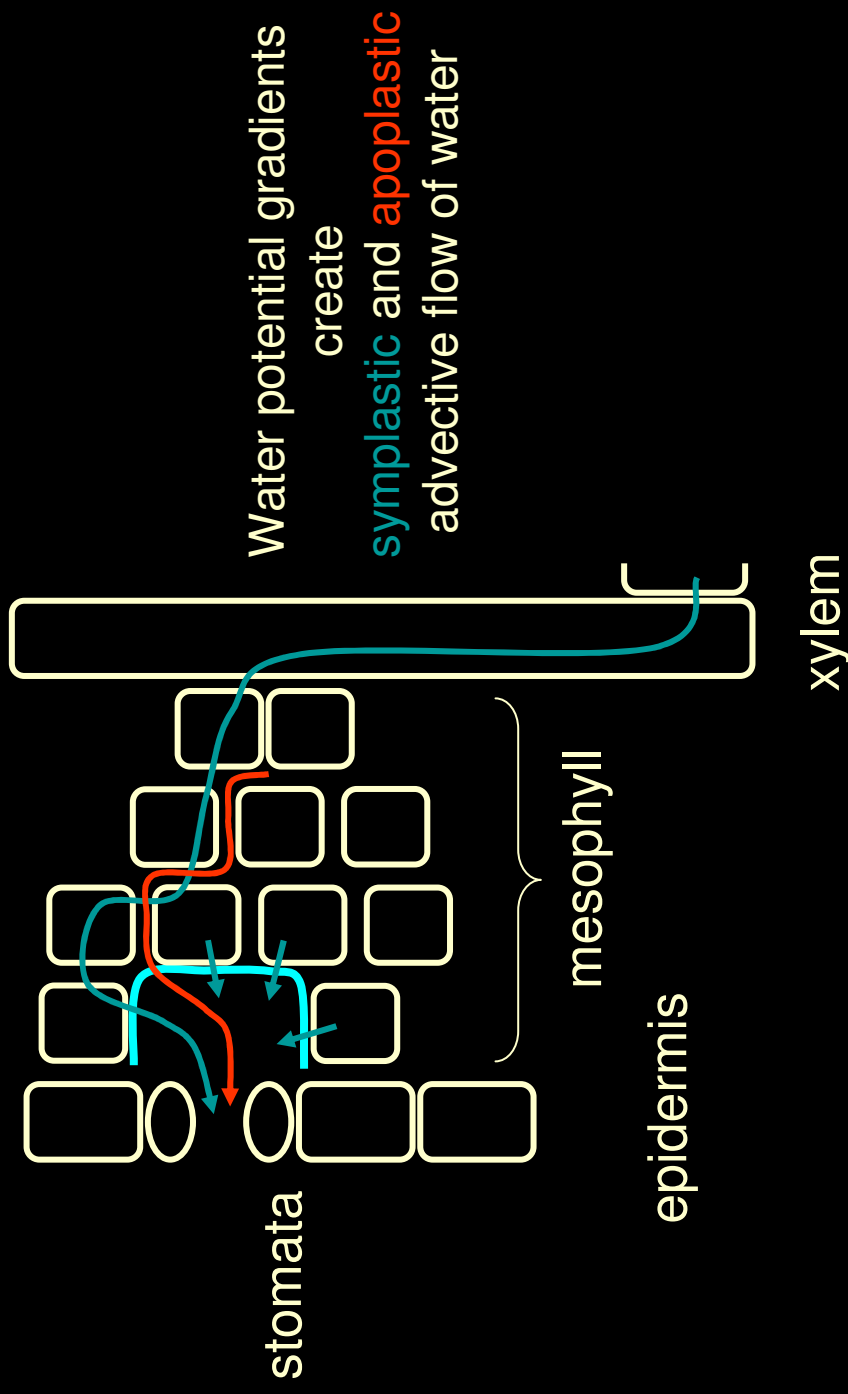
Bariac et al. (1994)



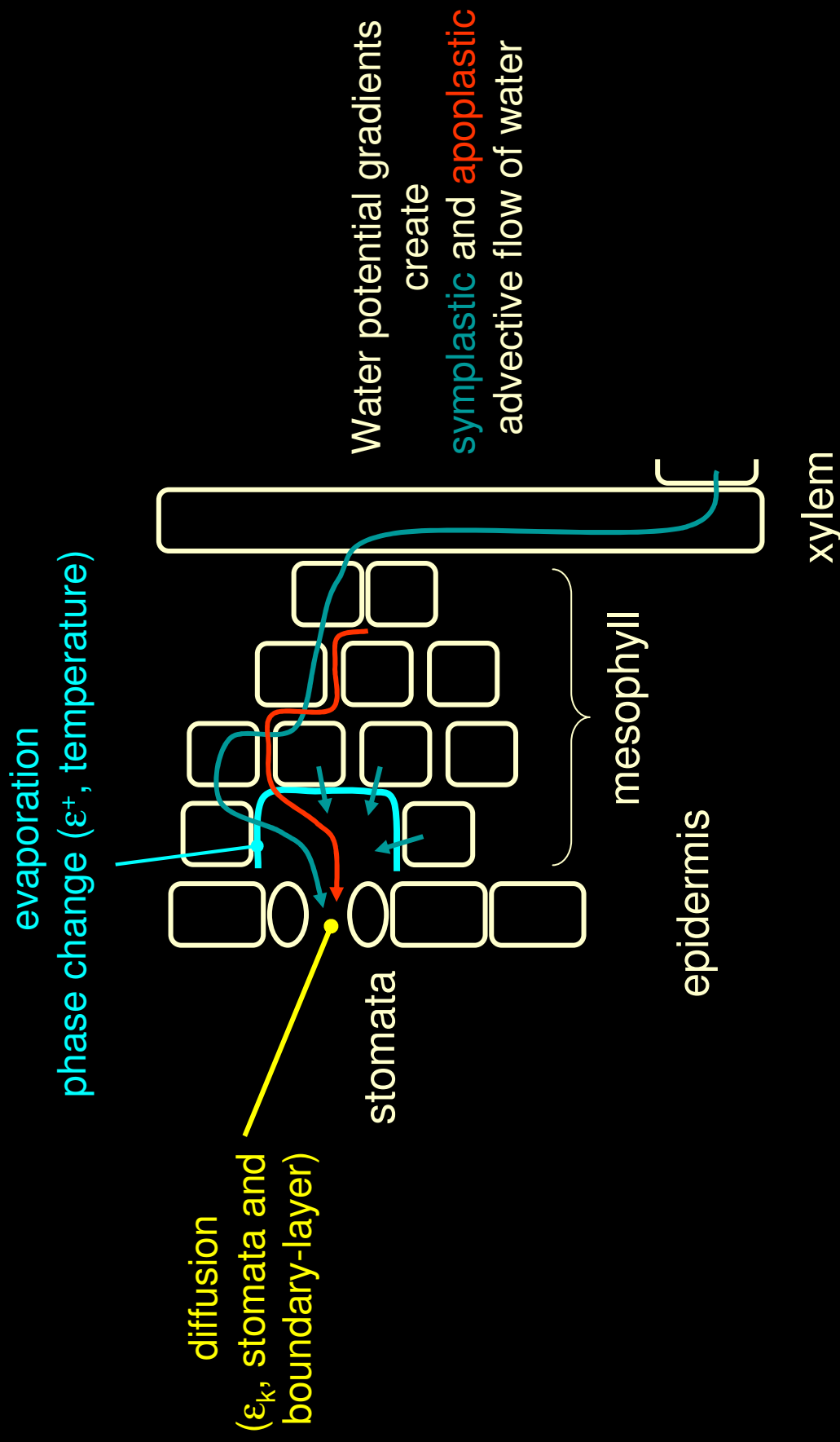
Helliker & Ehleringer (2000)

- The enrichment increases from base to tip and center to the edges

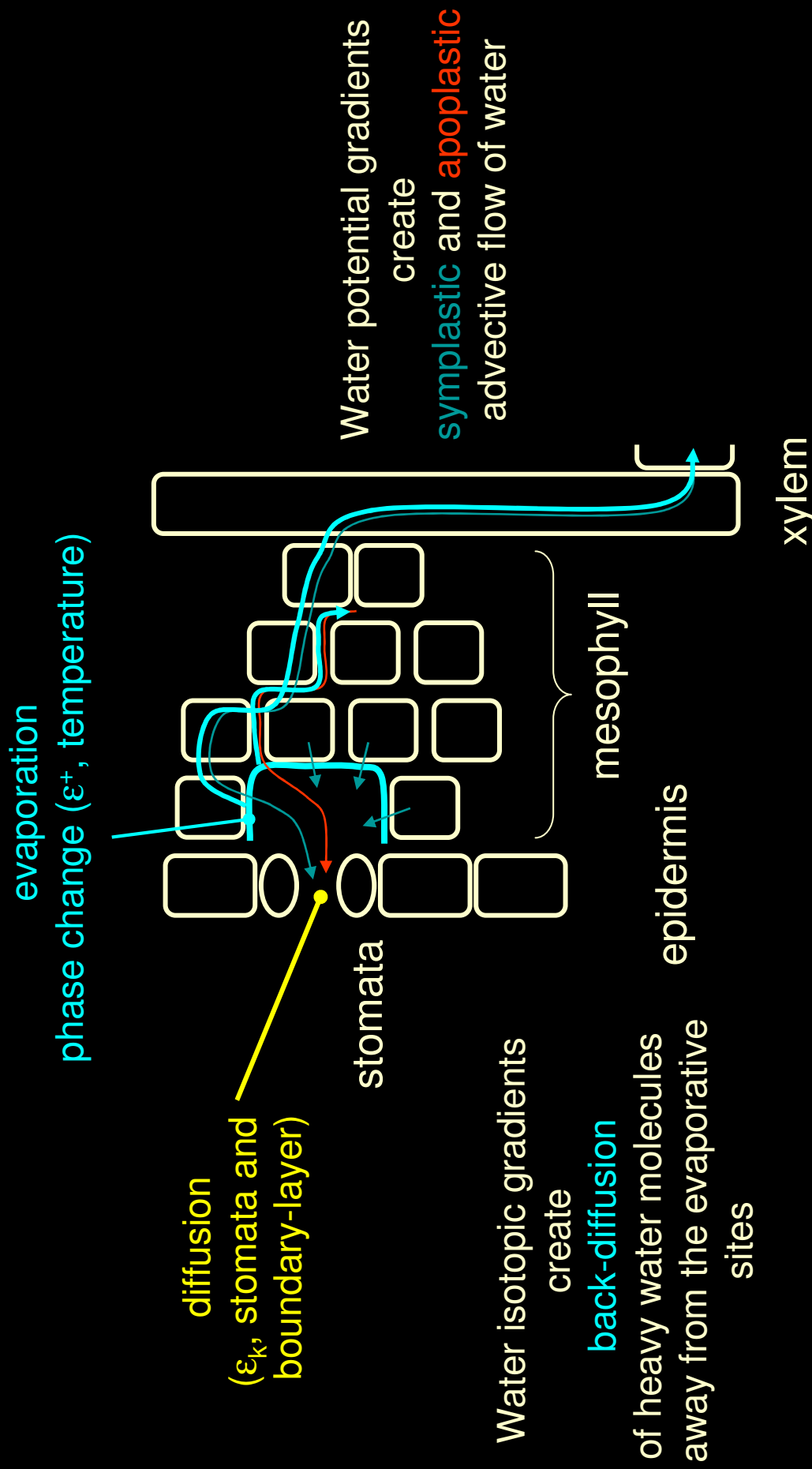
Water movements and isotopic enrichment



Water movements and isotopic enrichment

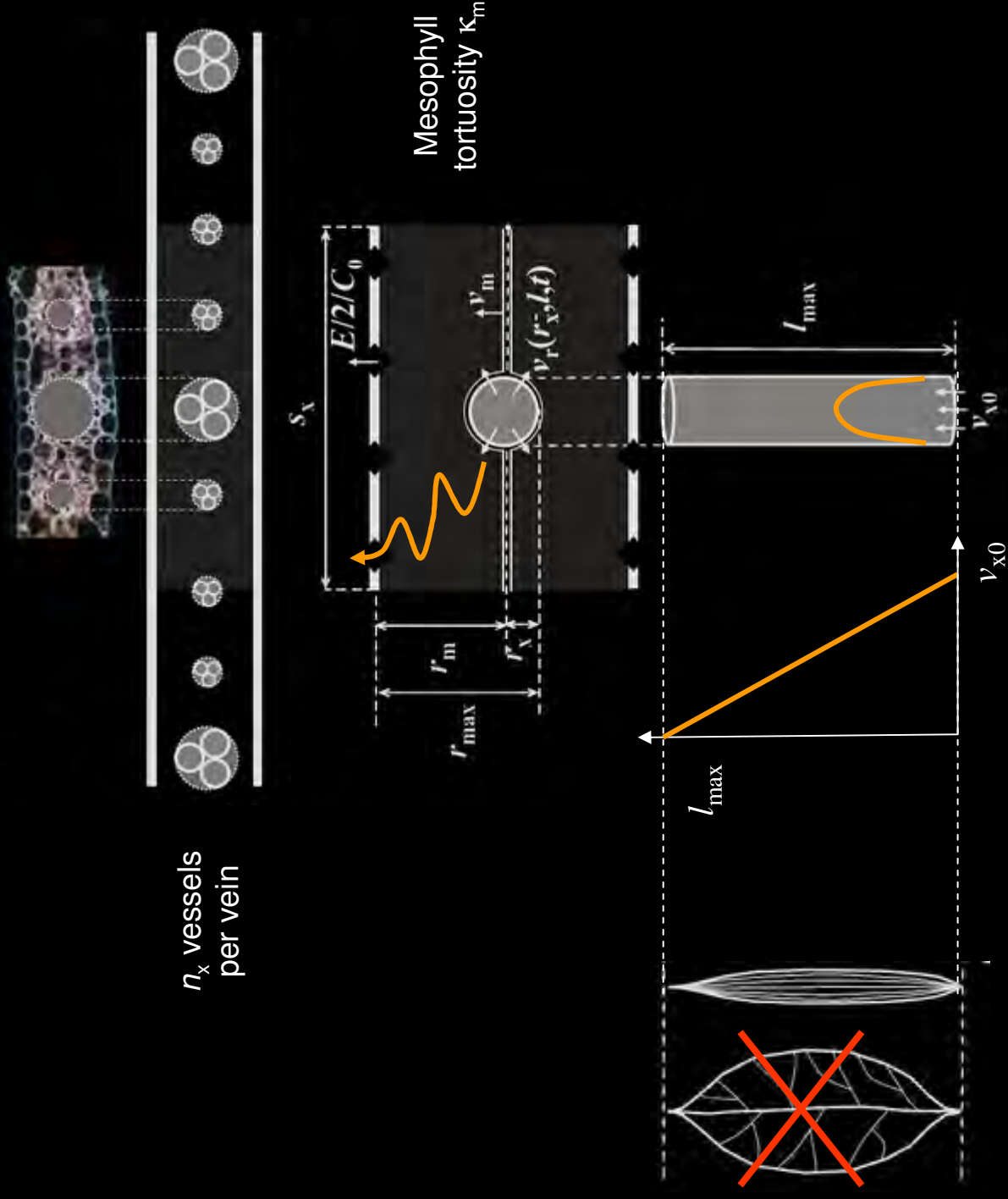


Water movements and isotopic enrichment

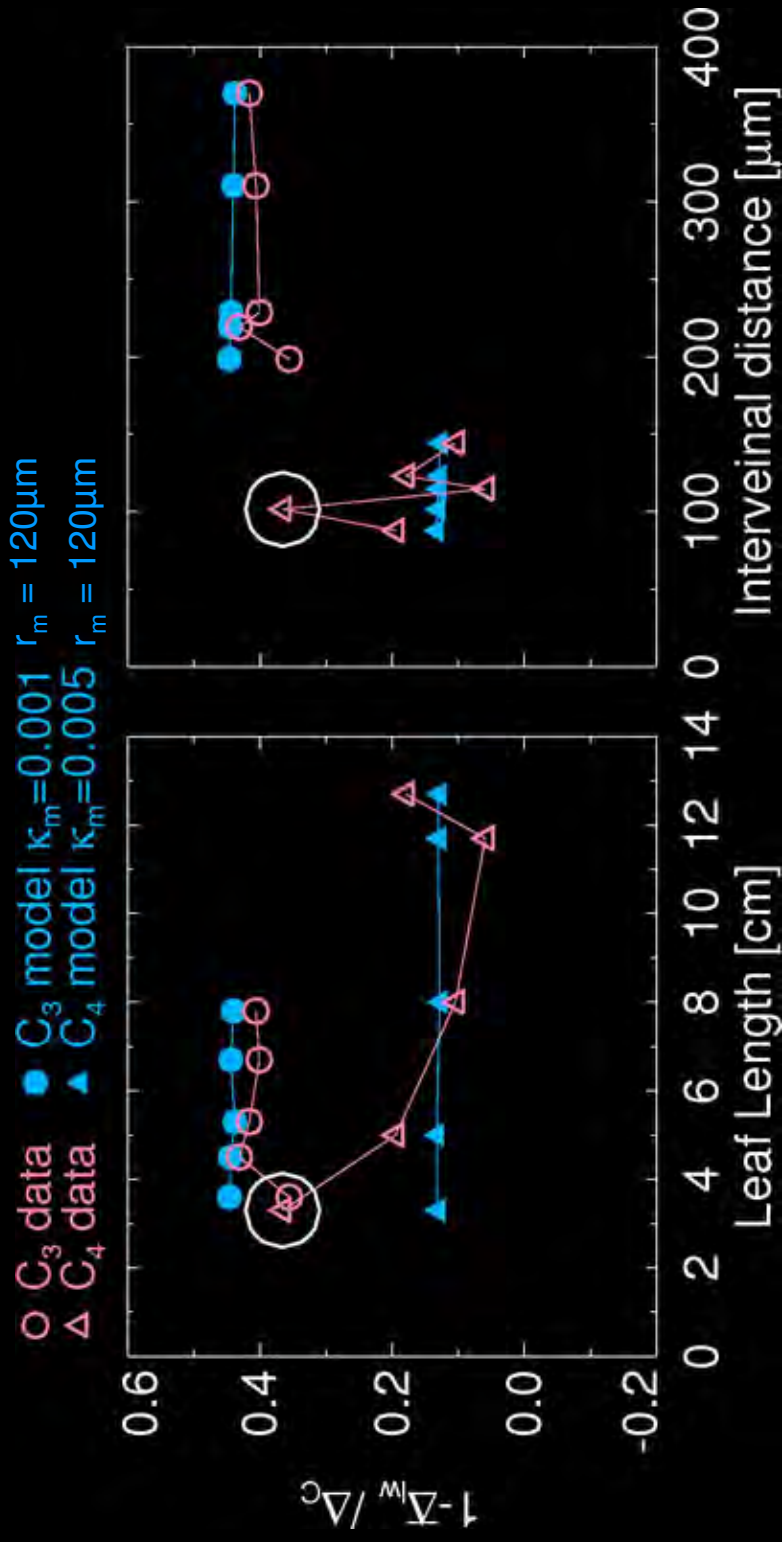


- Requires estimating **tortuosity** of water path inside mesophyll

Numerical model for monocot leaves



Leaf enrichment and anatomical dimensions

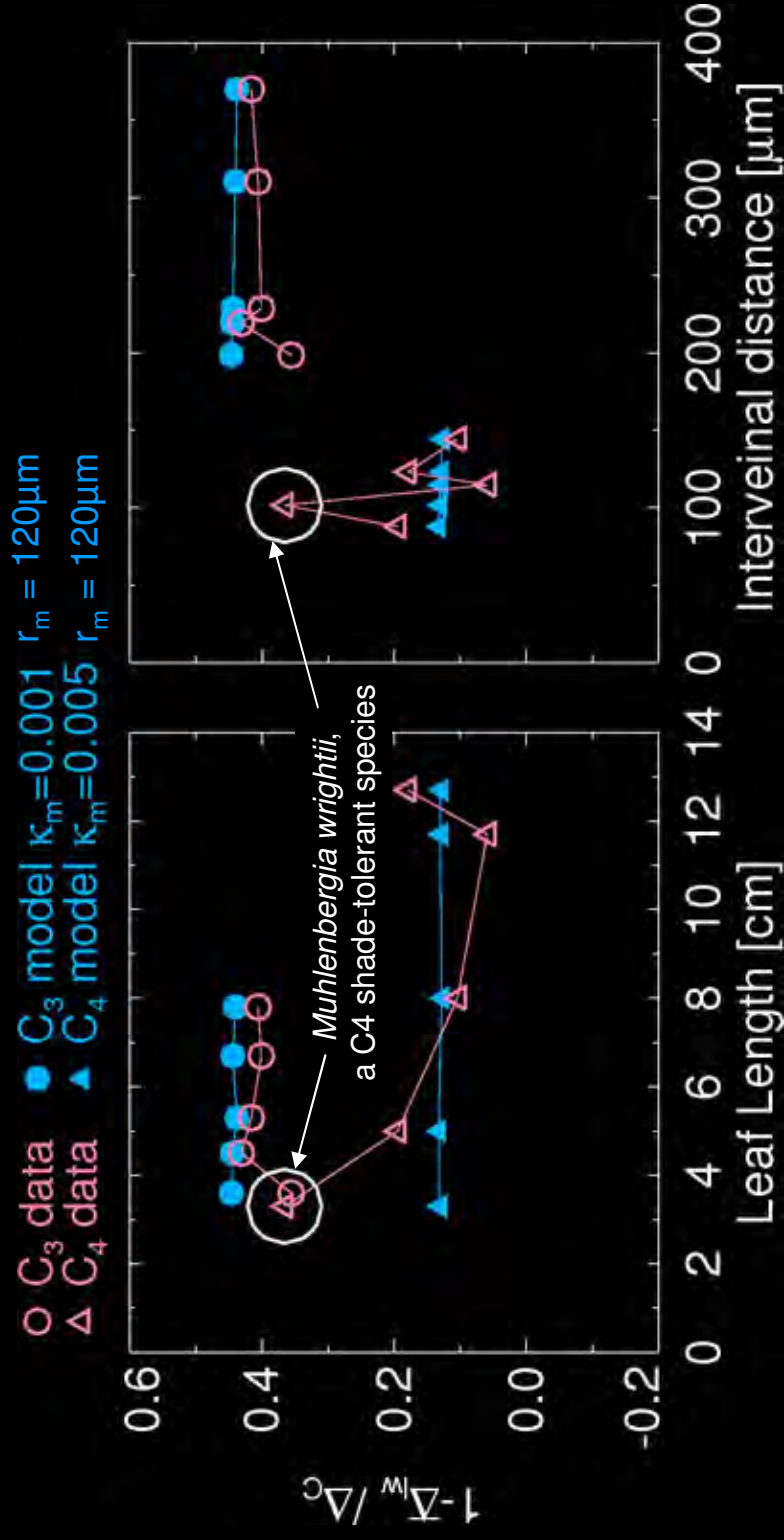


Ogée et al. (2007)

(data from Helliker & Ehleringer 2000)

→ No effect of leaf length or interveinal distance on bulk leaf water enrichment, but strong effect of tortuosity κ_m

Differences between C3 and C4 grasses

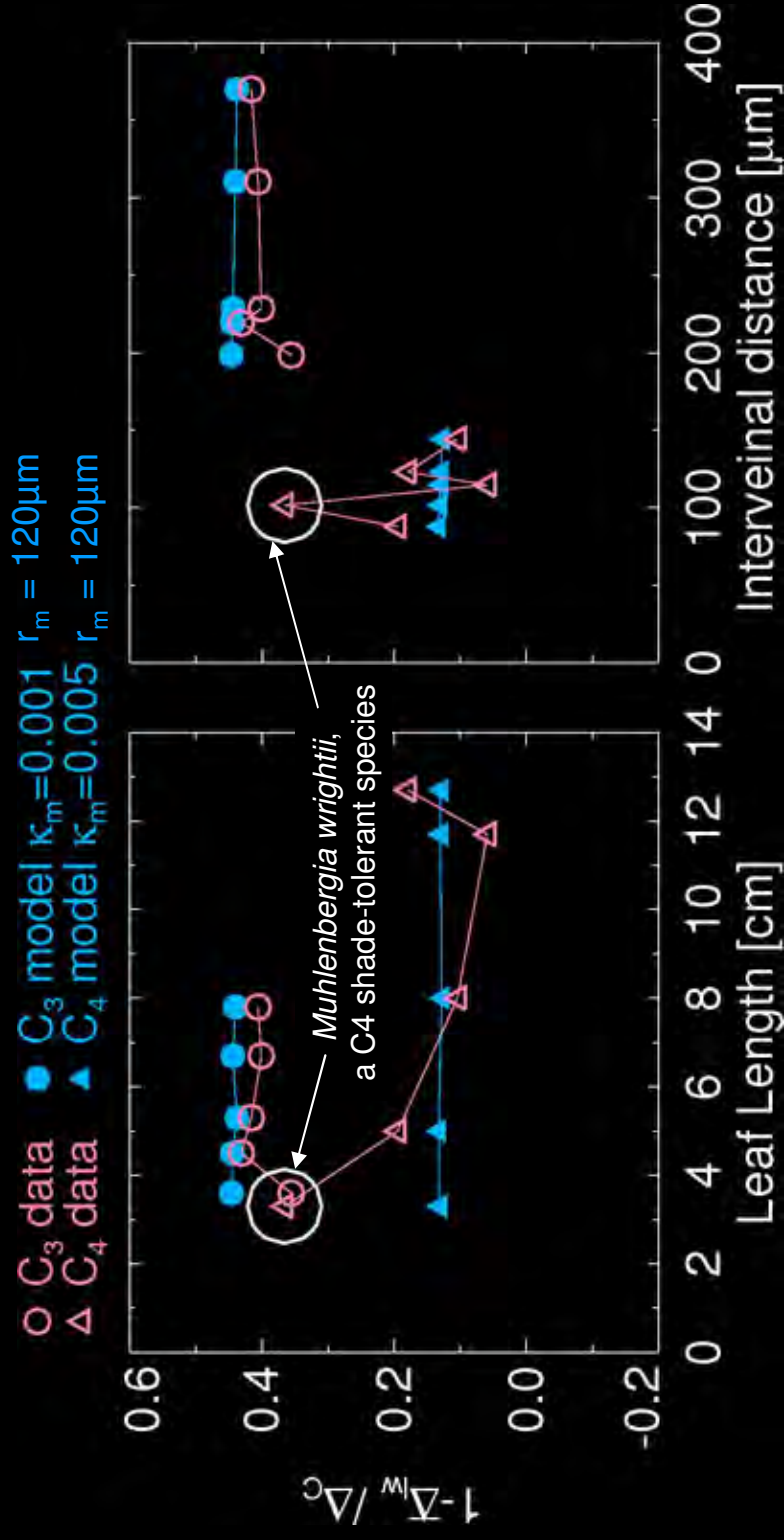


Ogée et al. (2007)

(data from Helliker & Ehleringer 2000)

→ Clear difference between C3 and C4 species (except *Muhlenbergia wrightii*, a C4 shade-tolerant species)

Differences between C3 and C4 grasses



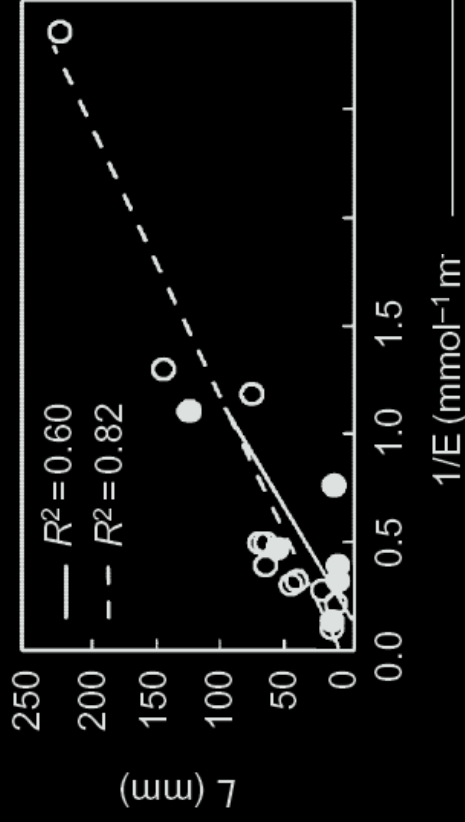
Ogée et al. (2007)

(data from Helliker & Ehleringer 2000)

→ Can only be explained by differences in mesophyll tortuosity (and to a certain extent in leaf thickness), i.e., ratio r_m / κ_m

What drives the mesophyll tortuosity?

