



Variabilité structurale et fonctionnelle du xylème et plasticité en réponse à la sécheresse chez le peuplier

Régis Fichot

► To cite this version:

Régis Fichot. Variabilité structurale et fonctionnelle du xylème et plasticité en réponse à la sécheresse chez le peuplier. Sciences agricoles. Université d'Orléans, 2010. Français. NNT : 2010ORLE2021 . tel-00579446

HAL Id: tel-00579446

<https://theses.hal.science/tel-00579446>

Submitted on 23 Mar 2011

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.

ÉCOLE DOCTORALE SCIENCES ET TECHNOLOGIES

Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures
Institut National de la Recherche Agronomique

THÈSE présentée par :

Régis FICHOT

soutenue le : 23 juin 2010

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'Université d'Orléans**

Discipline/S spécialité : **Physiologie et Biologie des Organismes – Populations - Interactions**

Variabilité Structurale et Fonctionnelle du Xylème et Plasticité en Réponse à la Sécheresse chez le Peuplier

THÈSE dirigée par :

Franck BRIGNOLAS
Gilles PILATE

Professeur, Université Orléans
Directeur de Recherche, INRA Orléans

RAPPORTEURS :

Reinhart CEULEMANS
Jean-Louis JULIEN

Professeur, Université Anvers, Belgique
Professeur, Université Clermont-Ferrand II

JURY :

Hervé COCHARD
Franck BRIGNOLAS
Mireille CABANE
Reinhart CEULEMANS
Jean-Louis JULIEN
Gilles PILATE

Directeur de Recherche, INRA Clermont-Ferrand - Président du Jury
Professeur, Université Orléans
Maître de Conférences, Université Nancy I
Professeur, Université Anvers, Belgique
Professeur, Université Clermont-Ferrand II
Directeur de Recherche, INRA Orléans

ÉCOLE DOCTORALE SCIENCES ET TECHNOLOGIES

Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures
Institut National de la Recherche Agronomique

THÈSE présentée par :

Régis FICHOT

soutenue le : 23 juin 2010

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'Université d'Orléans**

Discipline/S spécialité : **Physiologie et Biologie des Organismes – Populations - Interactions**

Variabilité Structurale et Fonctionnelle du Xylème et Plasticité en Réponse à la Sécheresse chez le Peuplier

THÈSE dirigée par :

Franck BRIGNOLAS
Gilles PILATE

Professeur, Université Orléans
Directeur de Recherche, INRA Orléans

RAPPORTEURS :

Reinhart CEULEMANS
Jean-Louis JULIEN

Professeur, Université Anvers, Belgique
Professeur, Université Clermont-Ferrand II

JURY :

Hervé COCHARD
Franck BRIGNOLAS
Mireille CABANE
Reinhart CEULEMANS
Jean-Louis JULIEN
Gilles PILATE

Directeur de Recherche, INRA Clermont-Ferrand - Président du Jury
Professeur, Université Orléans
Maître de Conférences, Université Nancy I
Professeur, Université Anvers, Belgique
Professeur, Université Clermont-Ferrand II
Directeur de Recherche, INRA Orléans

REMERCIEMENTS

Ce projet de thèse a bénéficié d'une allocation de recherche du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche.

MERCI AUX MEMBRES DU JURY

Merci à Messieurs **REINHART CEULEMANS** et **JEAN-LOUIS JULIEN** pour avoir accepté d'être rapporteurs de ce travail de thèse. Merci également à Madame **MIREILLE CABANE** et Monsieur **HERVE COCHARD** pour avoir accepté d'être examinateurs.

MERCI A MES ENCADRANTS

Je remercie sincèrement **FRANCK BRIGNOLAS** pour m'avoir fait confiance et m'avoir laissé des degrés de liberté (du moins l'impression que j'en avais...) de bout en bout. Comme d'hab', cette thèse n'aurait pas été la même sans toi, vraiment pas. Merci pour ton encadrement quotidien. J'en conserverai énormément de bons souvenirs et parmi les meilleurs je retiendrai les apéros, les restos, ma tendance à préparer mes présentations au dernier moment qui t'a valu quelques moments de stress (et encore plus à moi...), et surtout les phases de corrections à deux dans ton bureau en mode marchands de tapis entrecoupées de phrases magiques du genre « Tu t'envoies là Régis », « C'est du bon travail ça, vraiment, mais bon on va quand même tout changer... », « On fait péter tout ça », « Nan, j'suis pas d'accord », « J'te l'avais bien dit » et j'en passe...

Je remercie également **GILLES PILATE** pour avoir été un co-directeur compréhensif. Je te suis particulièrement reconnaissant pour ta souplesse envers mes penchants écophysio et ma préférence vis-à-vis des vaisseaux plutôt que des fibres, même si tout cela s'est fait au détriment des aspects physio et moléculaires.

MERCI AUX PERSONNES QUI ONT DIRECTEMENT CONTRIBUE AU TRAVAIL DE THESE

Un grand, grand merci à **SYLVAIN CHAMAILLARD** (« Chamallox »), avec qui j'ai partagé mon bureau et la moitié du surnom « Tic & Tac » au cours de ces 3 années. Cette thèse n'aurait également pas été la même sans toi. Merci pour ton aide (inégalée et inégalable) lors des manips de cet été 2008 magique et fort agité (potentiels de base, potentiels minimum, cinétiques de croissance, biomasses, binage & coups de soleil, et j'en passe...). Tu ne reverras peut être jamais un « popeye » emballer