- Effective path length $L = r_m/k_m$ seems:
- **species-specific**, with higher values for less transpiring leaves (e.g. Kahmen et al. 2008, Wang et al. 1998)



17 Eucalypt species from
a common garden

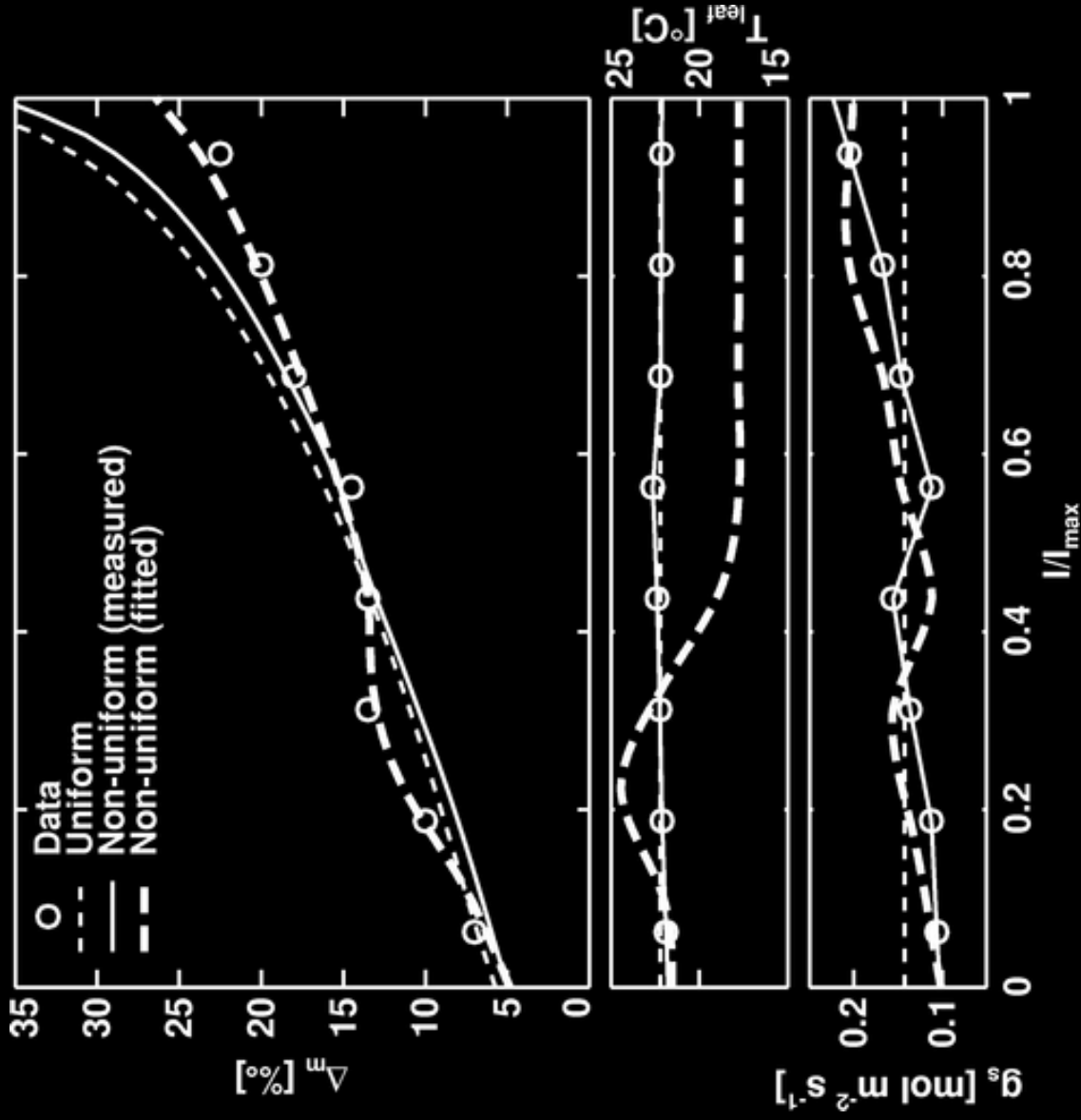
Kahmen et al. (2008)

	r	P
Leaf length	0.383	0.129
Leaf width	0.027	0.919
Leaf length/width	0.322	0.208
Leaf area	0.247	0.338
Specific leaf area	0.363	0.152

What drives the mesophyll tortuosity?

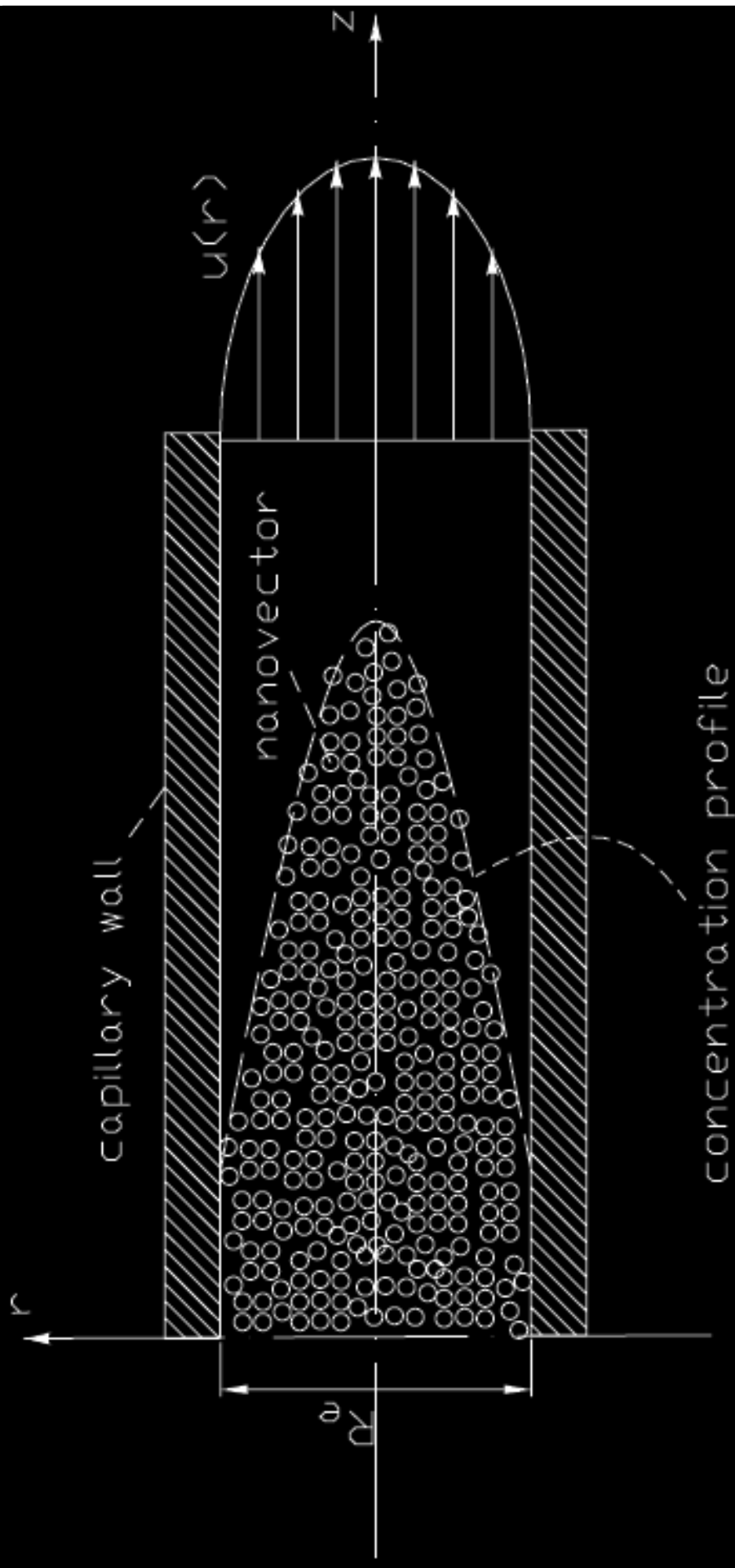
- Effective path length $L = r_m/k_m$ seems:
 - **species-specific**, with higher values for less transpiring leaves (e.g. Kahmen et al. 2008, Wang et al. 1998)
 - to depend on **growth conditions**, with higher values for drought leaves (e.g. Ferrio et al. 2008)

Variations of gas-exchange along leaf blade



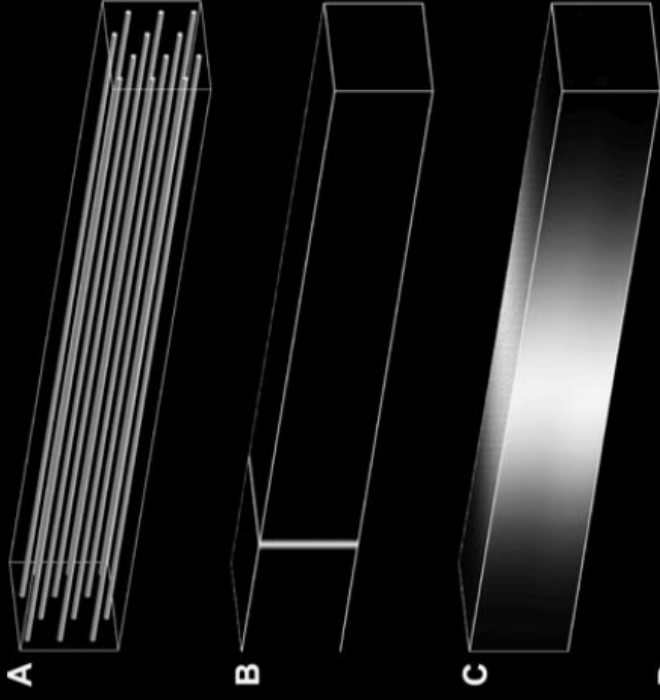
Ogée et al. (2007)
(data from Affek et al. 2006)

Role of hydrodynamic dispersion in leaf veins



$$D = D_{\text{molecular}} + \alpha P_1^\beta \quad P_1 = UL_{\text{max}}/D_{\text{molecular}}$$

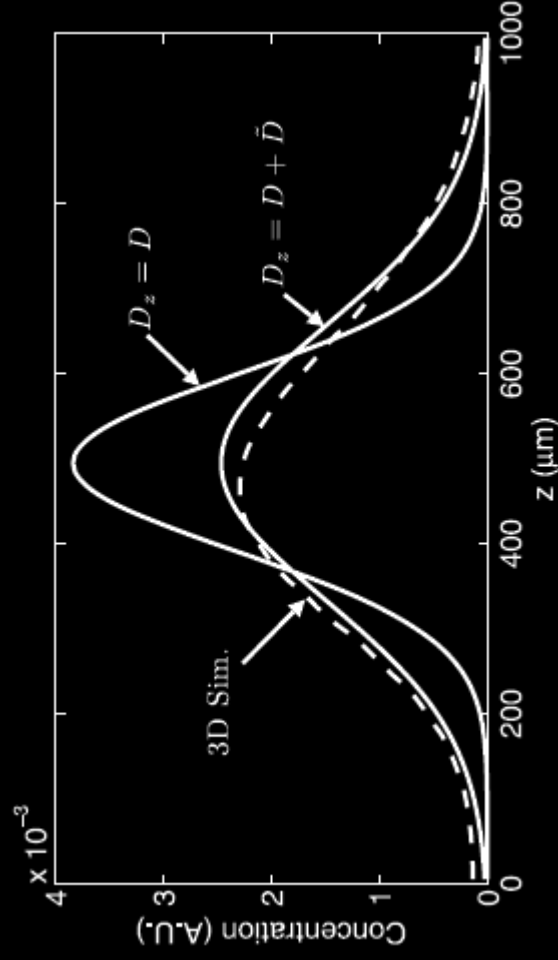
Role of hydrodynamic dispersion in leaf veins



12 parallel capillaries

At $t=0s$, tracer is introduced

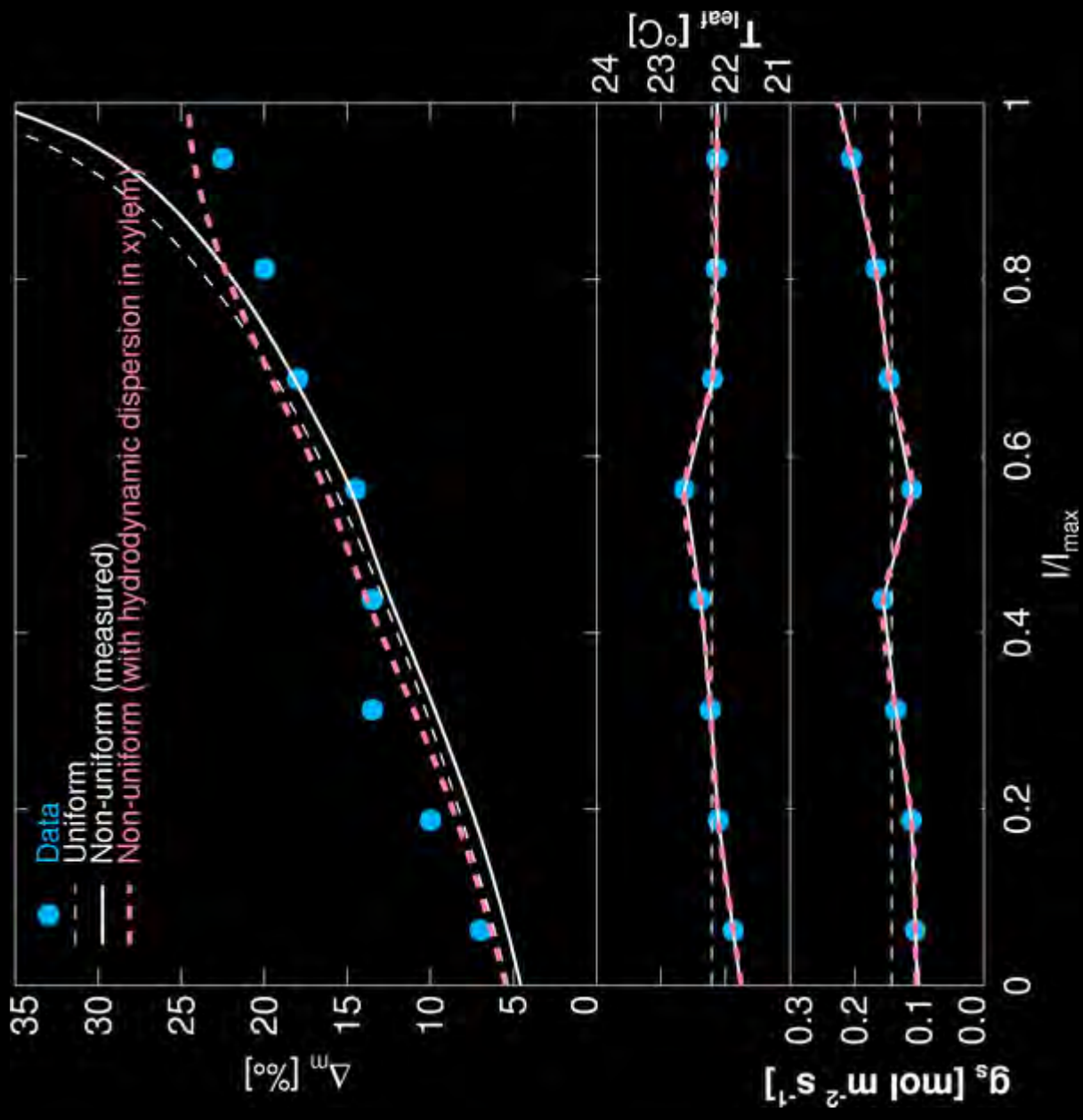
At $t=12s$, tracer is introduced



- Comparison model 1D-3D very good

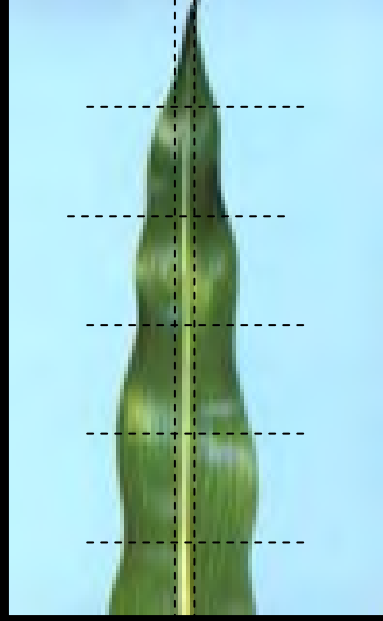
- Spread goes faster than pure molecular diffusion

Role of hydrodynamic dispersion in leaf veins



Do we really observe a diffusion process?

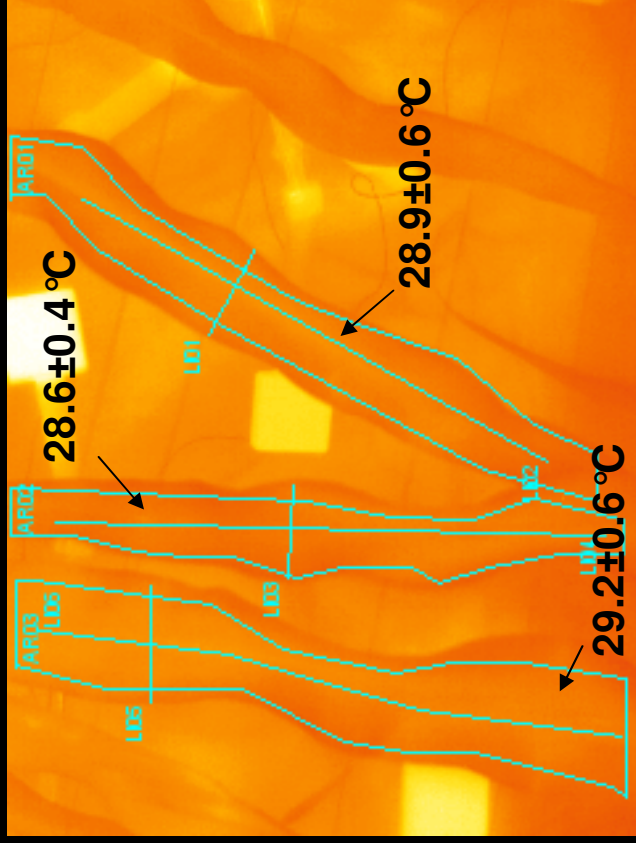
→ Experiments on corn leaves carried in controlled conditions during transition to darkness (to minimise transpiration and heterogeneity of leaf temperatures, stomatal aperture,...)



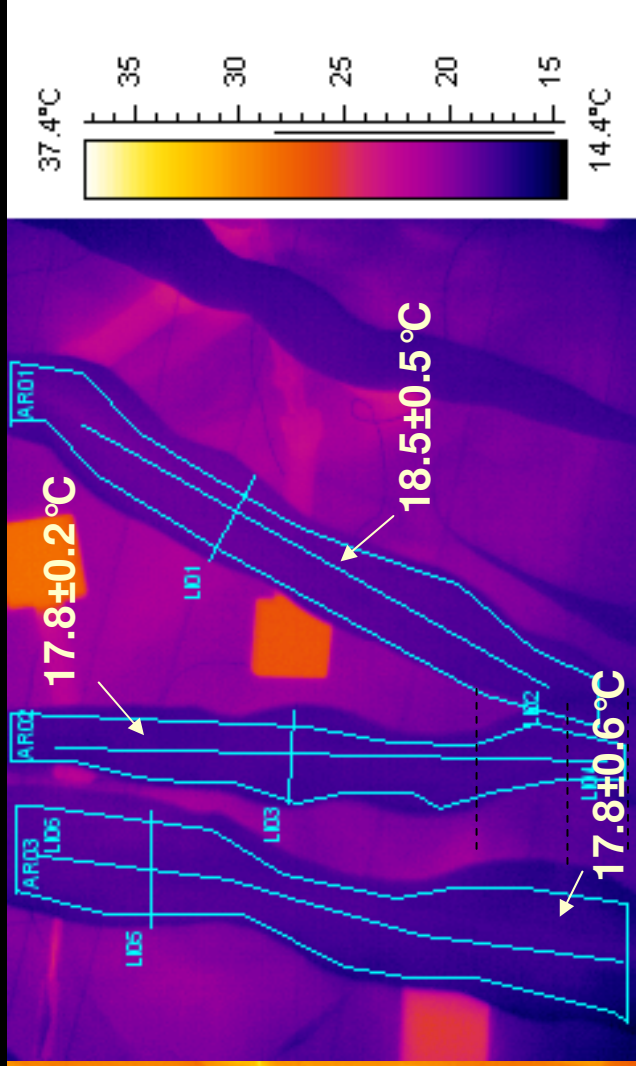
→ Leaves cut into 5-8 transverse sections, water extracted and analyzed from both the mid-rib and lamina sections

Do we really observe a diffusion process?

In the light



In the dark



→ With infrared camera to continuously record leaf temperature heterogeneity (and to some extent stomatal conductance)


Part II: preliminary conclusions

Bulk leaf water isotopic enrichment...

- is not sensitive to leaf geometry
- reveals mixing limitations in mesophyll ($k_m \ll 1$)
at least in some conditions

Spatially-explicit leaf water enrichment...

- indicates enhanced mixing in leaf xylem
(hydrodynamic dispersion?)



**Poplar bud break on one-year whip
and growth spring resumption
in relation with
water and mineral uptake
constraint by nitrogen supply**

*Débourrement et reprise de croissance du peuplier d'un an
en relation avec la modulation des dynamiques
d'absorption hydrique et minérale
engendrée par les apports d'azote au printemps.*

Suraphon THITITHANAKUL, François BEAUJARD, Gilles PETEL
UMR 547, PIAF (INRA. Univ. Blaise Pascal) - Clermont-Ferrand

What we want to show ?

State of Art

- Bud break is a **strong event** in the life of temperate trees.

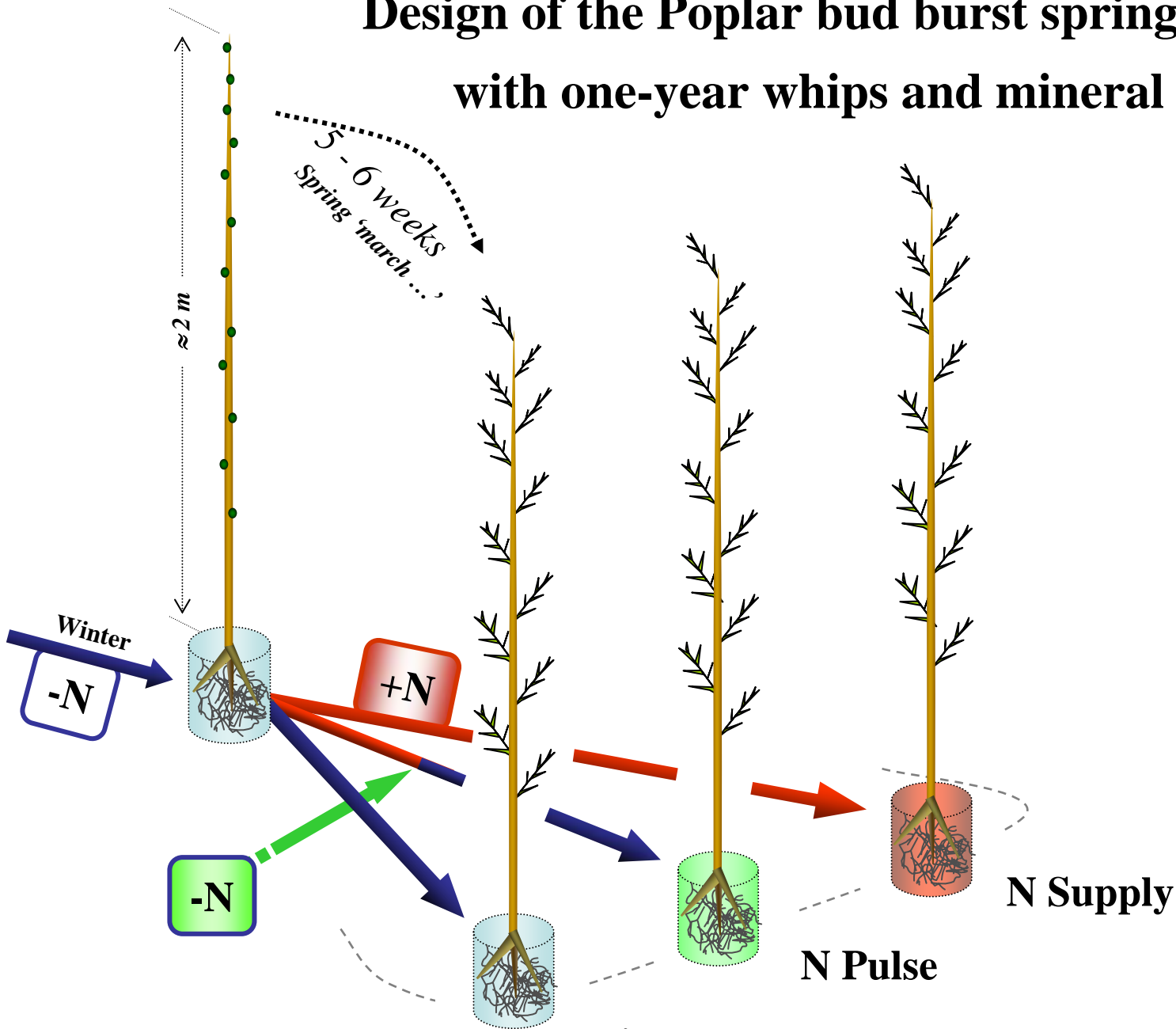
- At this moment buds **reconnect the whole plant network**
with water, mineral and metabolic relationship up to the soil.

- A lot of knowledges on **carbon and nitrogen remobilization** during the spring are available.

- We have not the same knowledges on the **role of the roots environment**
especially for nitrogen availability.

With nitrogen constraint protocol applied in spring. we purpose to contribute to this topic

Design of the Poplar bud burst spring experiment with one-year whips and mineral supply



Without N *Traditional studies on C and N reserves*

Mineral Approach

Dynamic Uptake

undergoing

Nitrogen Constraint Availability



*Experiment made under greenhouse
and with recirculating nutrients systems
(3 lines. 5 plants per line)*

1 - Nitrate uptake

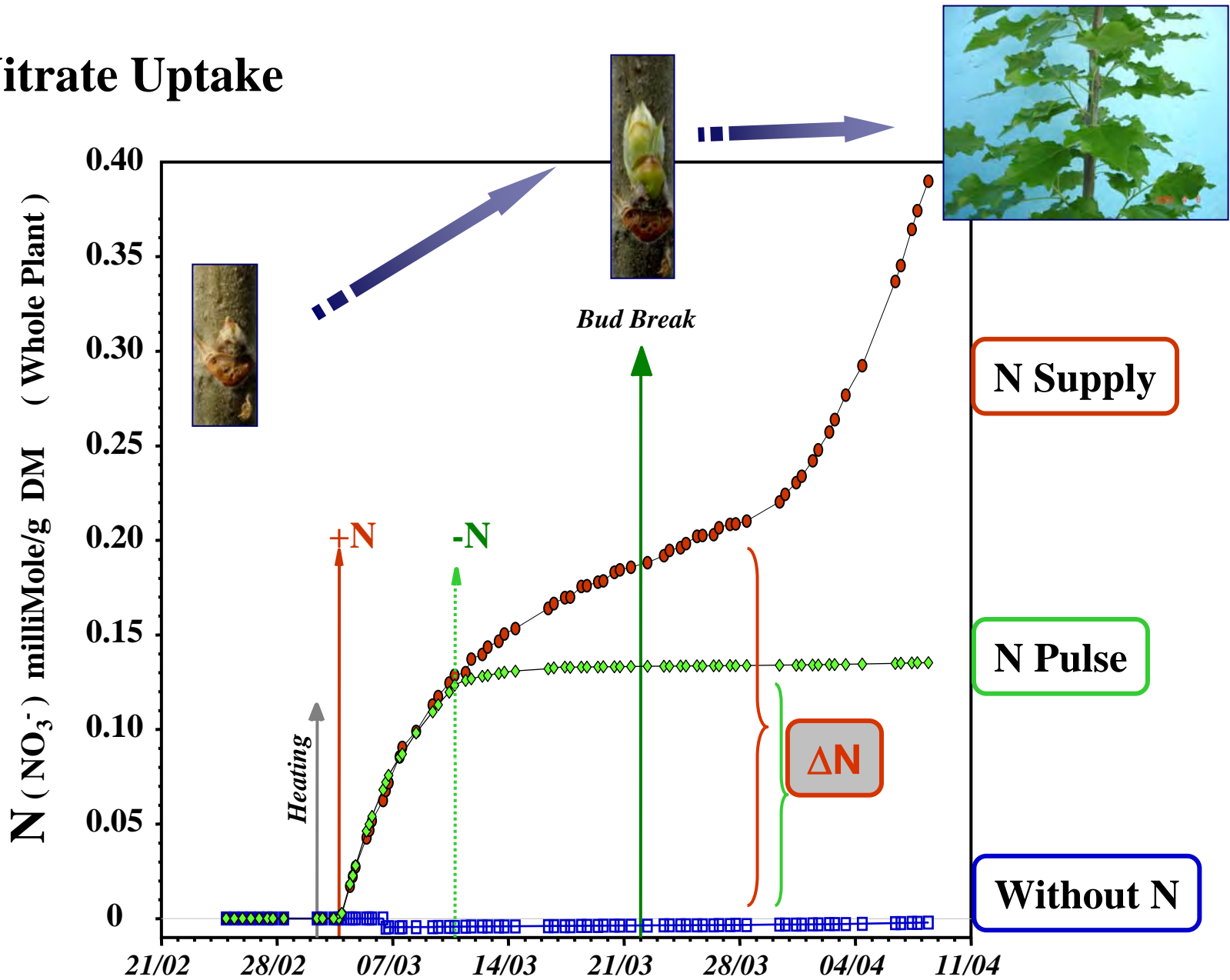
2 - Potassium uptake

like monovalent cation

3 - Calcium uptake

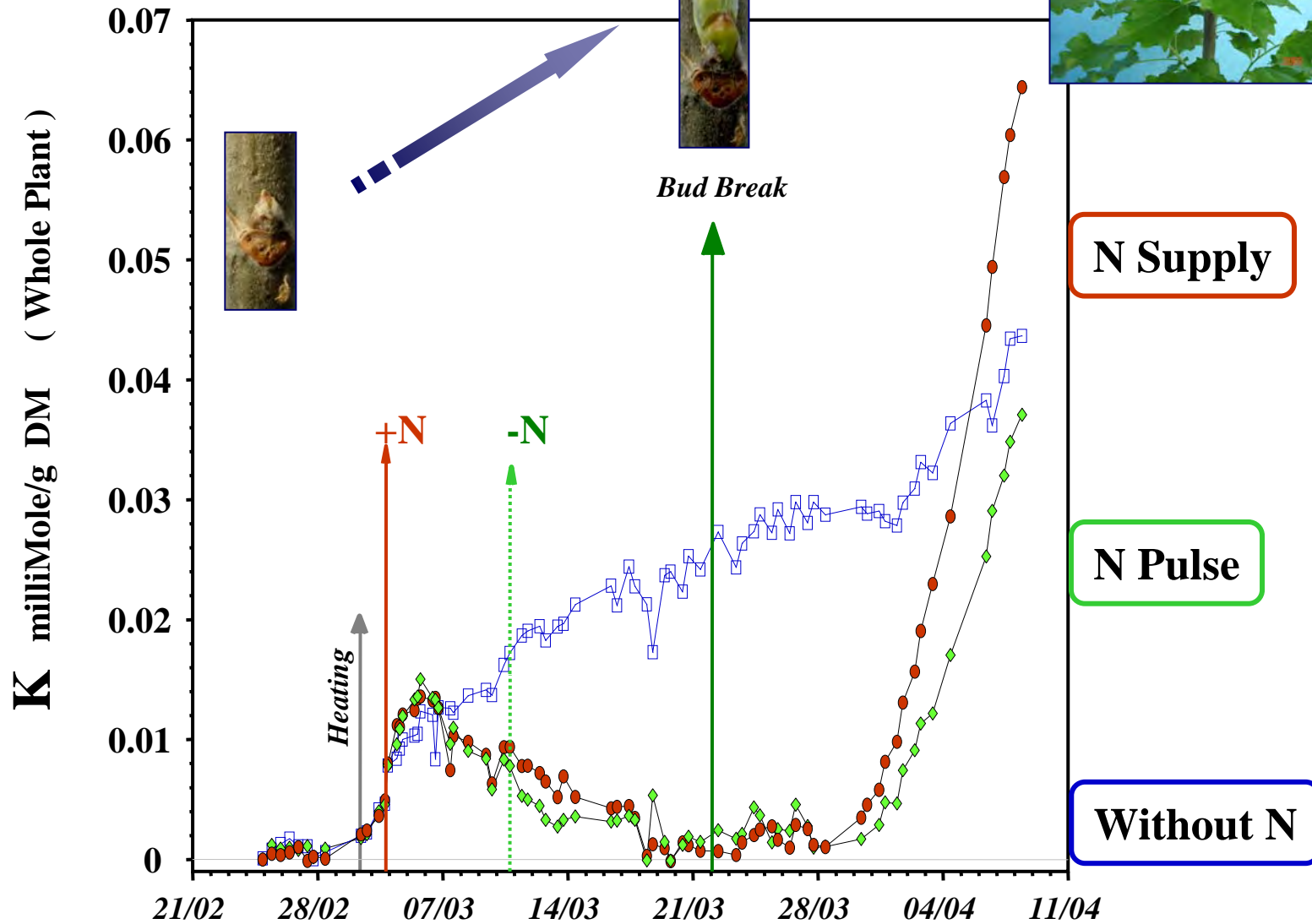
like divalent cation

1 - Nitrate Uptake

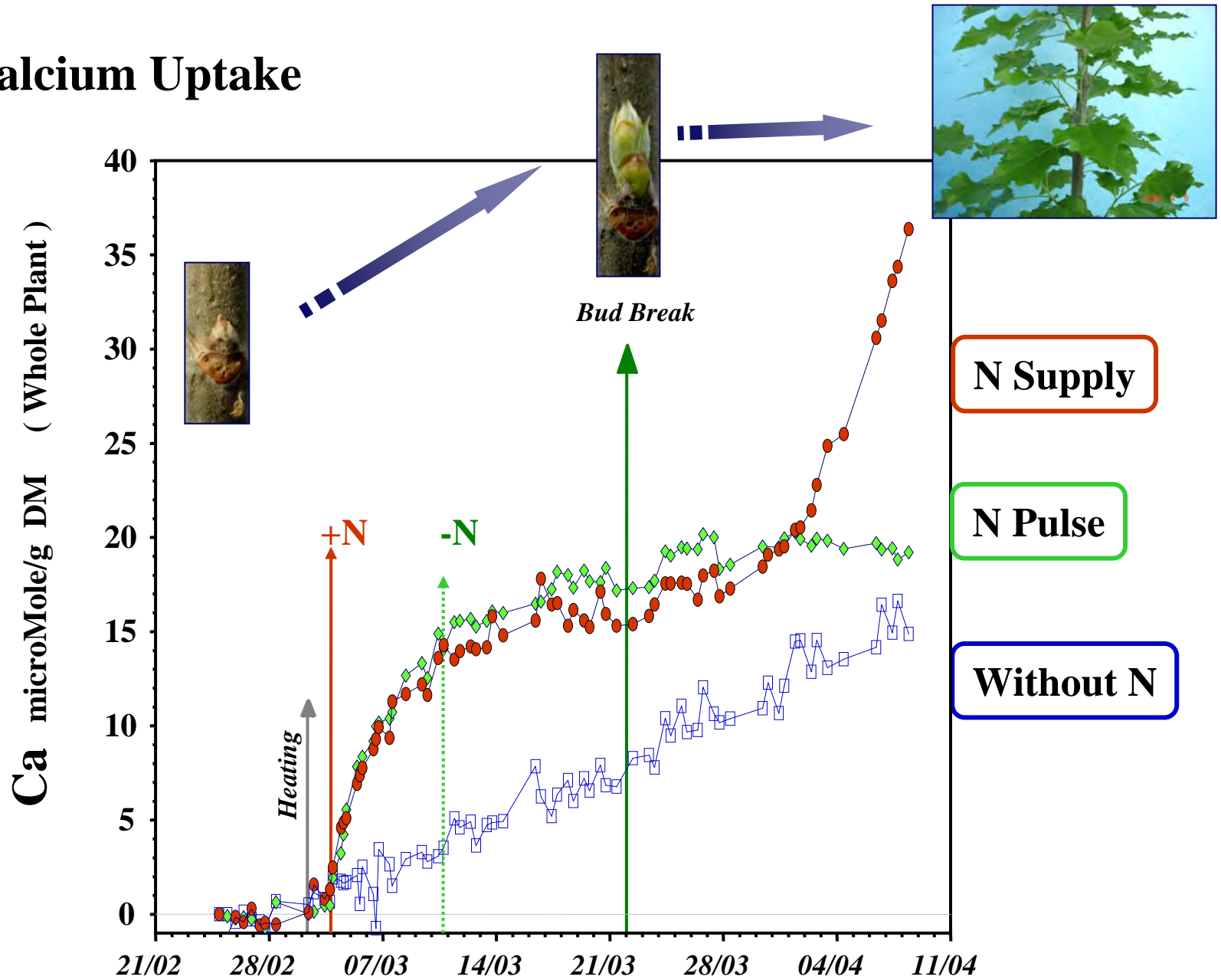


What is the effect of the ΔN uptaken before and after the bud break ?

2 - Potassium Uptake



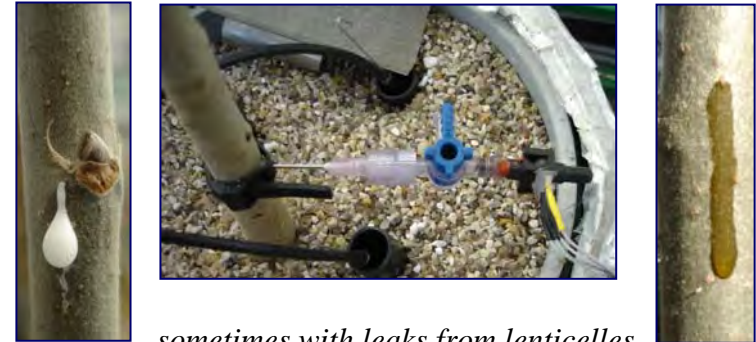
3 - Calcium Uptake



Physical Approach

1- before the bud break

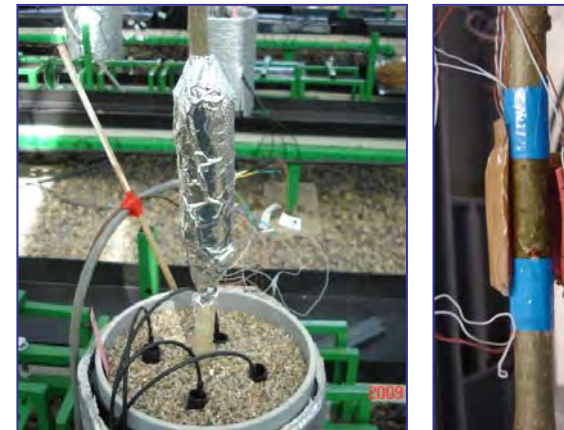
Xylem Sap Pressure Measurement



*... sometimes with leaks from lenticelles
in case of a high pressure ...*

2 - after the bud break

Sap Flow Measurement

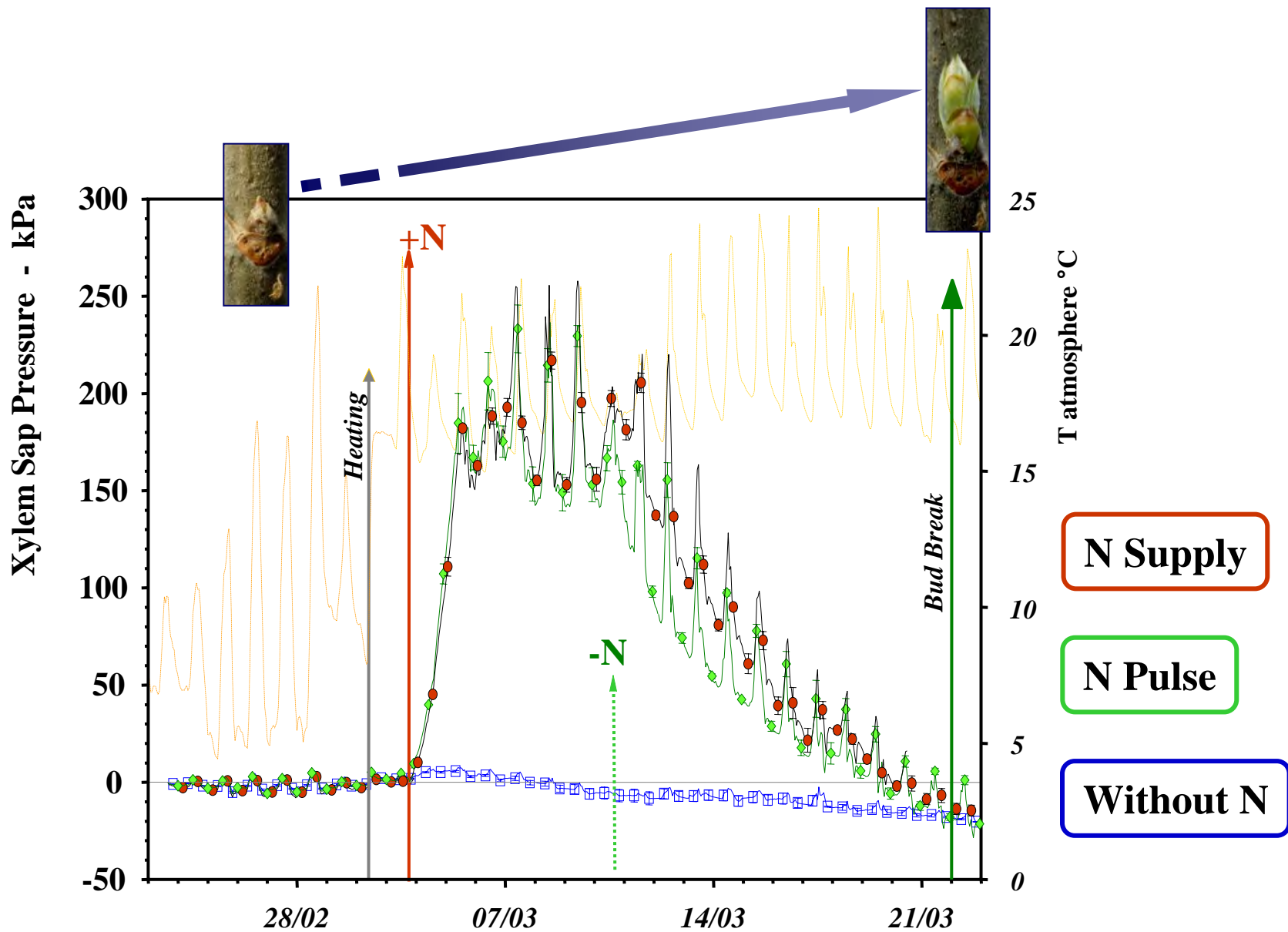


*... modified and without any hole to prevent leaks
in accordance with the method of Valancogne and Nasr (1989)*



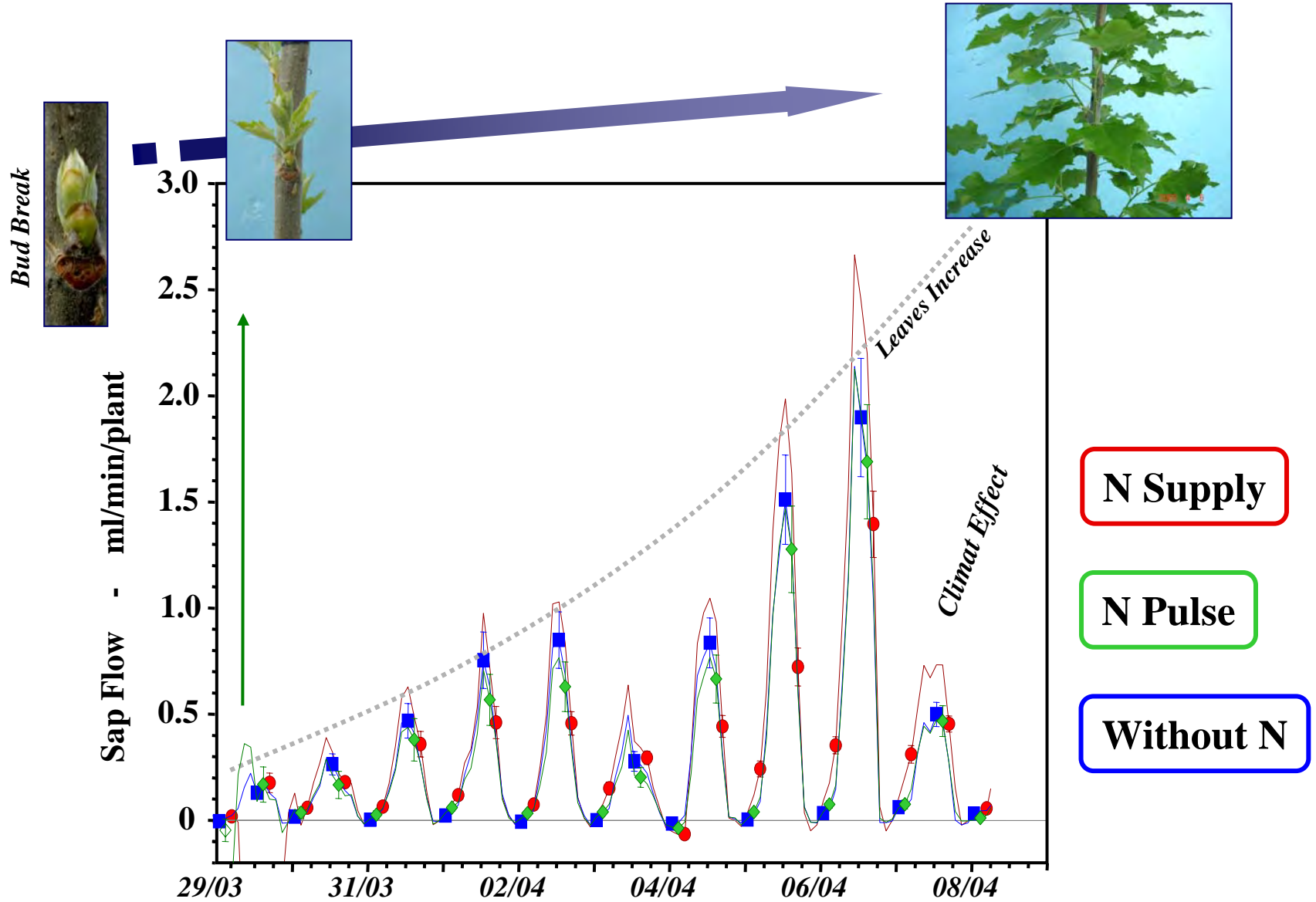
Experiment made under the greenhouse during the spring (2009)

Sap Pressure *like* N-Pressurisation Pattern (*before the Bud Break*)



Sap pressure like N-pressurisation contributes to fill up xylem vessels and to improve tissues hydration

Start of the Xylem Sap Flow *measured by the Heat Balance Method*



Sap flow increases with the N supply treatment and also with leaf area growth

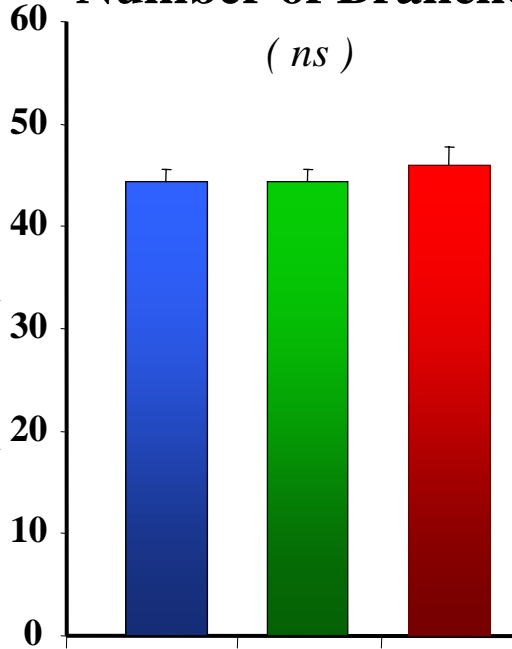
**Results of nitrogen supply
in architecture and C and N use
10 days after the first leaf release**



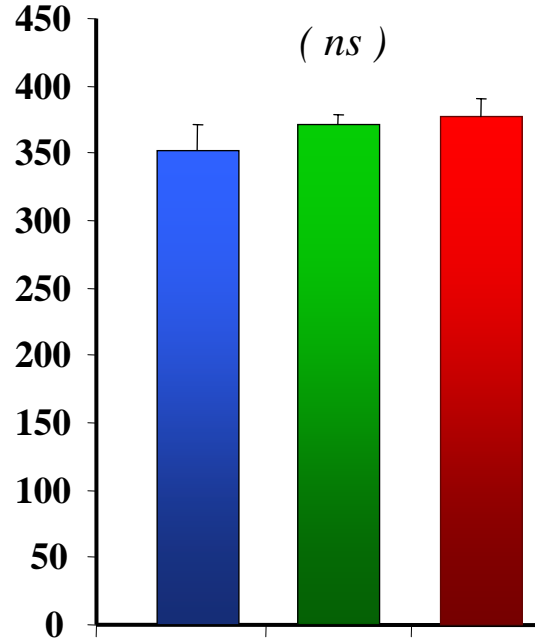
1 - Impact on Architecture and Leaves Growth



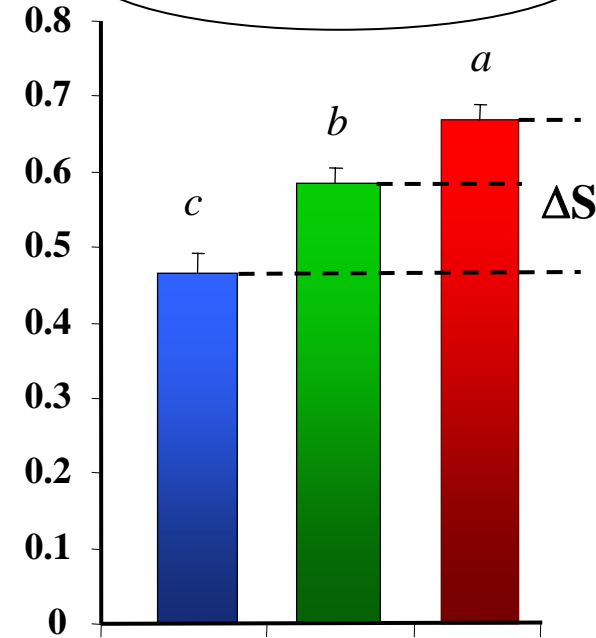
Number of Branches



Number of Leaves



Leaves Area - m²



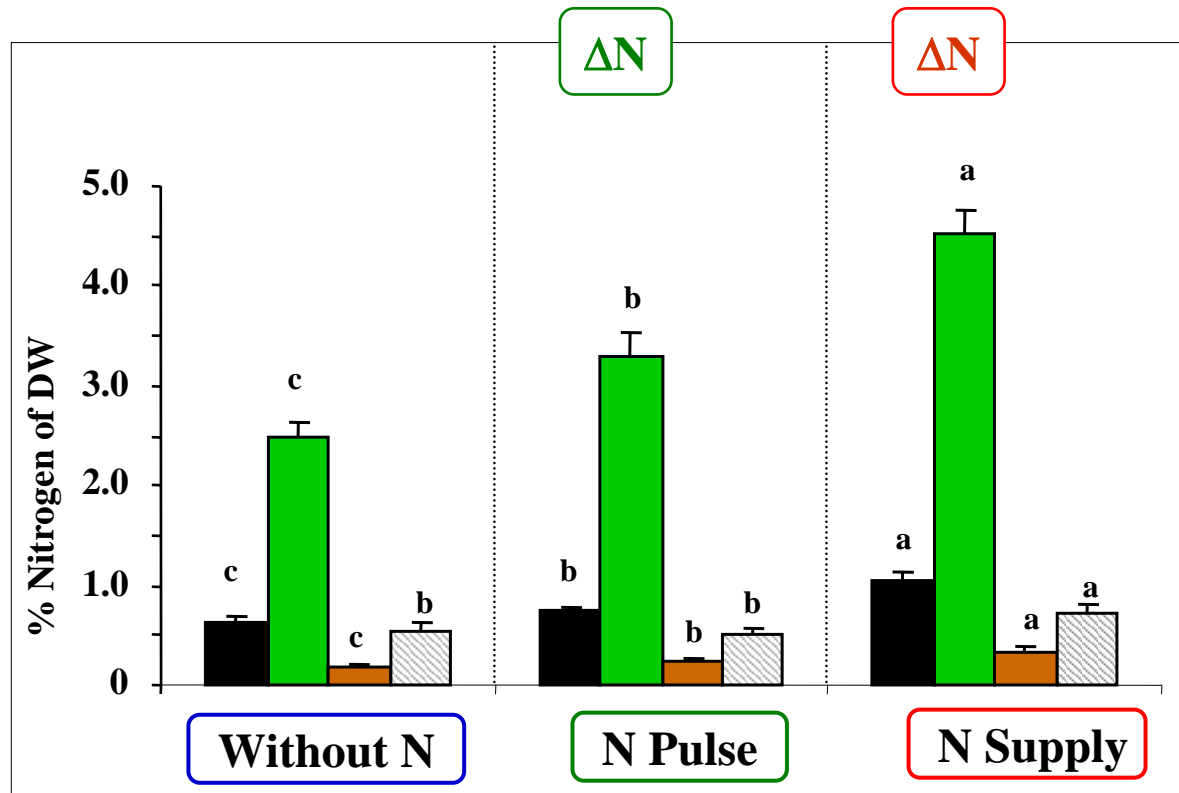
Without N

N Pulse

N Supply

In the both case, N-input increases the size of leaves but does not change organs number

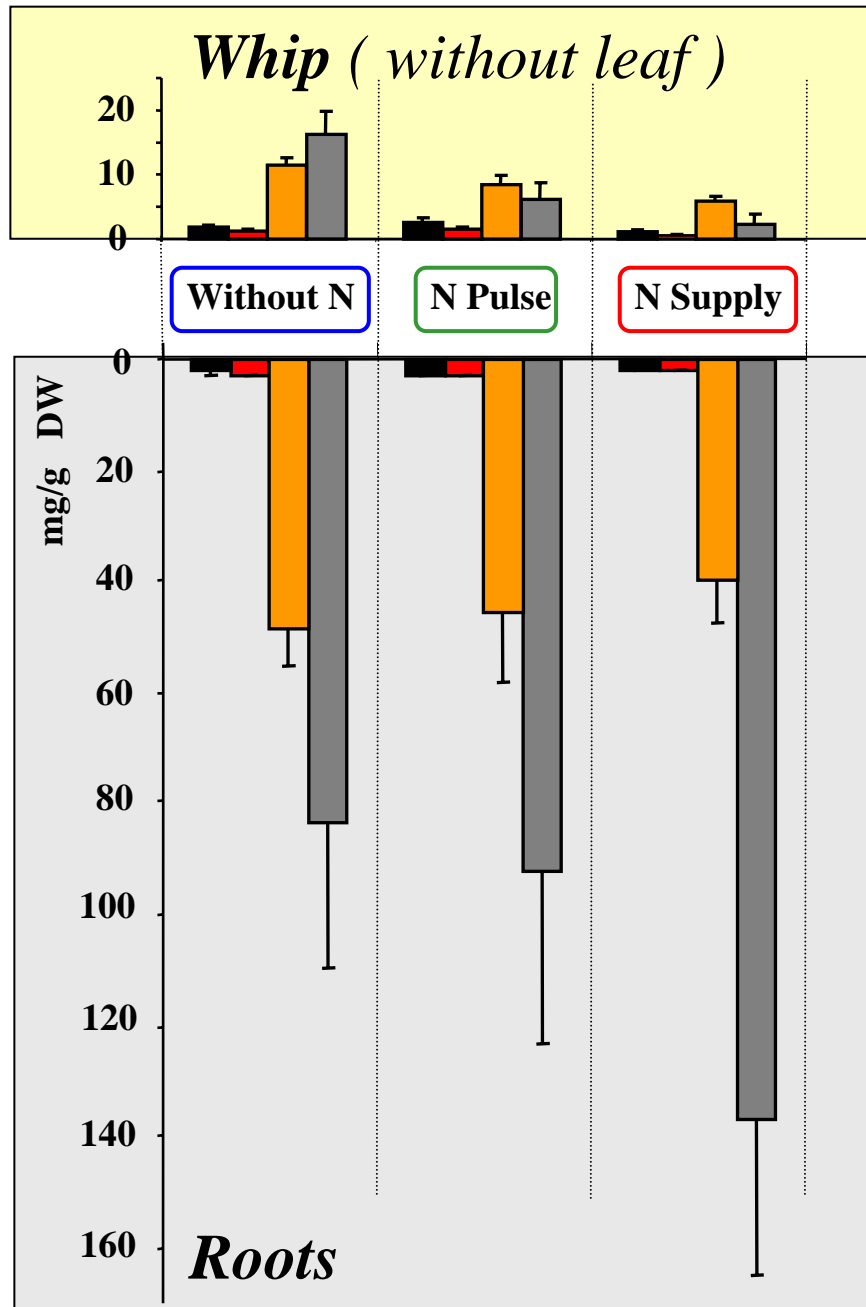
2 - Nitrogen Content of all Tissues at the End of the Experiment



■ Whole Plant	↗	↗ ↗
■ Leaves	↗	↗ ↗
■ Whip	↗	↗ ↗
▨ Roots	→	→ ↗

*In each case.
nitrate supply
increases
N-pull like
N-reserve*

3 - Change in Sugar Balance Use with N-treatment



Variations compared with control

Elementary Sugars **N Pulse** **N Supply**

Glucose ■	W	↗	↘
	R	→	→

Fructose ■	W	↗	↘
	R	→	→

Transport Form and Reserves

Saccharose ■	W	↘	↘ ↘
	R	→	→

Starch ■	W	↘	↘ ↘
	R	→	↗ ↗

With N-input, plant uses preferentially stem sugars

Integrative point of view to conclude

According to edaphic nitrogen availability,

Poplar significantly **uptakes** nitrate **before** and **after** the bud break

Effects : _____

- do **not** alter the **bud break profil** all along the one-year whip

- **moisten** all aerial and root tissues from a **high root pressure stimulation**

- change **K and Ca** uptake as a link with **nitrogen leader** role

- increase existing **N storage**

- **modify** carbone storage remobilization as **root/shoot use balance**

- at the end **increase** the first steps of the leaf growth

and probably their **relations with environment**: photosynthesis and water flux

N pulse like a small nitrogen apply in spring

gives to a strong physiological effect taken over from the leaf growth.



Thank you for your attention

and also to

Christian BODET

Christophe SERRE

Marc VANDAME

Brigitte SAINT JOANIS

Brigitte GIRARD

for their help and lab's work

Suraphon THITITHANAKUL, François BEAUJARD, Gilles PETEL

Débourrement et reprise de croissance du peuplier d'un an en relation avec la modulation des dynamiques d'absorption hydrique et minérale engendrée par les apports d'azote au printemps.

Le débourrement des bourgeons est un évènement fort et un repère dans le cycle de développement de l'arbre. Durant cette période, la reprise de croissance et l'étalement des premières feuilles sont accompagnées d'une véritable remise en place des flux d'eau, de carbone organique, d'ions et du retour fort à la photosynthèse. Le rôle des réserves carbonées et azotées dans ce processus est primordial, et a été, et continue à être bien étudiées. Les recherches ont cependant délaissées l'alimentation minérale et azotée pendant cette phase pour être focalisées sur à la remobilisation de réserves. Toutefois, on peut considérer que la plante en reprise de croissance va aussi reprendre une forte interaction avec son environnement édaphique au moins pour les composantes hydrique et minérale. On avait déjà montrer que certains arbres (noyer, érable, peuplier) pouvaient absorber une part significative d'azote avant le débourrement et que celle-ci porte à conséquence sur la pression de la sève xylémienne racinaire, la réhydratation des tissus et, potentiellement, le remplissage *de novo* de système vasculaire embolisé. Pour aborder le lien entre cette absorption, la qualité du débourrement et la remobilisation des réserves, nous avons conduit des expériences de printemps sur le peuplier d'un an qui fond intervenir des apports contrôlés d'azote pendant cette période. Les suivis dynamiques de l'absorption minérale, de la pression de la sève xylémienne, de remise place de la transpiration ainsi que la caractérisation de l'architecture des plantes et de l'état des réserves peu après le débourrement, montrent de fortes différences dans le fonctionnement du végétal et donc dans sa préparation à la croissance printanière puis estivale. Nous proposons d'en présenter et d'en discuter les résultats.

Poplar bud break on one-year whip and growth spring resumption in relation with water and mineral uptake constraint by nitrogen supply

Bud break is a hard event and a mark for the developmental sequences of the tree. During the spring, the growth of tree increases and first leaves spreading over. Furthermore, the flows of water, carbon and ionic elements get back with the transpiration and photosynthesis. At this moment, carbon and nitrogen reserves play a leading role. These events are well known and are still studying. However, spring researches have neglected mineral and nitrogen uptake in order to focus on the reserves use. So we could consider a real rebuilt of a strong interaction between plant, water, and mineral roots environment during the spring. In previous works, we have known that some trees (maple tree, poplar, walnut tree) can uptake a significant part of mineral nitrogen before the bud break. This uptake leads to a high root pressure peak, tissues return hydrate and it could create an opportunity to refill the injured embolism xylem vessels. To study the link between mineral uptake, quality of the bud break and reserves use, we have led spring experiments on the one-year whip of poplar with controlled nitrogen supplies. Results demonstrate significant differences in the plant functioning and the start growth point for the spring and further. We purpose to show and discuss results of theses spring experiments i.e mineral uptake, xylem sap pressure variation, first step of the transpiration and C and N reserves level in few days after bud break

Suraphon THITITHANAKUL, François BEAUJARD (1), Gilles PETEL

UMR 547, PIAF, (INRA, Univ. Blaise Pascal), Site de Crouel, Centre INRA de Clermont-Ferrand, 234 Av. du Brézet, 63100 Clermont-Ferrand, France - *Correspondance* : beaujard@clermont.inra.fr

Etude du fonctionnement hydrique et hydraulique du pommier et noyer

Fabiano SIMOES

25 nov 09

Doctorat cotutelle

▶ Institutions



Université Fédérale de Pelotas

- Physiologie Végétale
- Embrapa Clima Temperado



Université Blaise Pascal

- Physiologie et génétique moléculaires
- INRA – PIAF



▶ Directeurs de thèse



Brésil: Falvio Gilberto HERTER



France: Gilles PETEL et Hervé COCHARD

Objetifs de stage

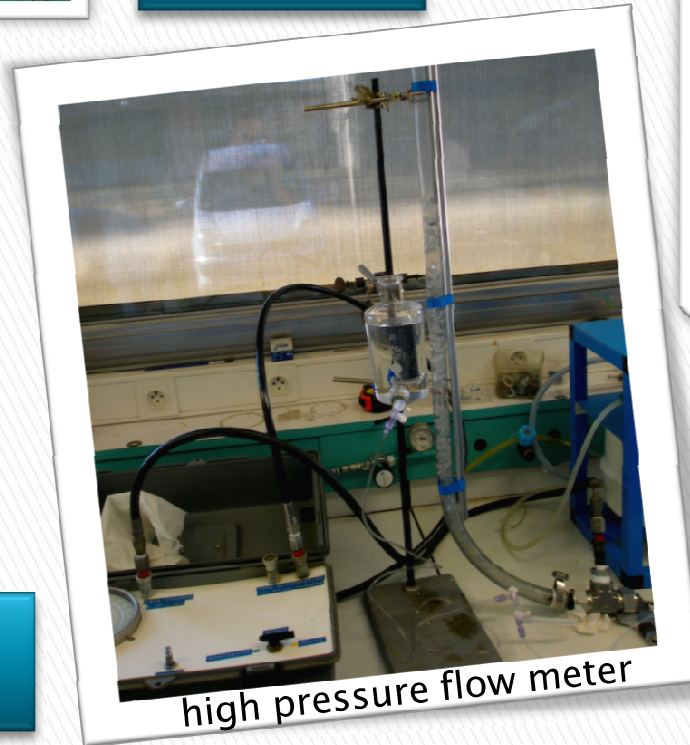
- ▶ Apprentissage des techniques hydrauliques
 - Etudier les différentes techniques pour la détermination des courbes de vulnérabilité de la cavitation et ses relations
- ▶ Etude du fonctionnement hydraulique hivernal
- ▶ Etude du fonctionnement hydraulique estival
 - Le cycle de sécheresse en chez le pommier et le noyer

1°

Différentes Techniques pour la détermination des CVs



Xyl'em



HPFM

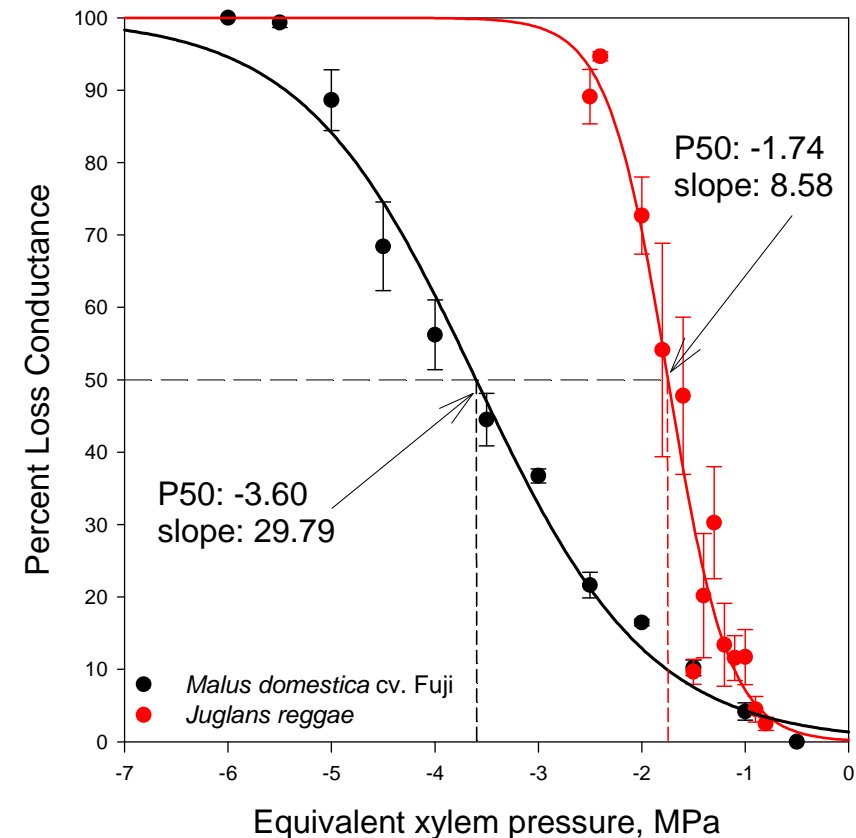
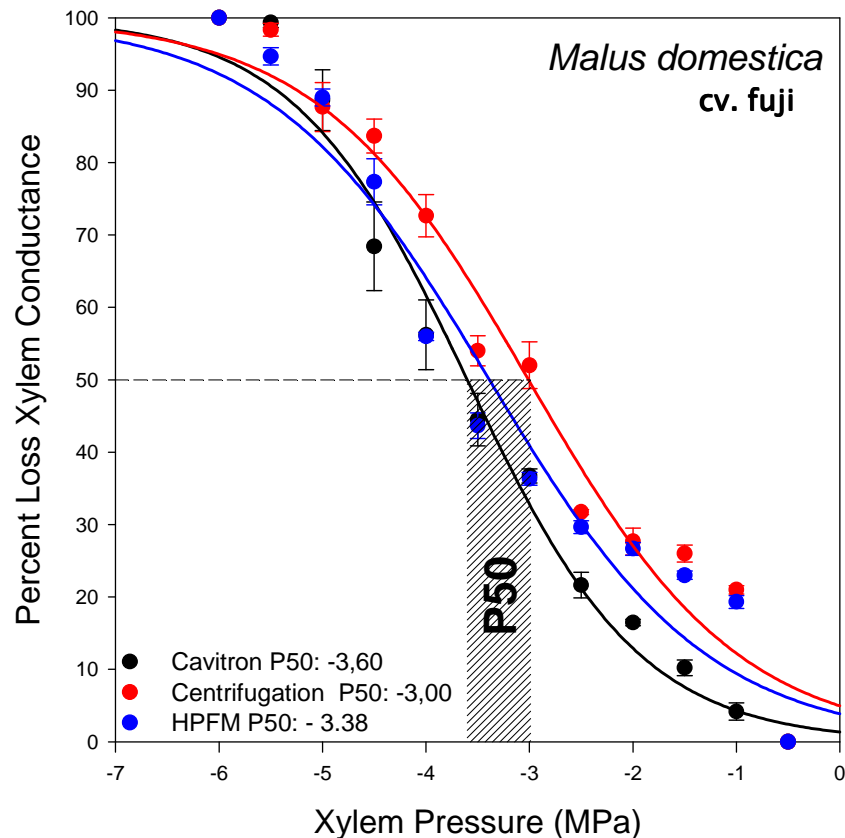
high pressure flow meter



Cavitron



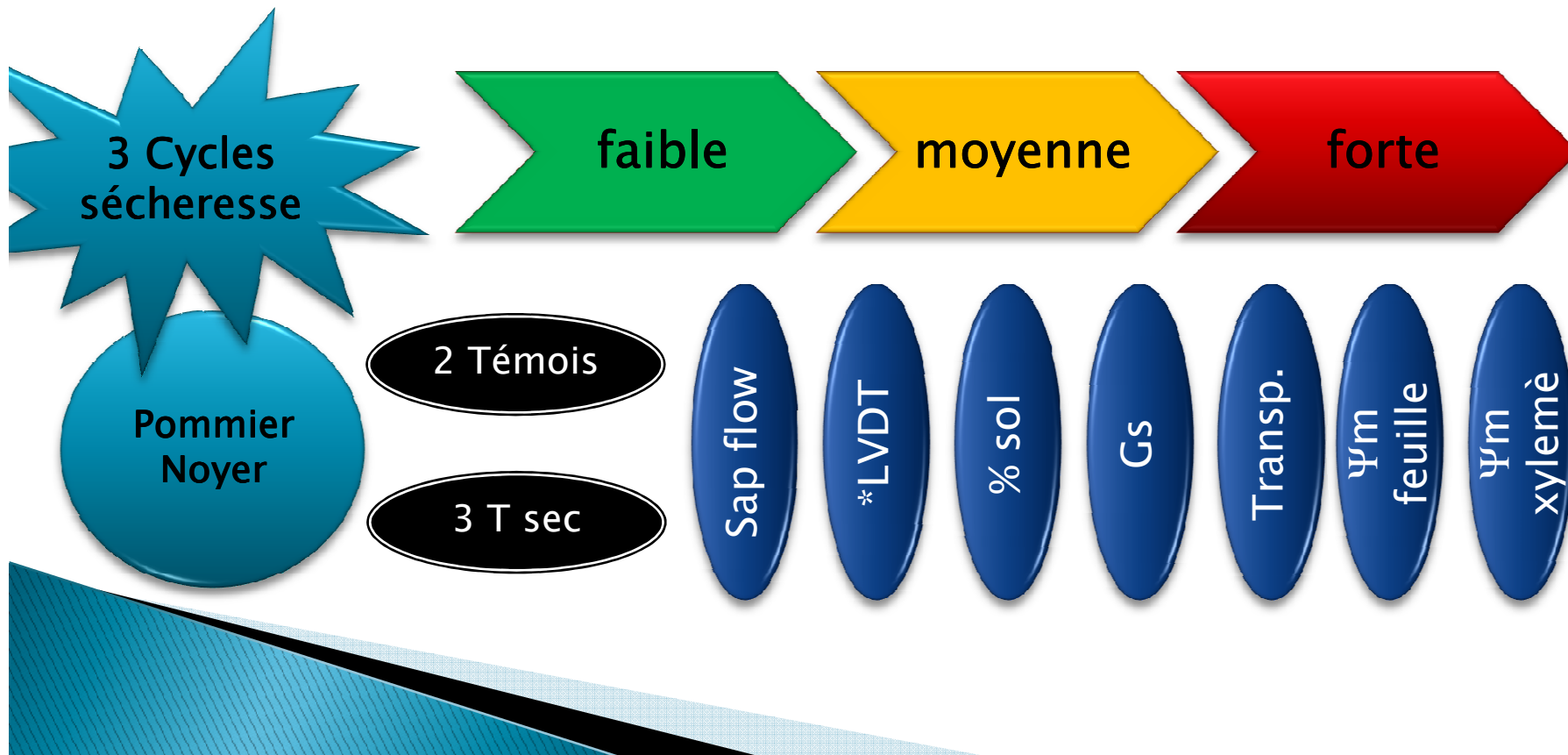
CVs grace aux différentes techniques chez 2 espèces



2°

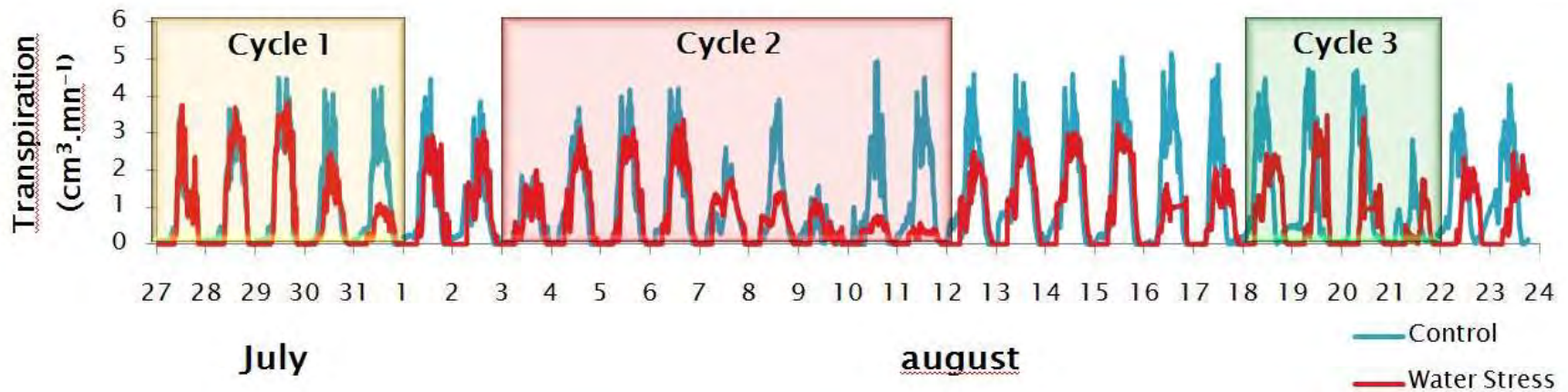
Manip sécheresse édaphique

- ▶ Objectif
 - Fonctionnement du stress chez le pommier et le noyer
 - Comportement de la réhydratation

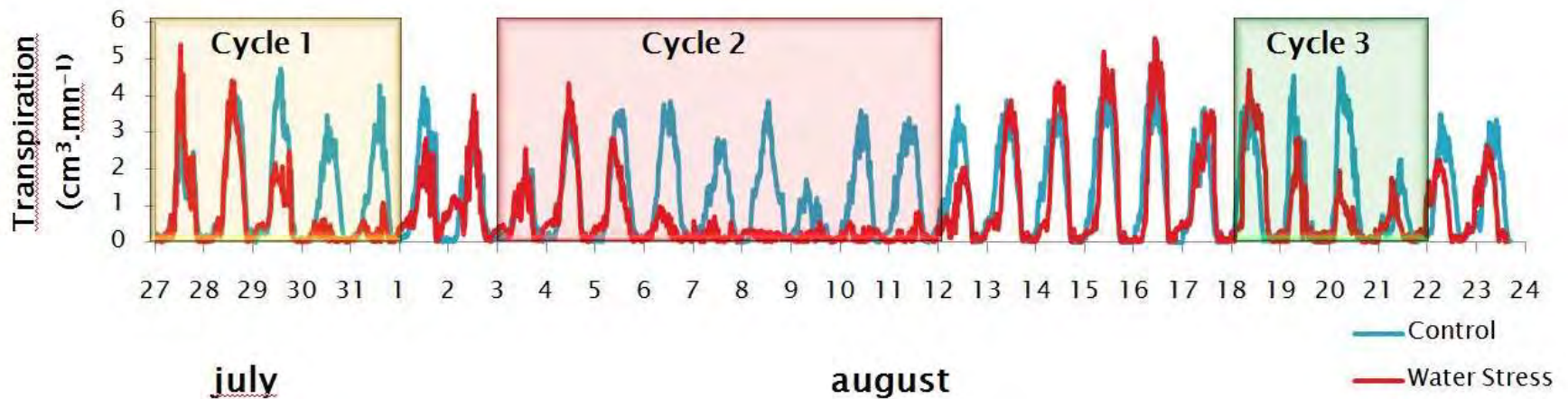


Cycle de la transpiration flux de séve

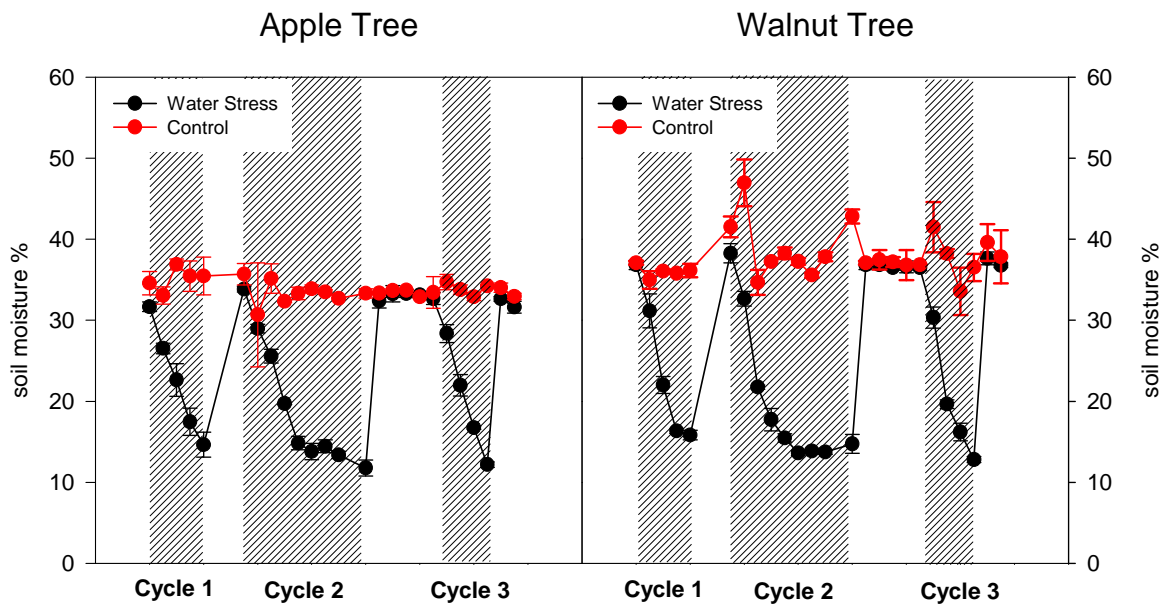
Pommier



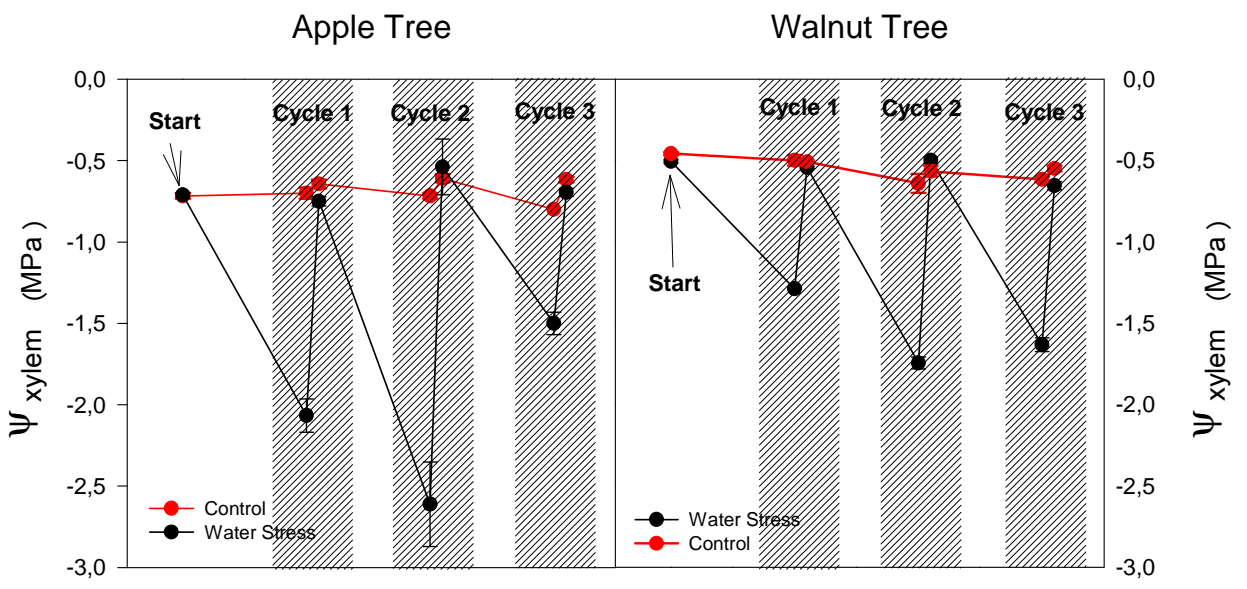
Noyer



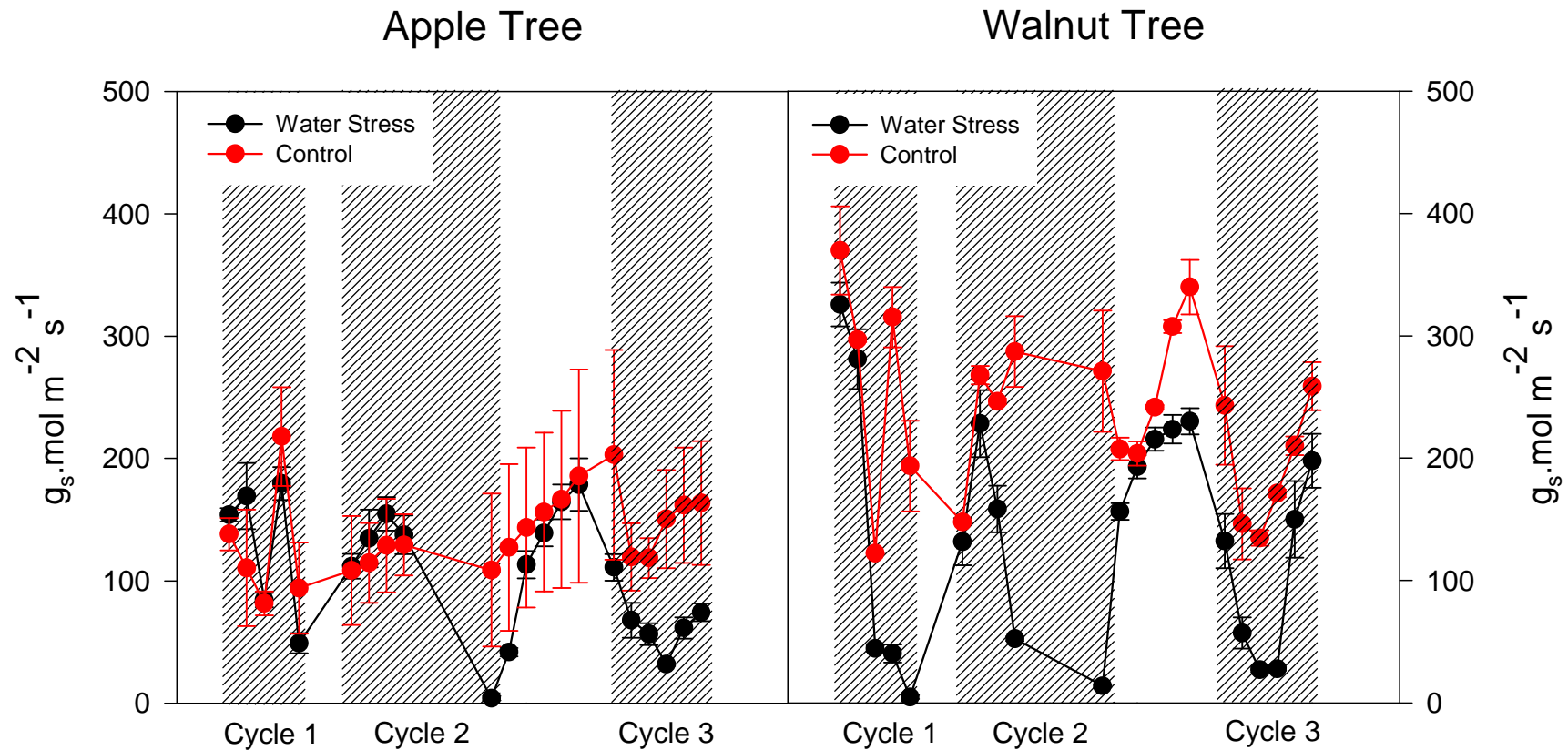
humidité du sol



Ψ Xylème minimum



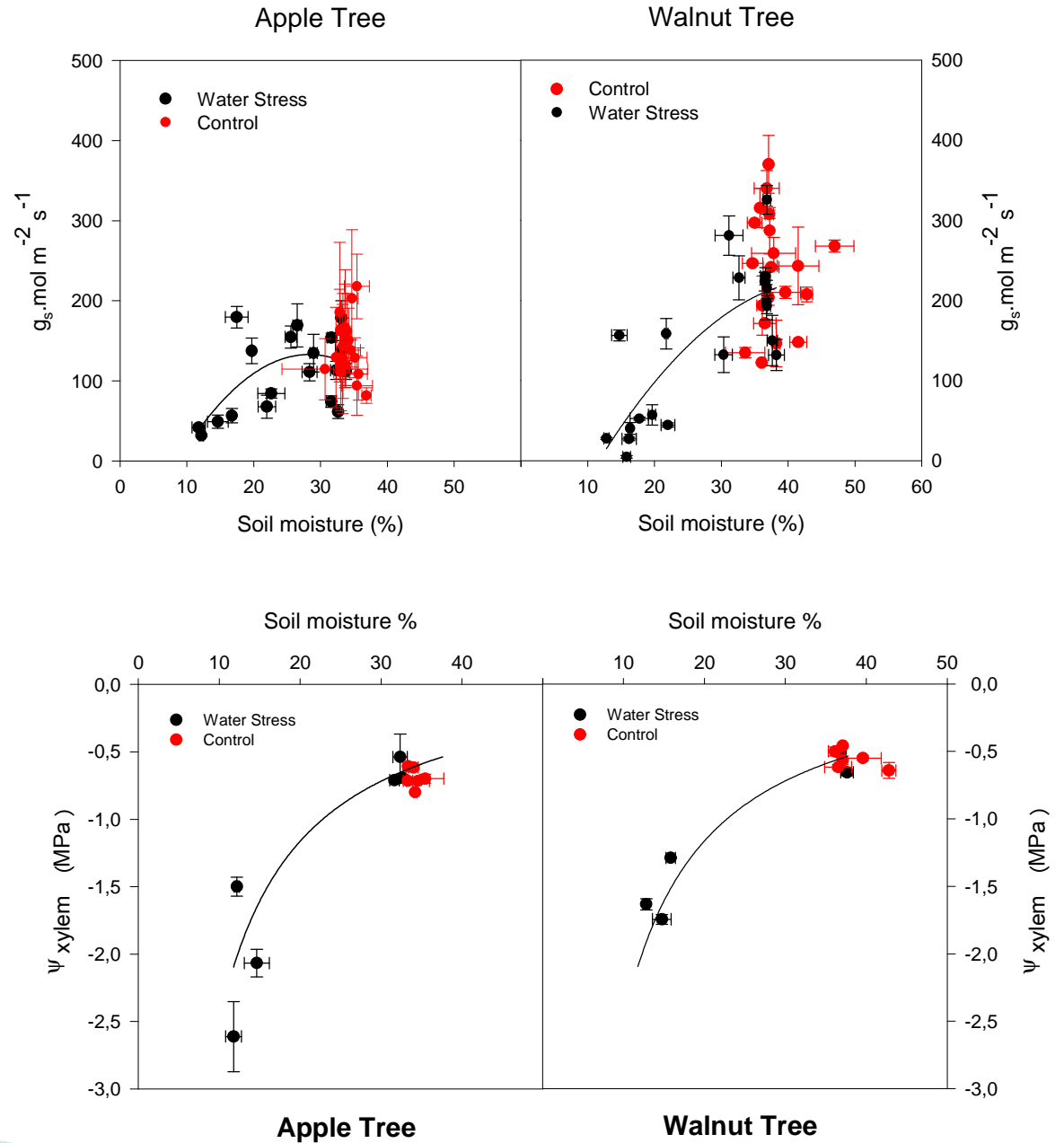
Conductance stomatique



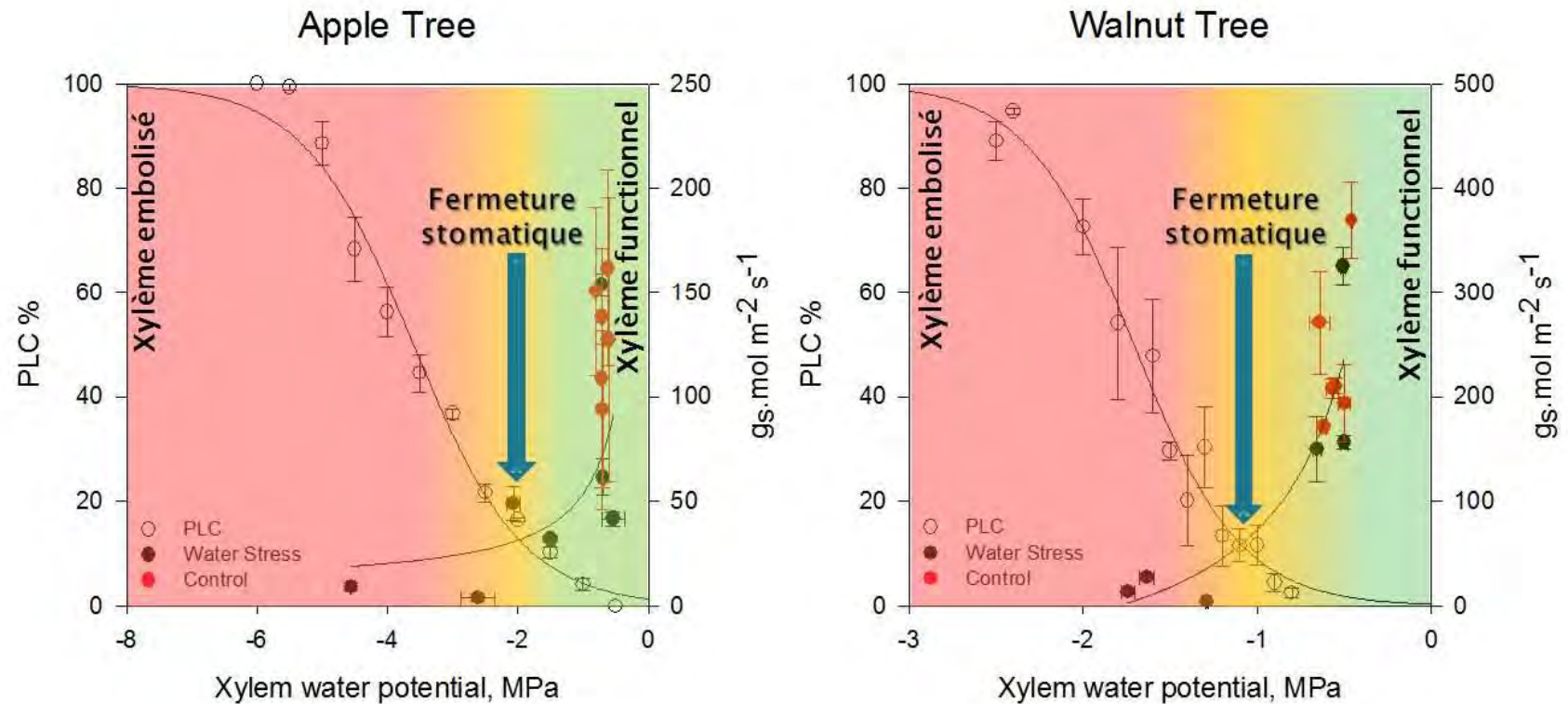
Relations

$$H_2O \text{ sol } \% \times g_s$$

$$H_2O \text{ sol } \% \times \Psi_{\min} \text{ Xylème}$$

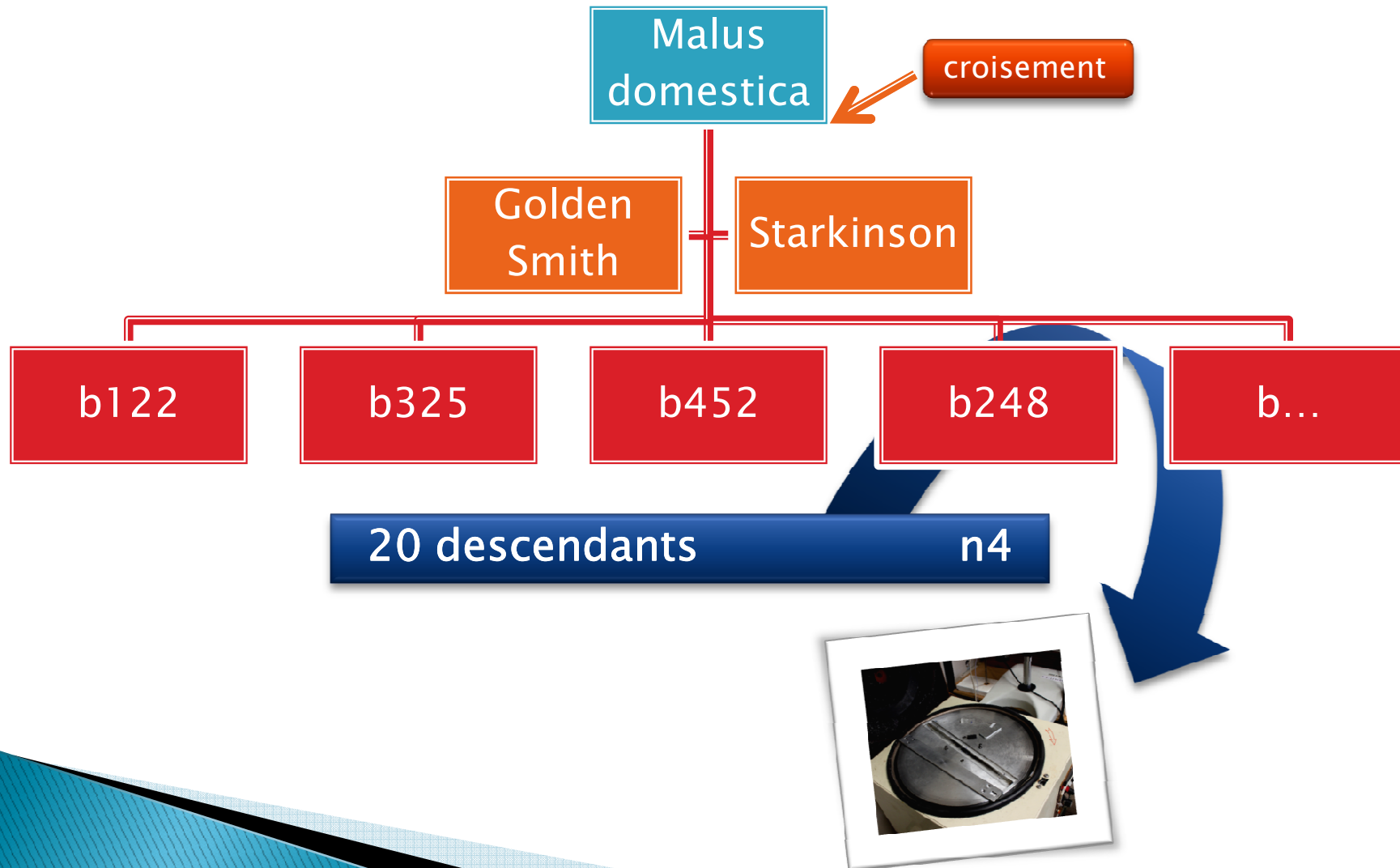


Régulation des pertes en eau: fermeture des stomates

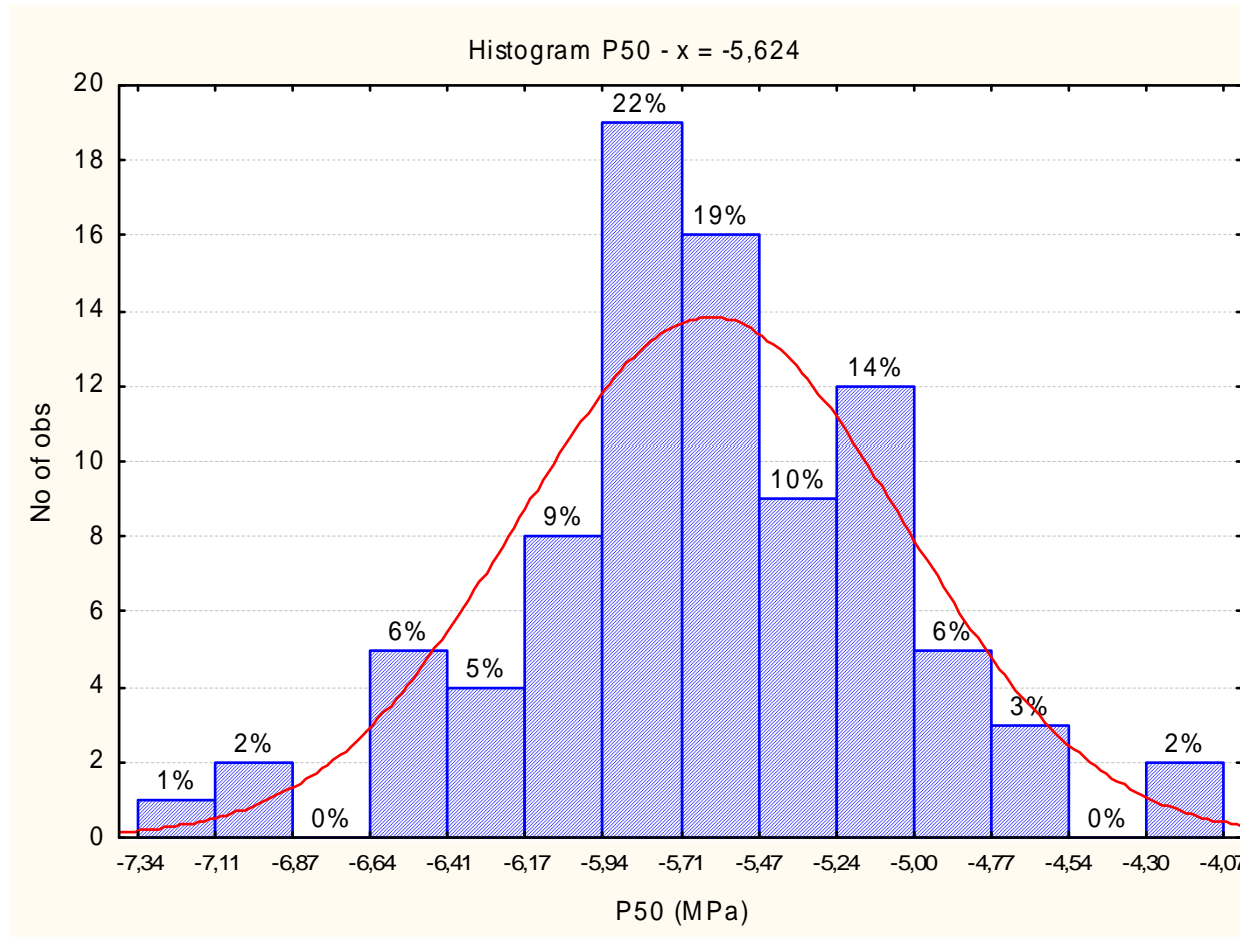


3°

Etude de la vulnérabilité à la cavitation chez une descendance de pommier



Histogramme



Perspectives

- Etudier variabilité génétique de la résistance à la cavitation
- Identifier des génotypes plus performants face aux contraintes hydriques

Remerciements

- ▶ Equipe technique
 - Christophe SERRE, Christian BODET, Pierre-Henri CONCHON
- ▶ Tout l'équipe INRA – Piaf



MERCI DE VOTRE ATTENTION



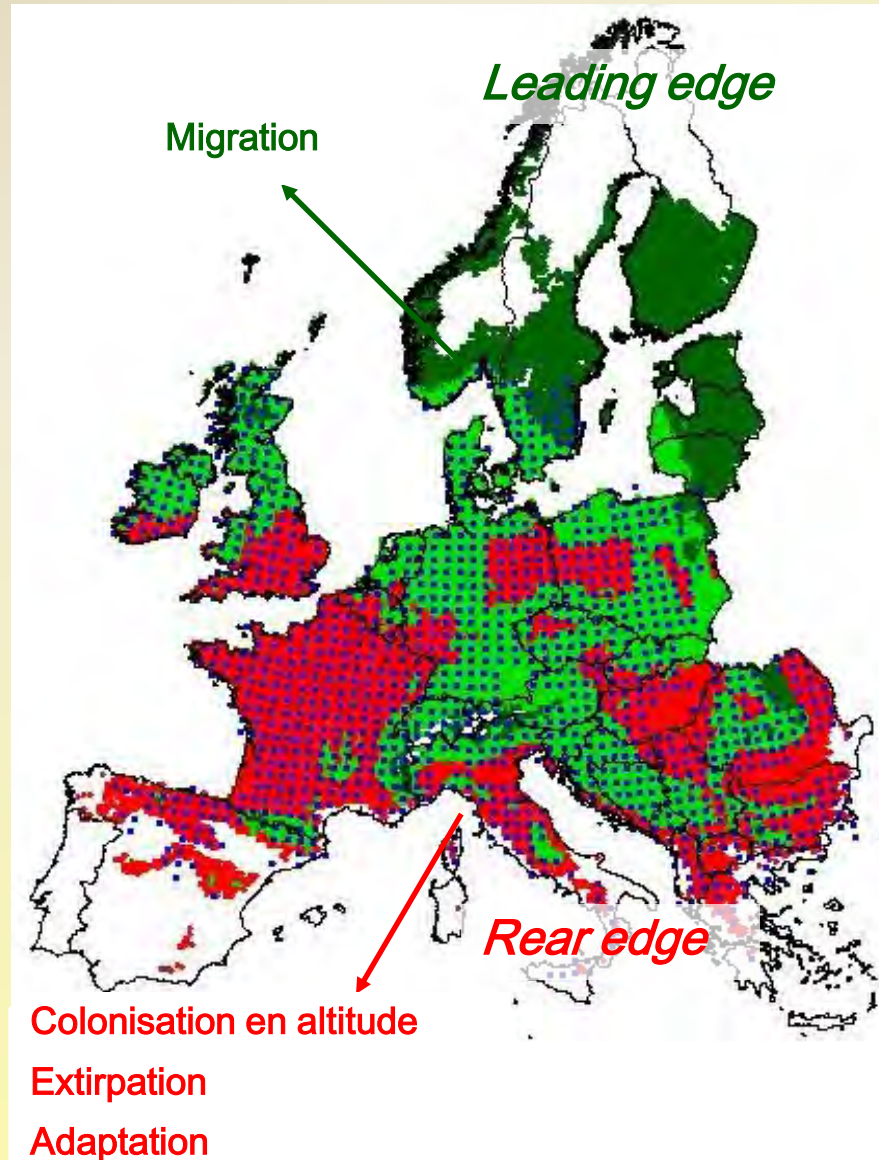
Fonctionnement hydrique d'une pinède à Chêne vert



Morgane Urli, Jean-Baptiste Lamy, Régis Burlett,
Fabrice Sin, Annabel J. Porté et Sylvain Delzon

Déplacement prévu du bioclimat des espèces dû aux changements climatiques

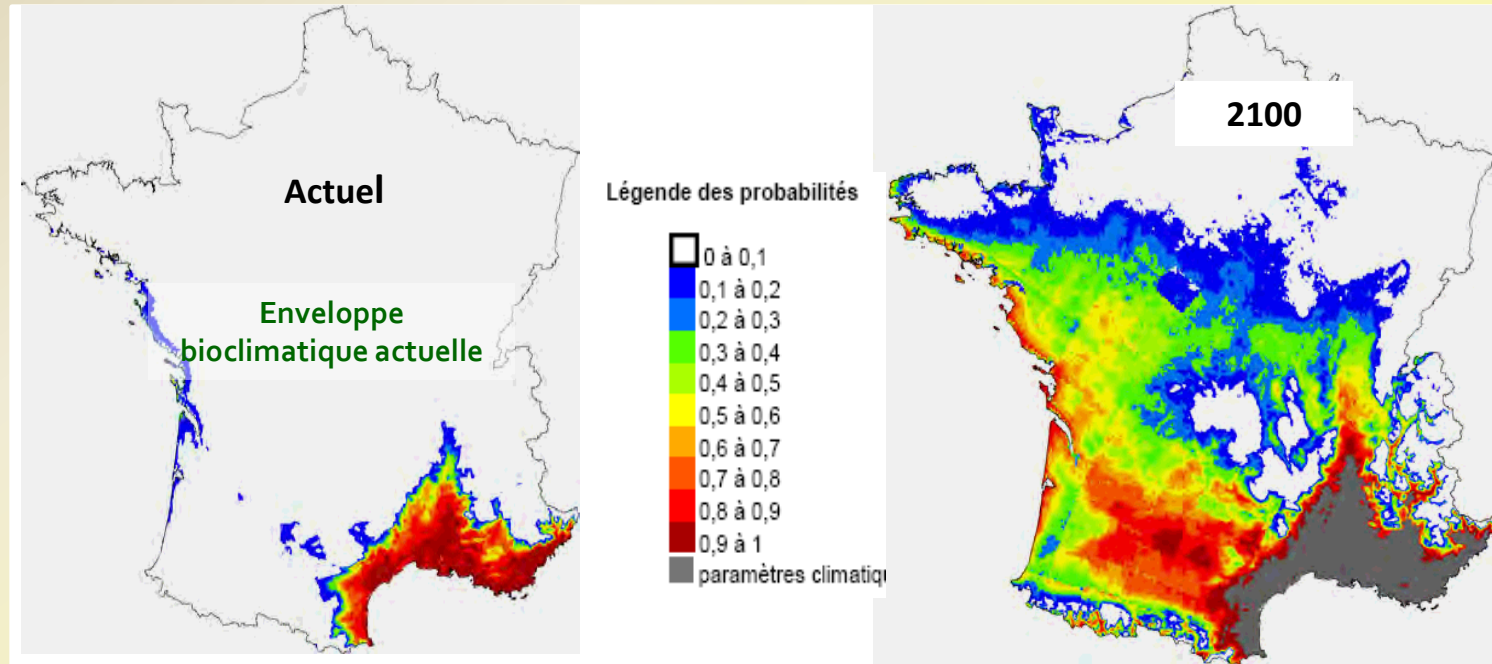
Distribution future de
Quercus petraea :
2080
simulation BIOMOD



Thuiller *et al.* (2005)

La cas du Chêne vert en limite Nord

Modélisation de l'enveloppe bioclimatique du Chêne vert en France

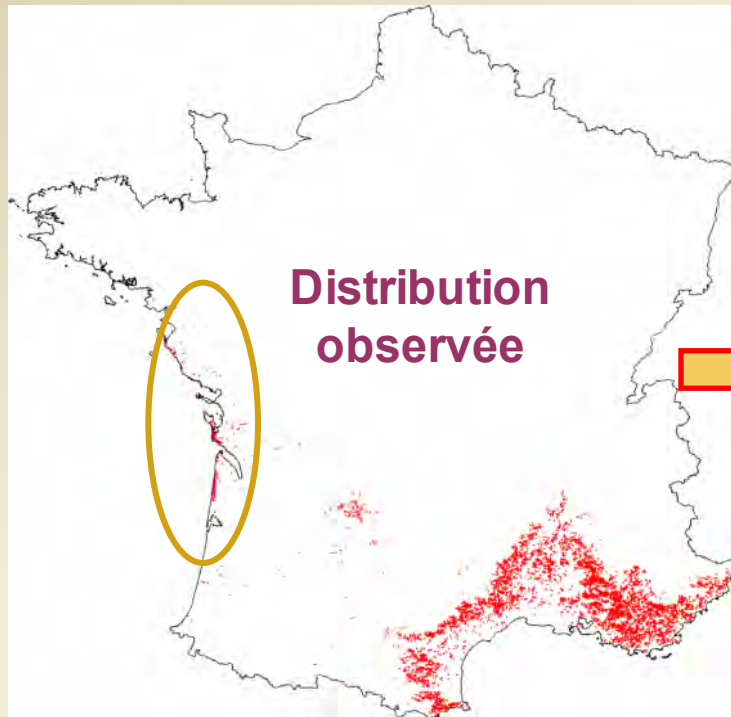


Projet CARBOFOR , Badeau *et al.* 2009

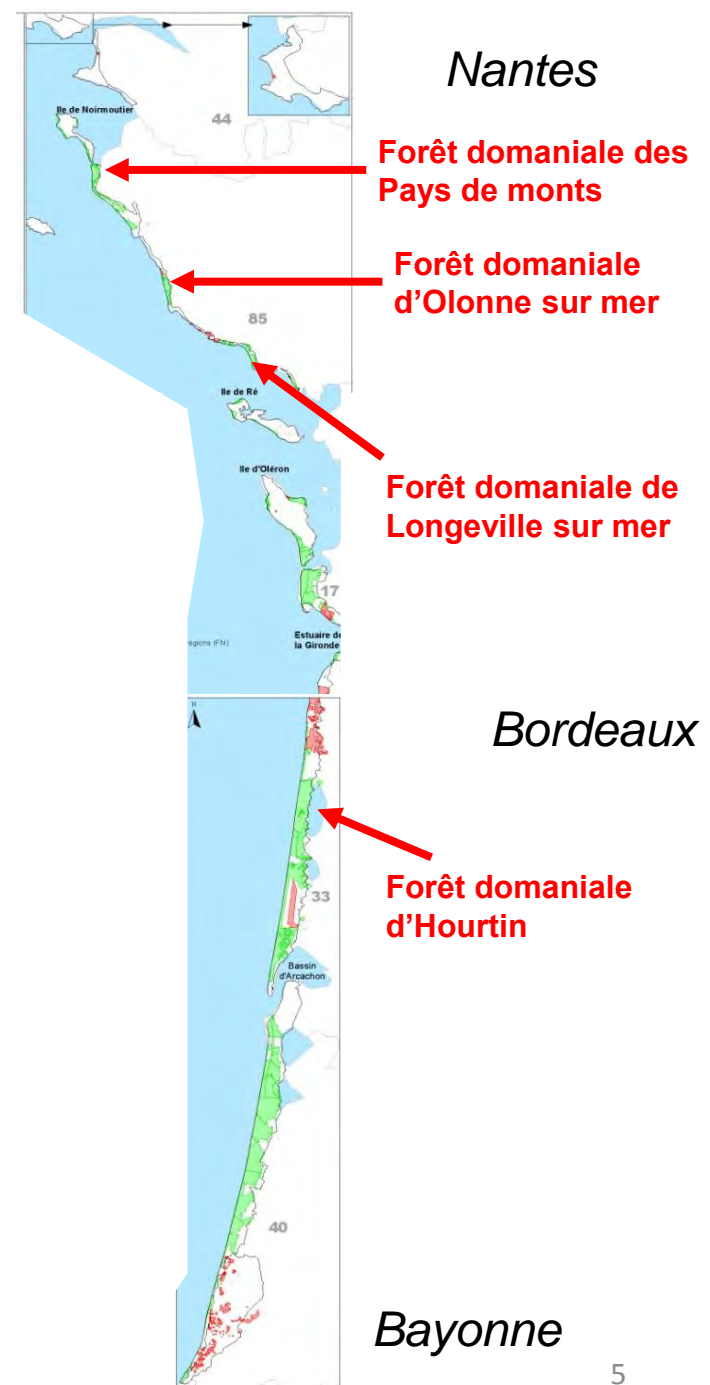


- 1- Observe-t-on une colonisation du Chêne vert en limite nord de son aire de répartition? (échelle biogéographique)**
- 2- La stratégie hydrique du Chêne vert lui confère-t-elle un avantage dans la colonisation des différents faciès dunaires sous l'effet des changements climatiques? (échelle locale)**

Le Chêne vert en limite nord

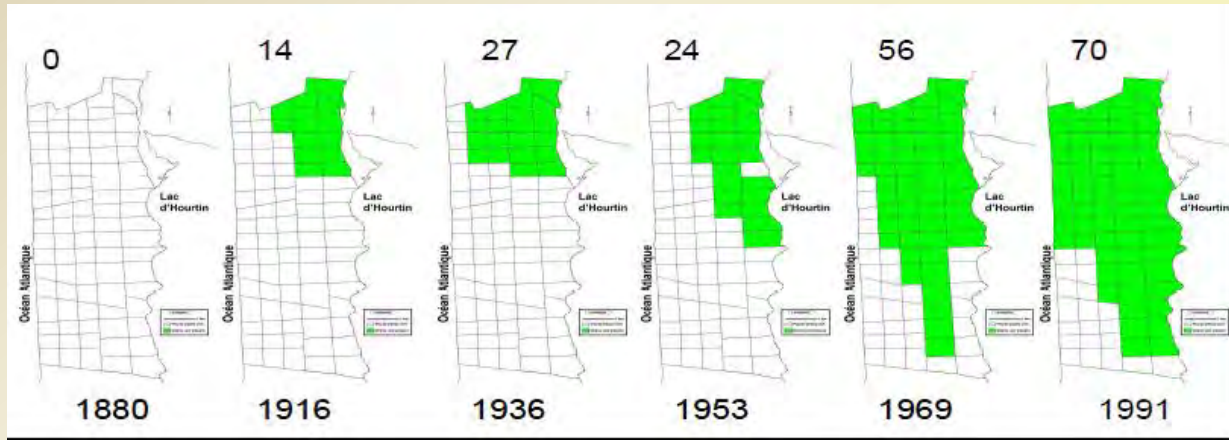


Utilisation des sommiers de l'ONF de 1880 à nos jours

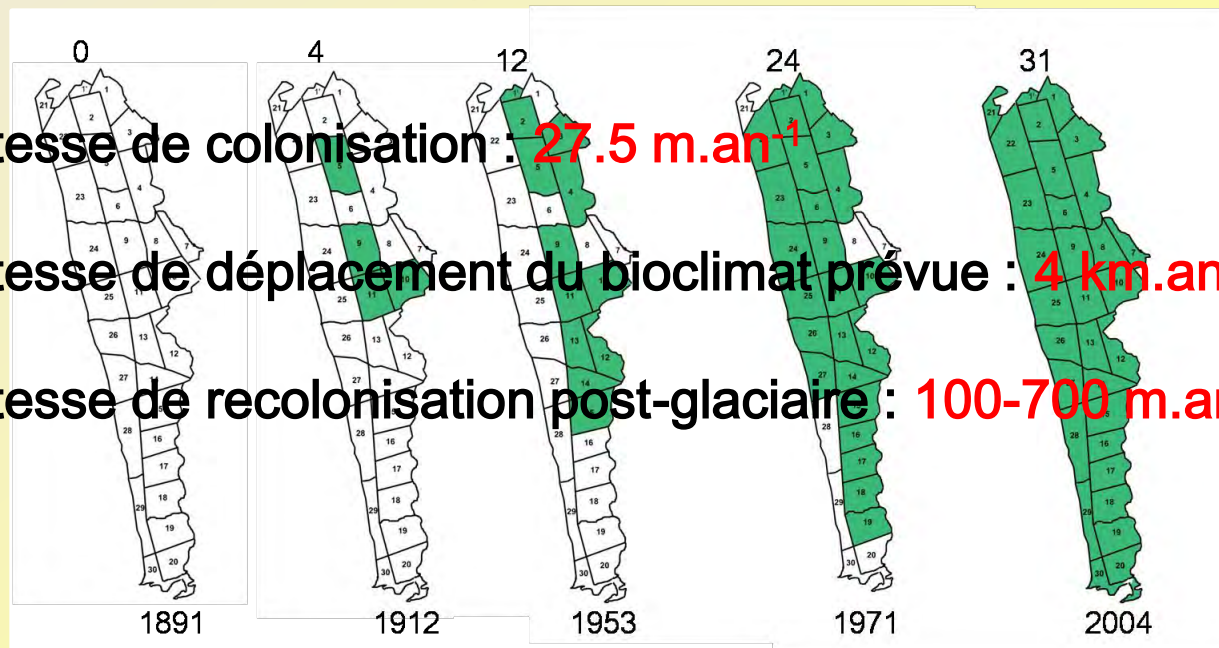


Colonisation du Chêne vert le long du cordon littoral

- Forêt domaniale d'Hourtin



- Forêt domaniale d'Olonne sur mer

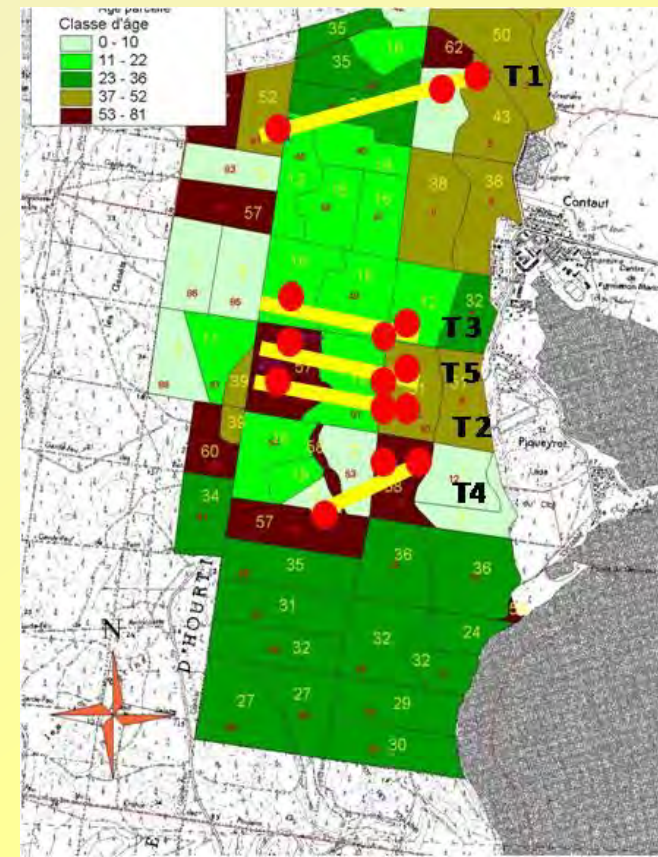
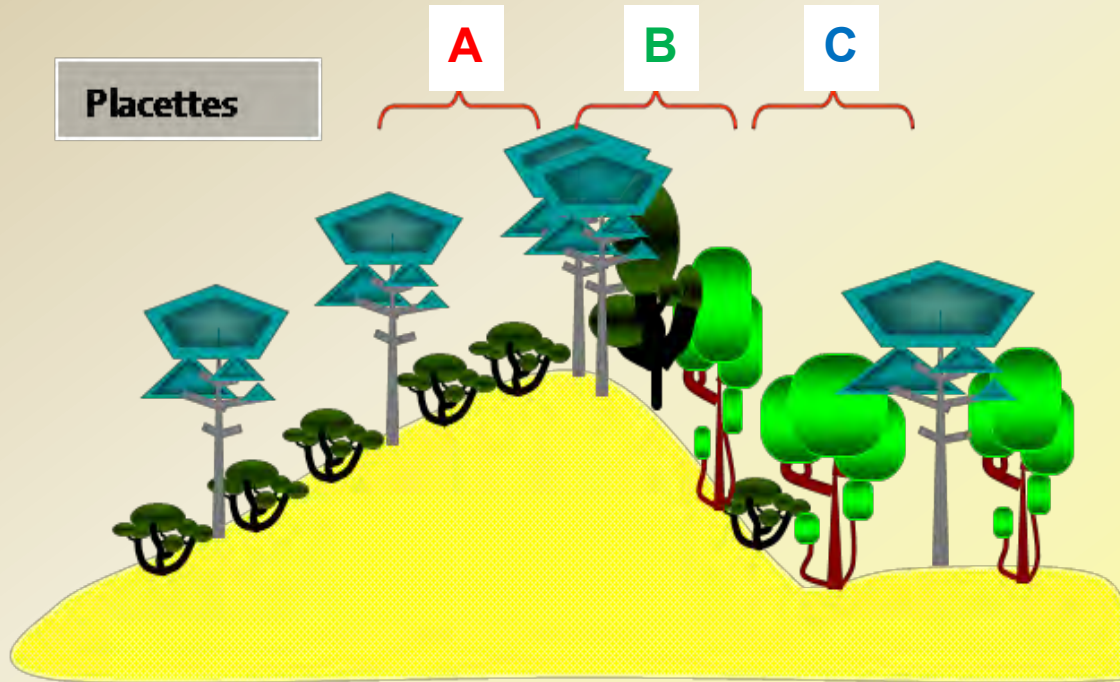
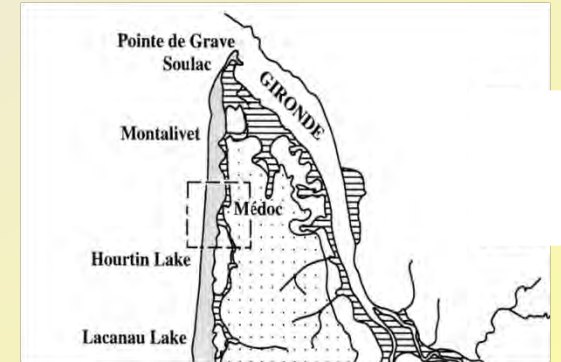


Vitesse de colonisation : **27.5 m.an⁻¹**

Vitesse de déplacement du bioclimat prévue : **4 km.an⁻¹**

Vitesse de recolonisation post-glaciaire : **100-700 m.an⁻¹**

La forêt dunaire littorale : dispositif expérimental



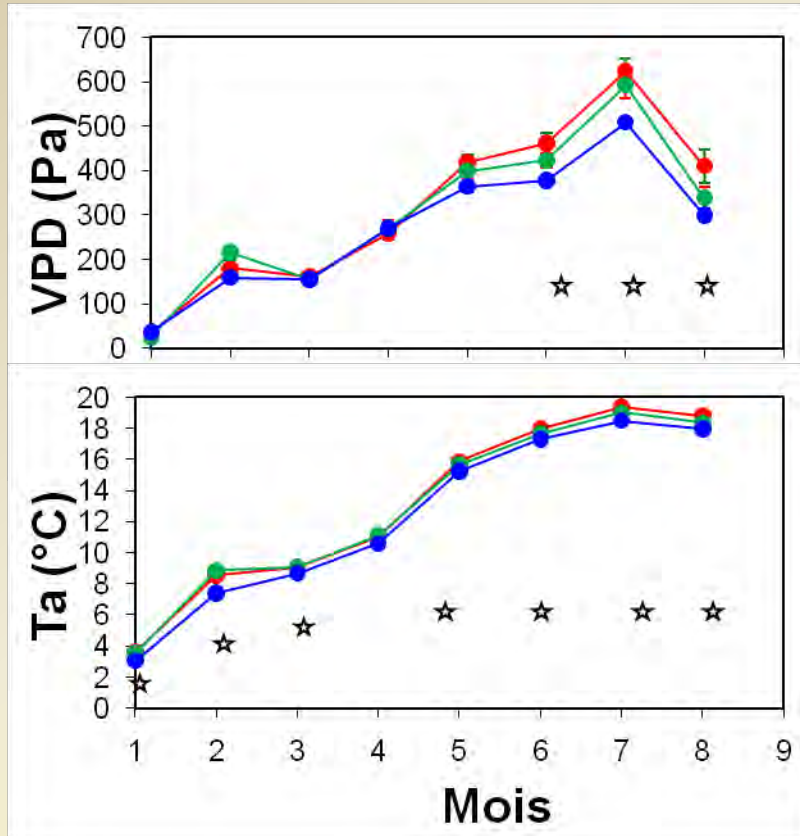
Contrainte hydrique



A : Haut de dune, côté Ouest
B : Haut de dune, côté Est
C : Bas de dune

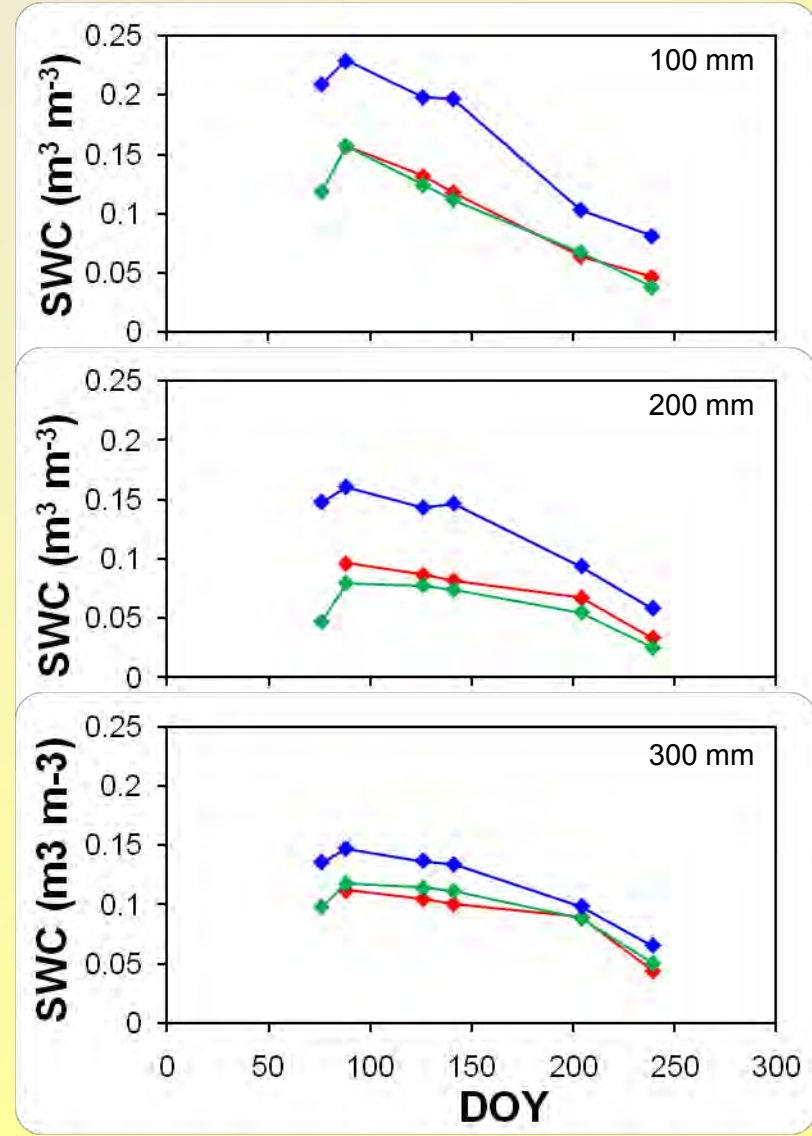
Caractérisation du microclimat et de l'humidité du sol

• Le microclimat

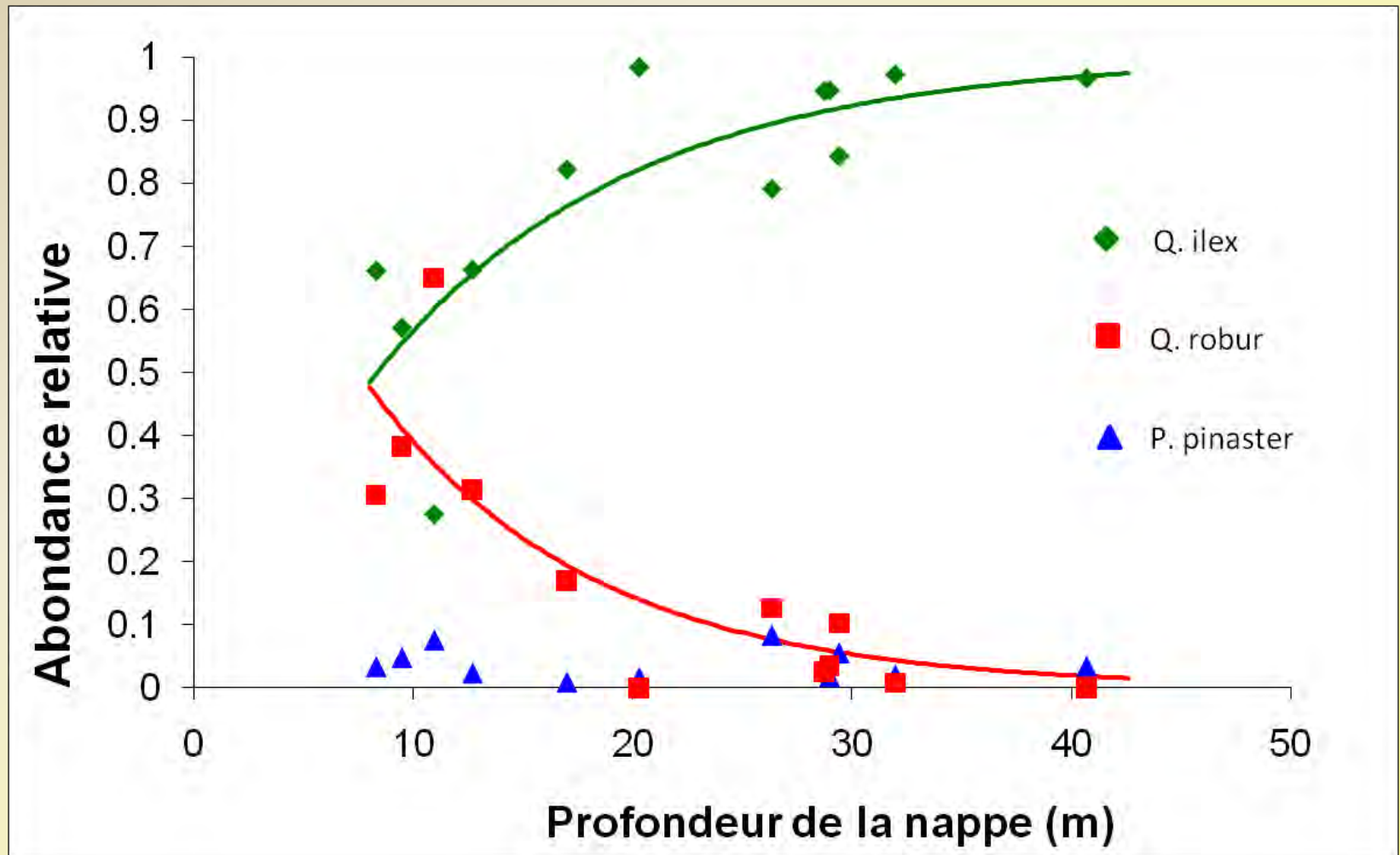


Haut de dune, côté Ouest
Haut de dune, côté Est
Bas de dune

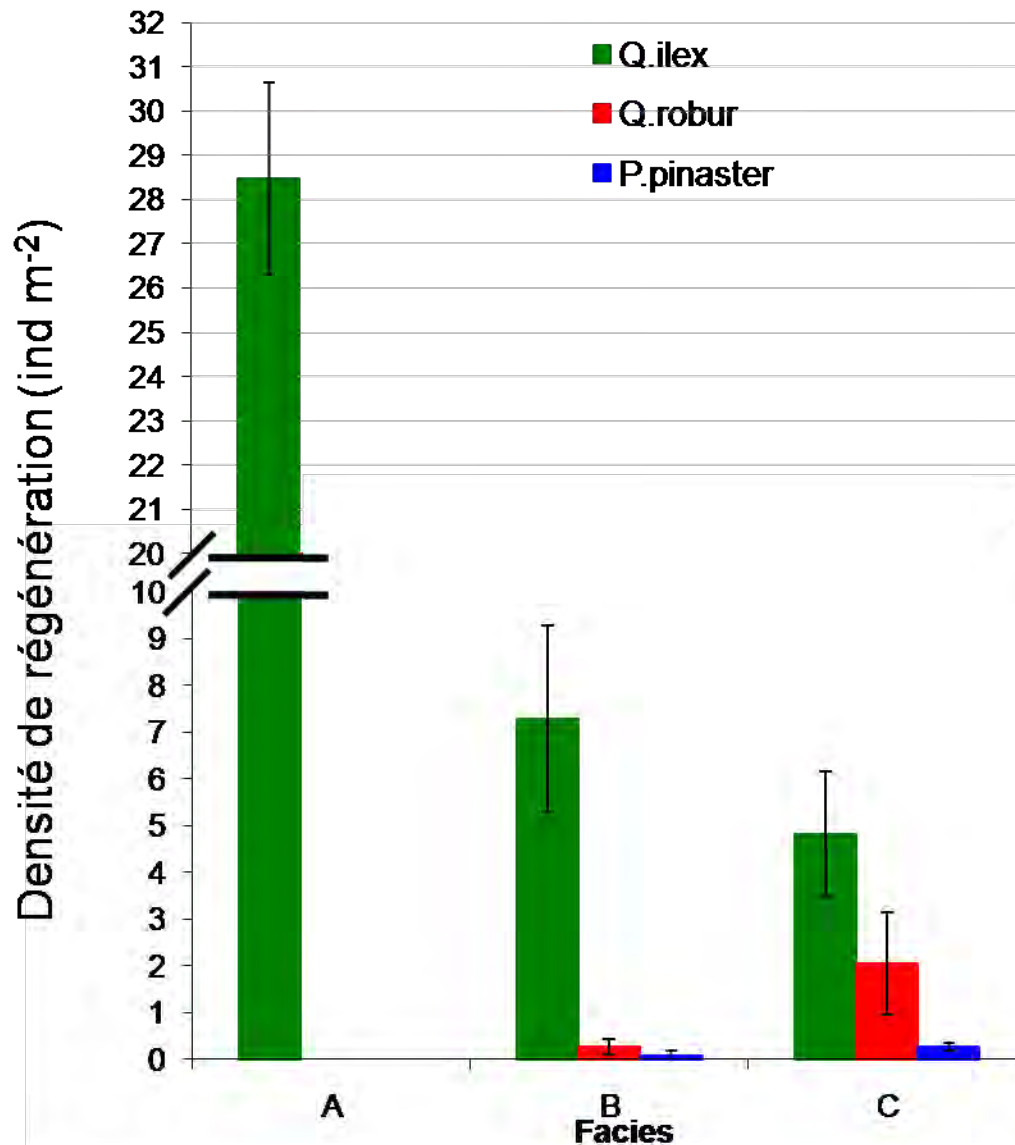
• L'humidité du sol



Evolution des abondances relatives de chaque espèce en fonction de la profondeur de la nappe

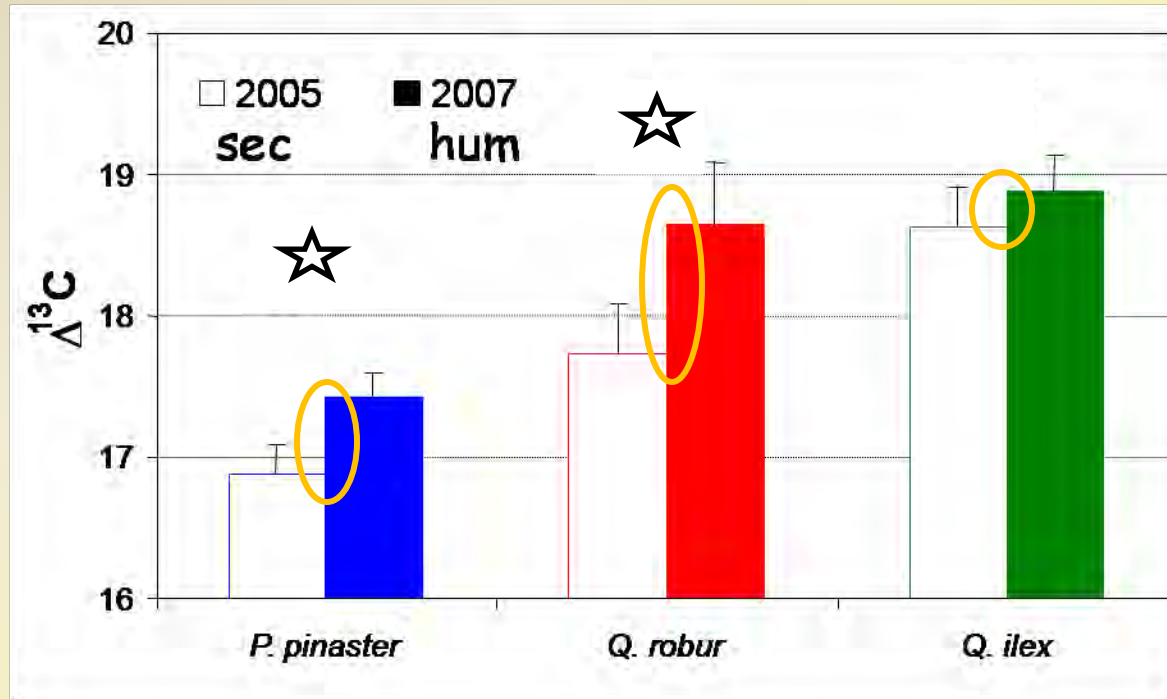


Caractérisation de la régénération des trois espèces



Caractérisation de la discrimination isotopique du carbone

- Comparaison interspécifique



Différence de discrimination entre les années sèche et humide est moins importante pour le Chêne vert.

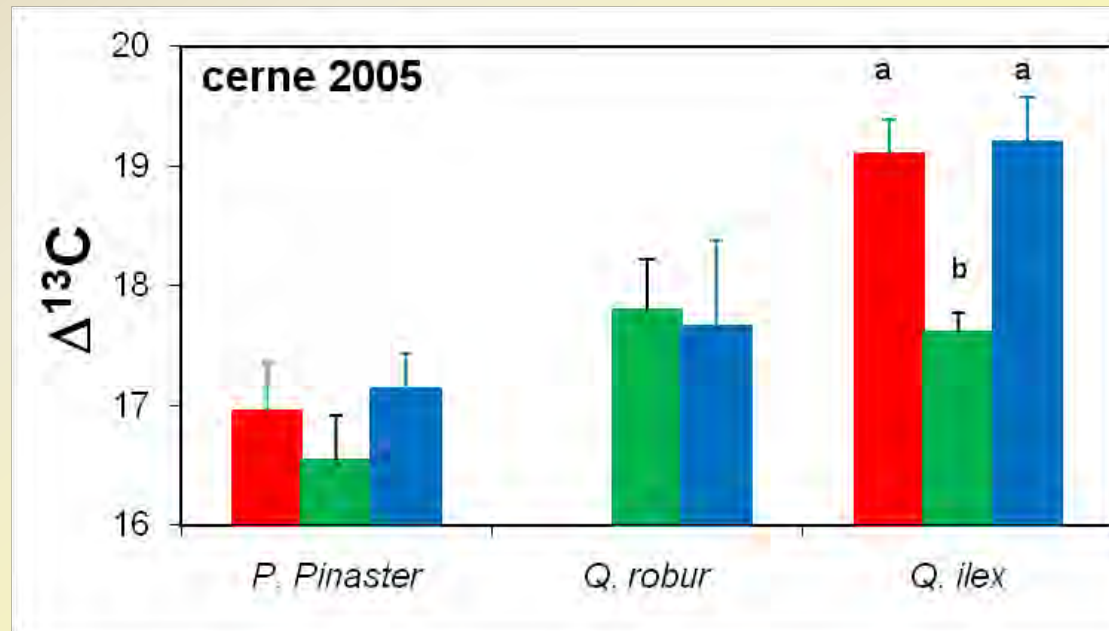
Chêne vert moins sensible aux années sèches que le Chêne pédonculé et le Pin maritime.

• Comparaison entre faciès

Haut de dune, côté Ouest

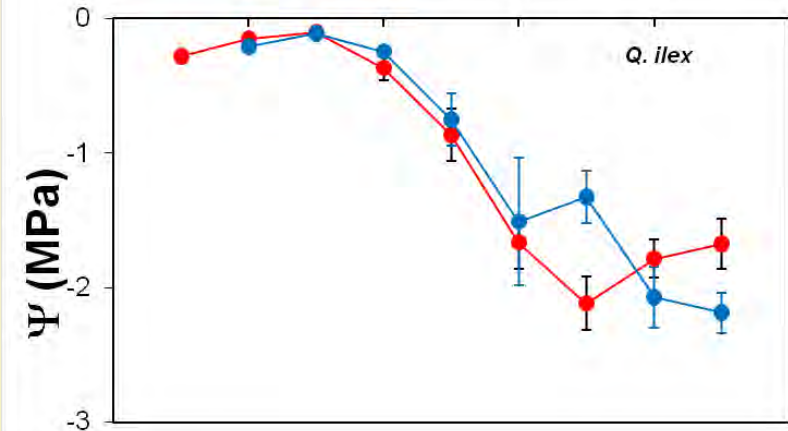
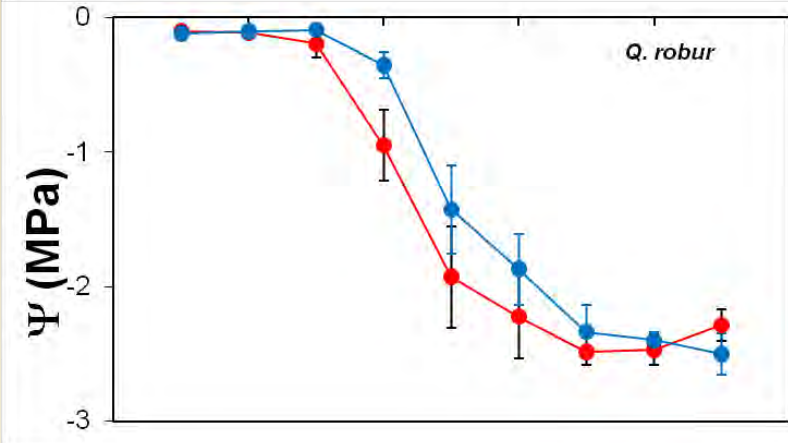
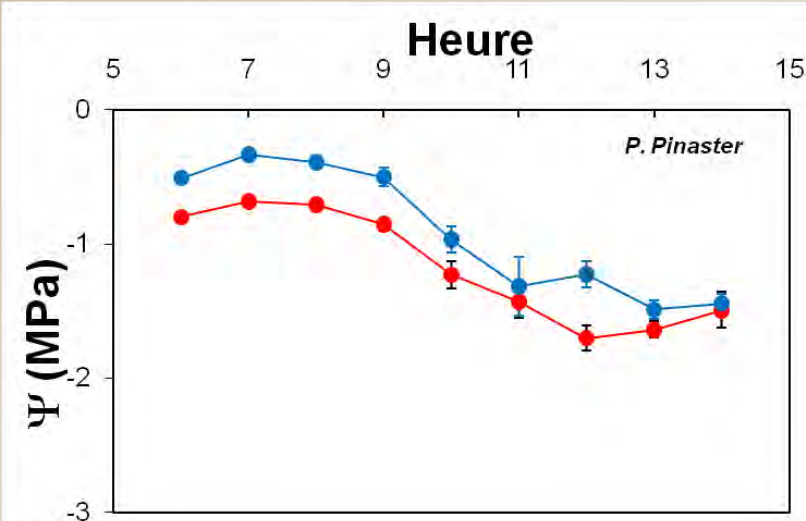
Haut de dune, côté Est

Bas de dune

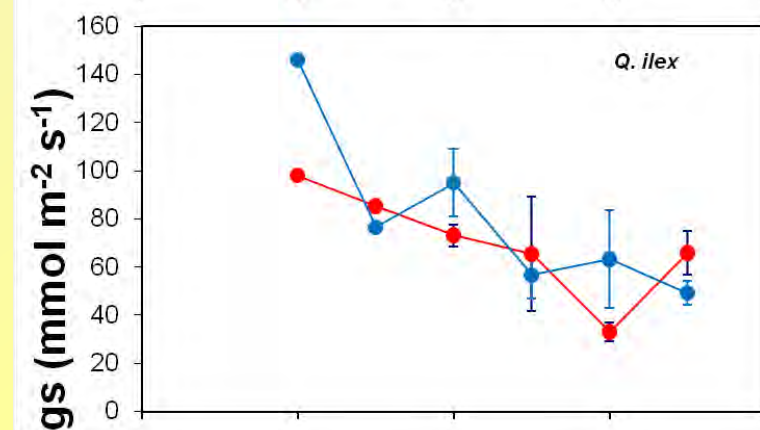
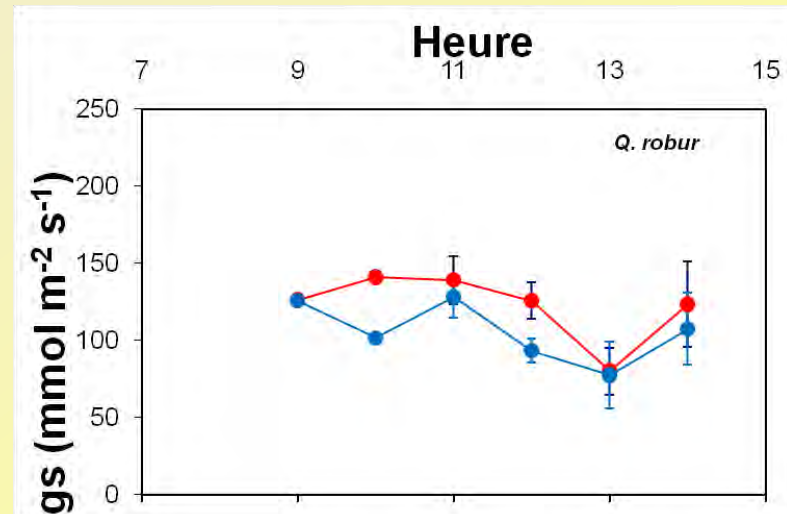


Pas d'effet faciès sur la discrimination.

Caractérisation du potentiel hydrique et de la conductance stomatique

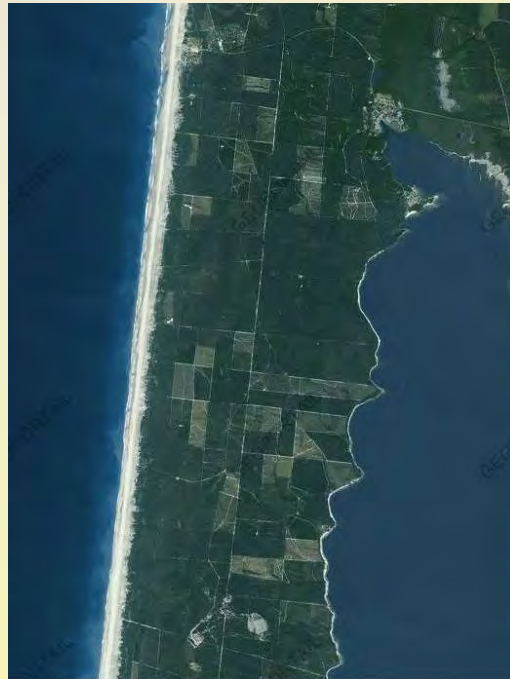


Haut de dune
Bas de dune



Conclusions

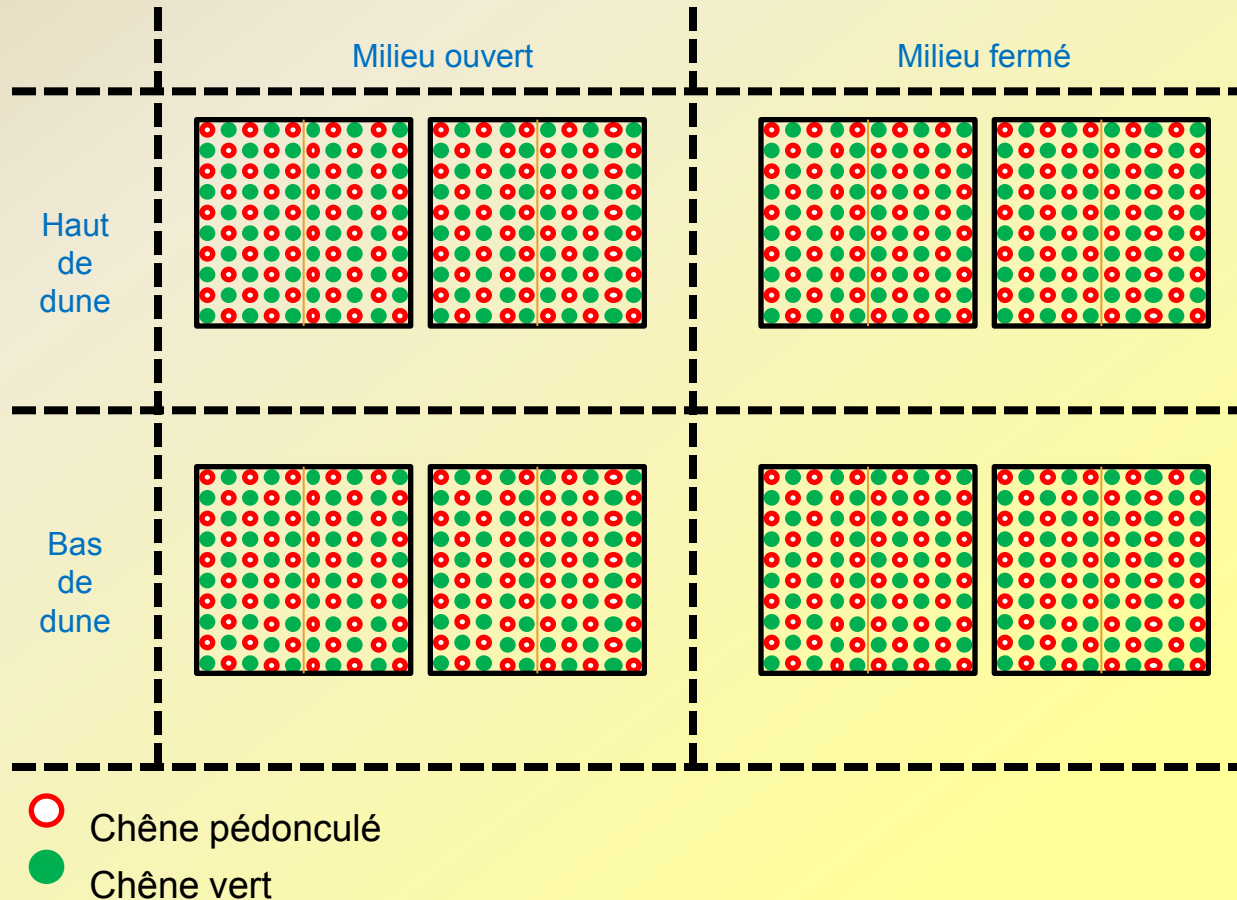
- Le Chêne vert colonise le littoral atlantique.



- A l'échelle locale, sa **stratégie hydrique** lui confère un **avantage** sous l'effet du changement climatique.

Stratégie hydrique et distribution des espèces

→ Quelles sont les réponses spécifiques au stress hydrique de jeunes semis ?



UMR PIAF



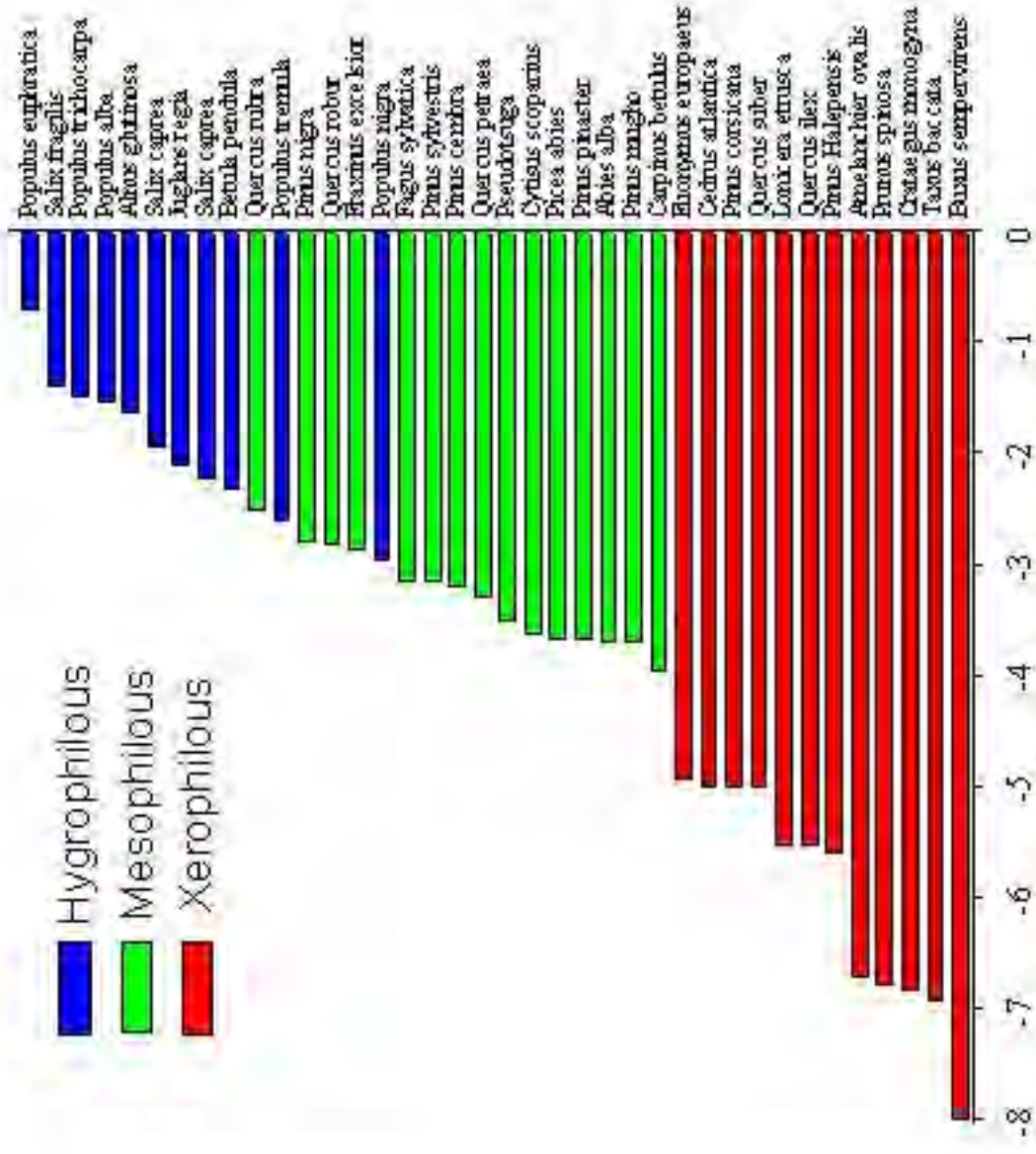
Université Blaise Pascal



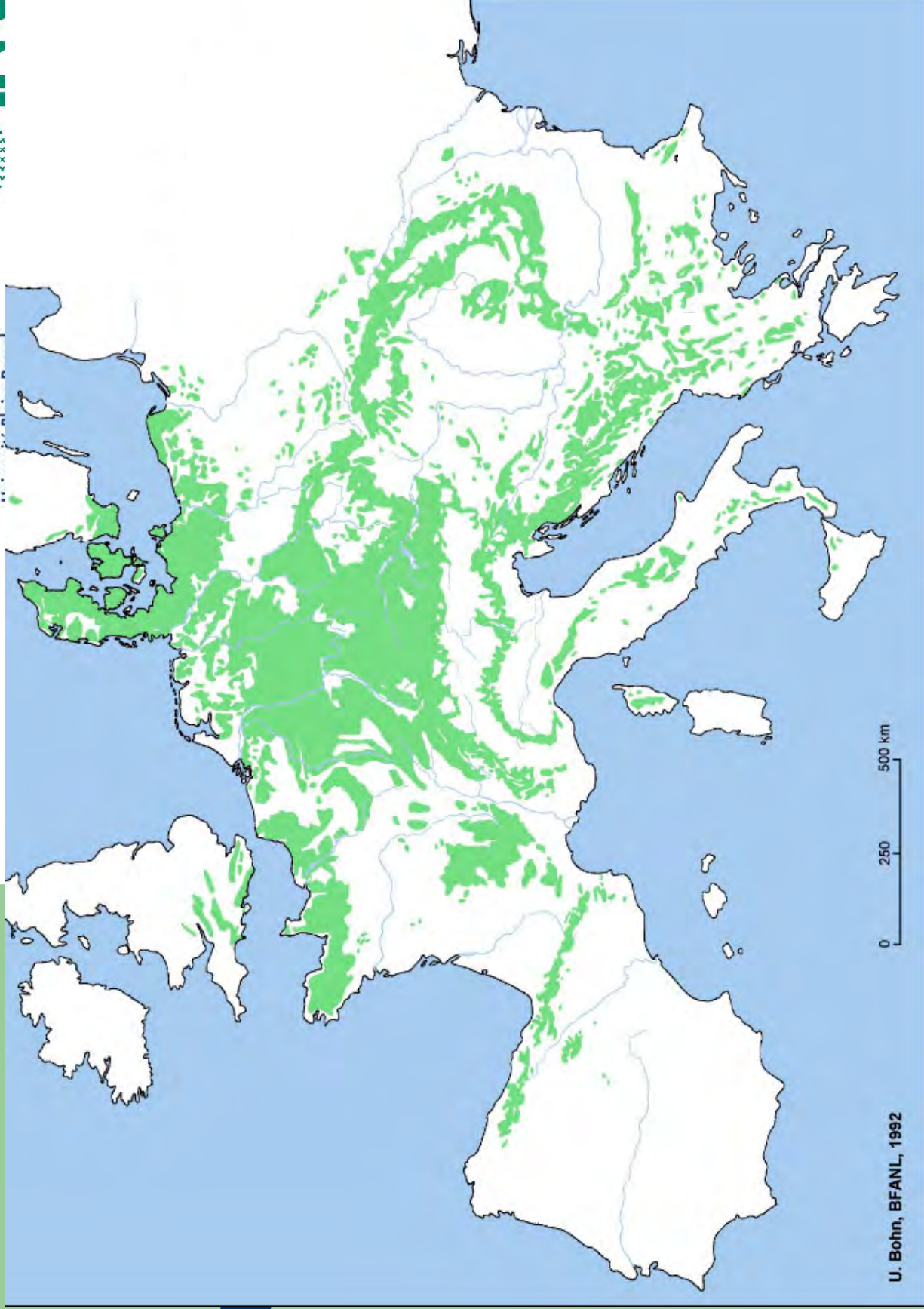
Vulnérabilité à la cavitation chez *Fagus sylvatica* L. Variabilité génétique et plasticité phénotypique

Wortemann Rémi

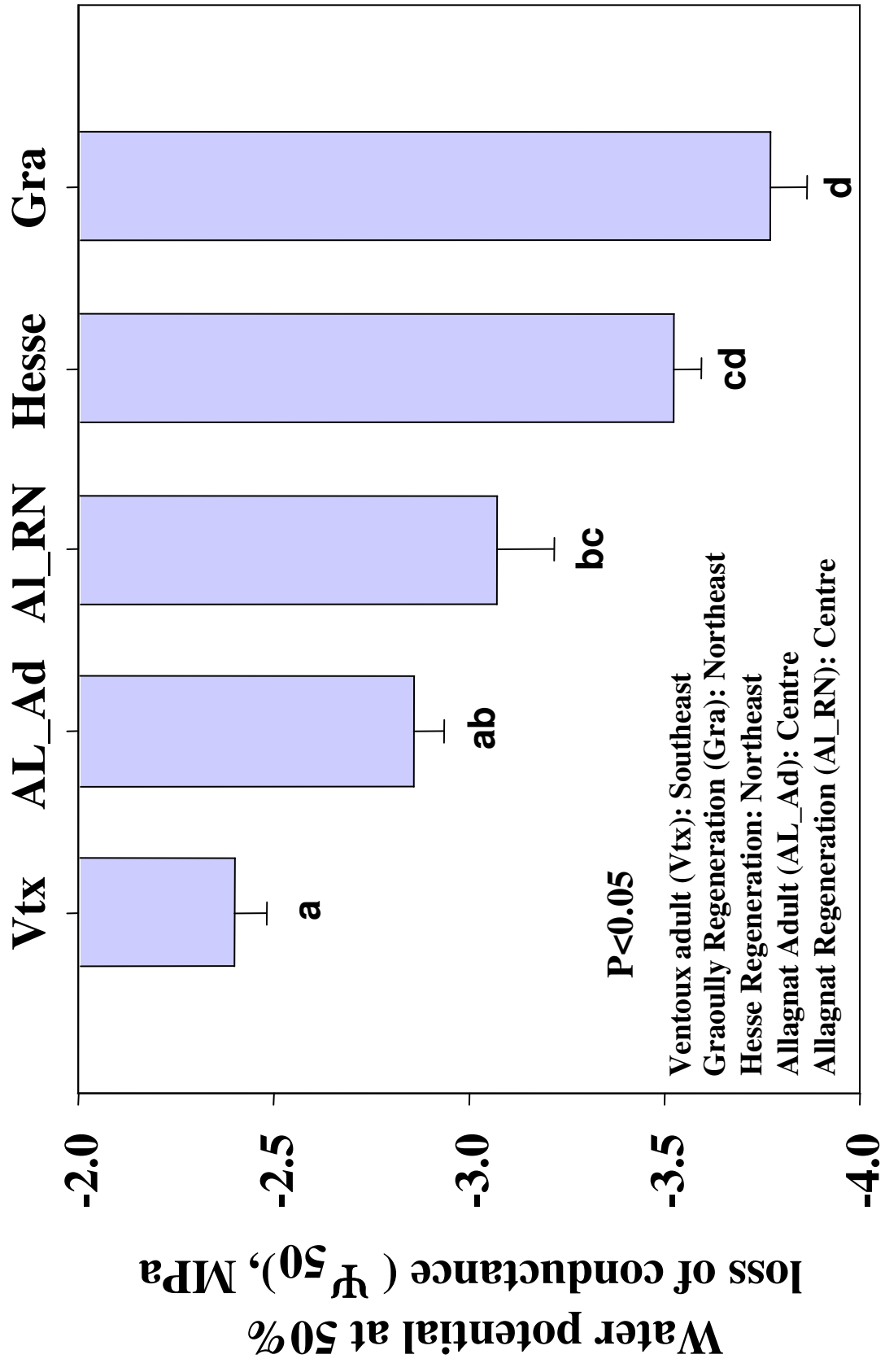
Directeurs de thèse: Hervé Cochard et Patricia Drevet



Xylem pressure inducing 50% cavitation, MPa



French in situ provenances.



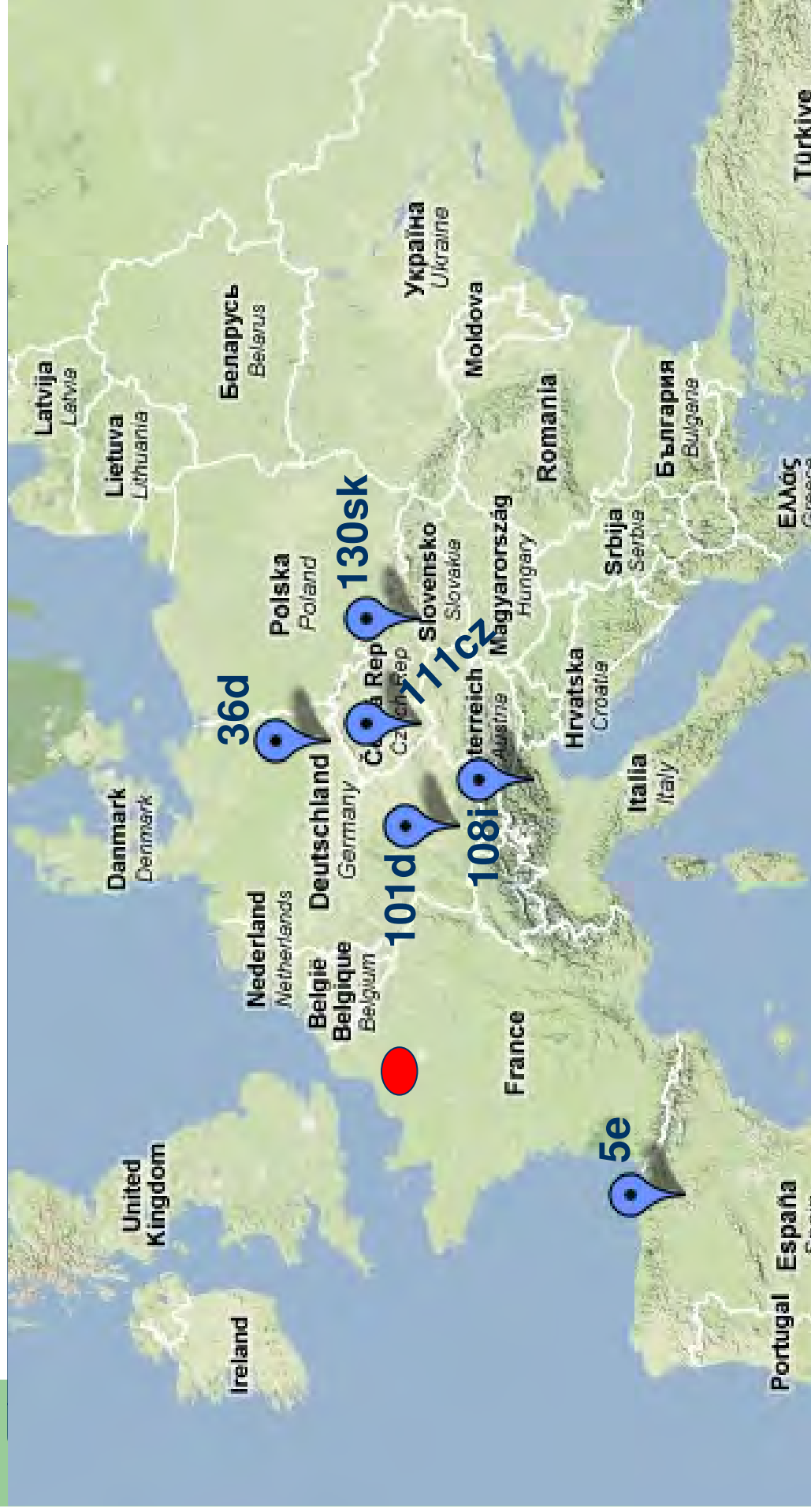
Barigah et al. 2008



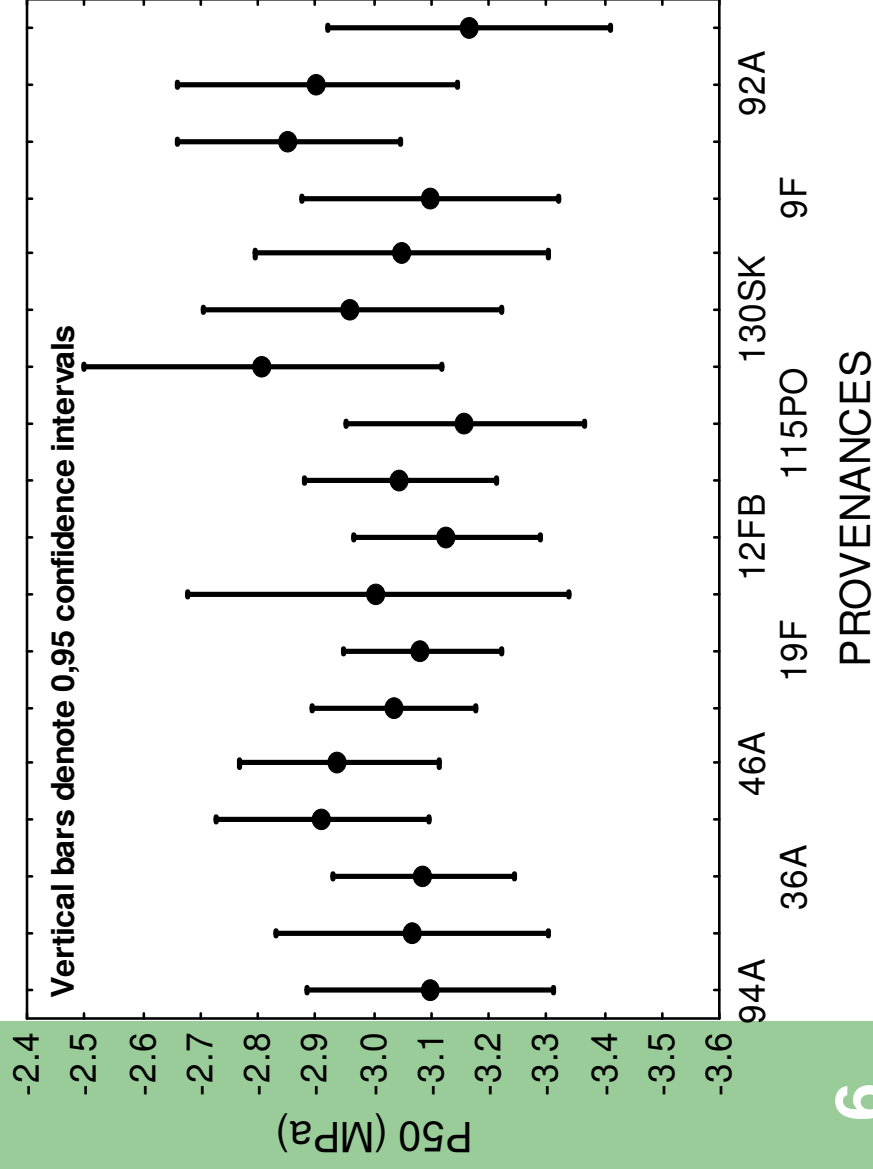
Université Blaise Pascal



Plantation de Lyons-la-Forêt. (Haute-Normandie)



Résultats première campagne.



17 provenances testées
 → 10 individus par provenances.
 (Branches de lumière)

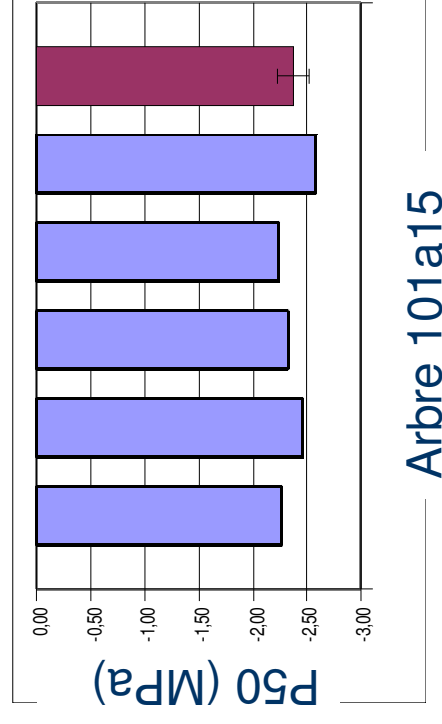
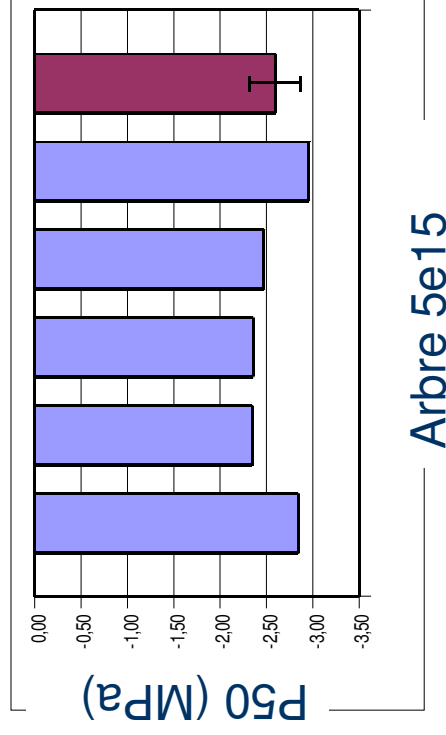
Résultats première campagne.

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P	Variance %
Among pop	0.8579	5	0.1716	1.921	0.106635	16
Within pop	4.6449	52	0.0893			84

- Faible variabilité **inter-provenance**. (Max 0,36 MPa)
- Forte variabilité **intra-provenance** (84% de la variance). (Max 1.34MPa chez 101a)

Résultats deuxième campagne.

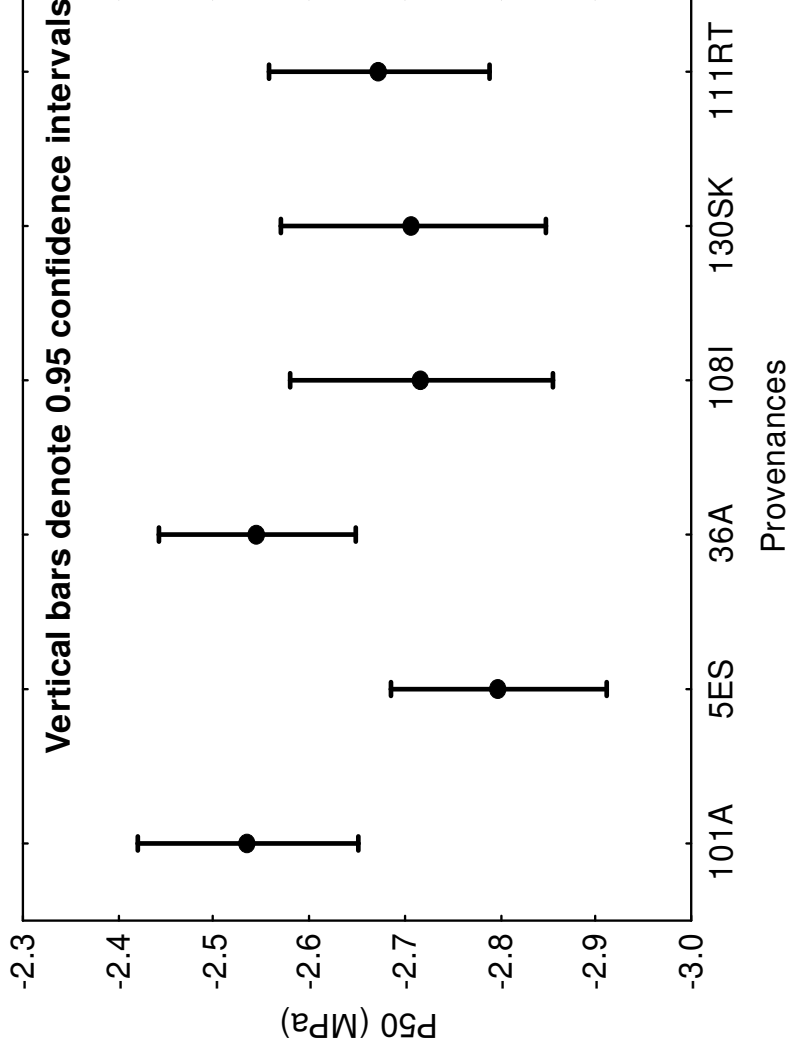
- Effets intra-arbre.



- Variabilité intra-arbre faible.

Résultats deuxième campagne.

- Variabilité inter-provenance.



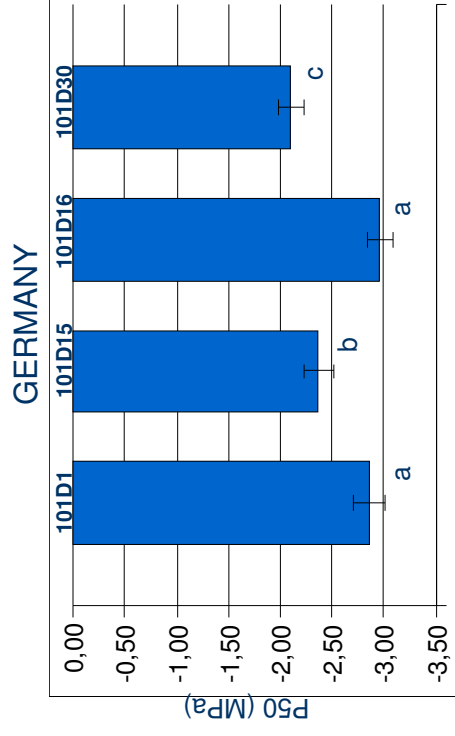
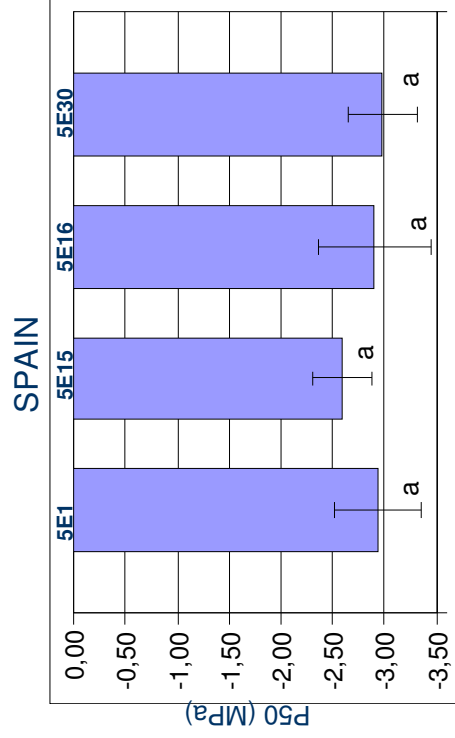
Résultats deuxième campagne.

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P	Variance %
Among pop	1.381	5	0.276	2.571	0.029	8
Within pop	17.191	160	0.107			92

- Faible variabilité **inter-provenance**.
- Forte variabilité **intra-provenance** (92% de la variance).

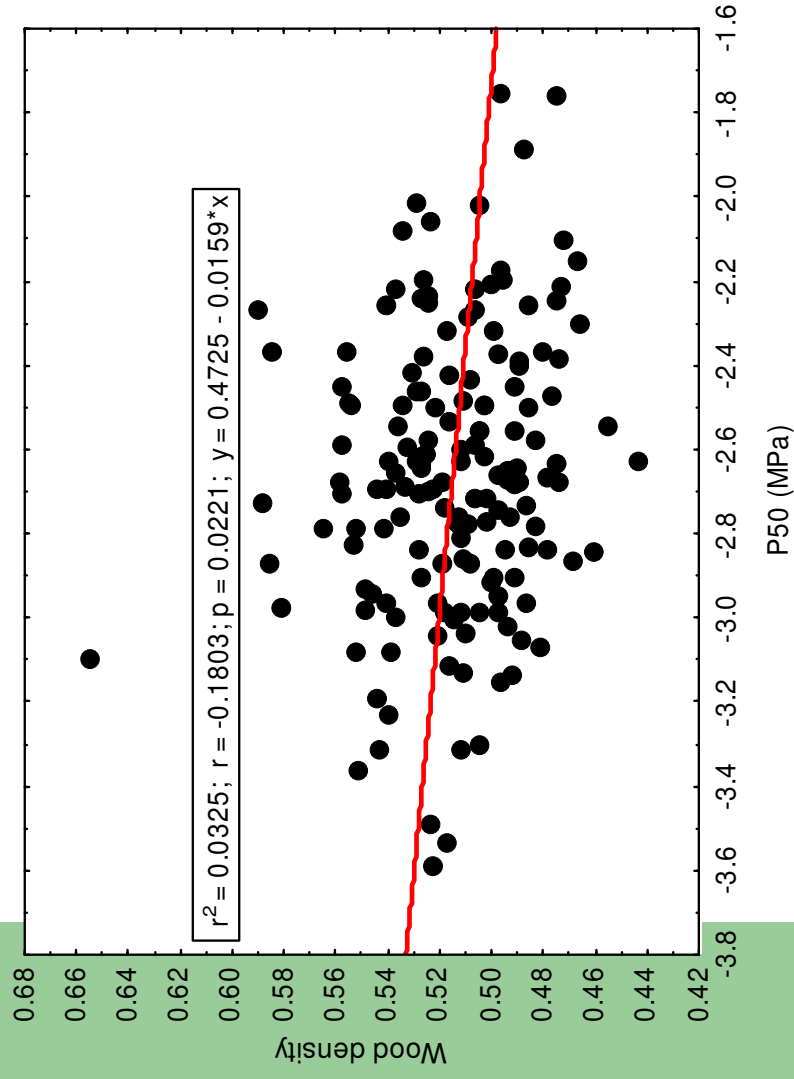
Résultats deuxième campagne.

- Variabilité intra-provenance.



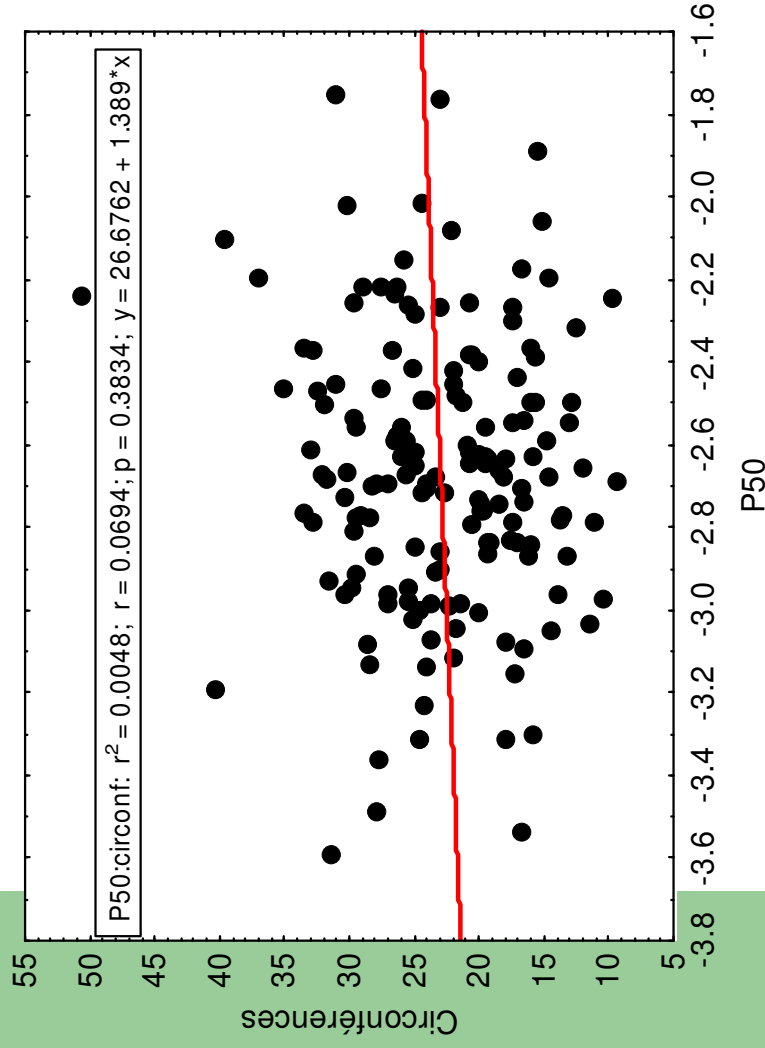
- → Variabilité Intra-provenance différente suivant la provenance.

Résultats deuxième campagne.



- Pas de relation entre P50 et Infra-densité du bois.

Résultats deuxième campagne.



- Pas de relation entre P50 et circonférence à 1m30.

Conclusions

- Variabilité **intra-arbre** faible.
 - → Une branche peut suffire.
- Variabilité **Inter-provenance** faible.
- → Car variabilité **intra-provenance** forte.
- Pas de corrélation entre le P50 et la densité du bois et la circonférence.

Perspectives

- Etudier les corrélations avec d'autres traits:
- → Anatomie (nombre de vaisseaux...)
- → WUE
- → ...

Perspectives.

- Etudier la plasticité phénotypique de la vulnérabilité à la cavitation.
- → Dans d'autres plantations (au moins deux autres).
- → Pour les 2 provenances les plus contrastées en terme de P50. (101A and 5ES).



● **Merci!**

Relation Circonférence densité.

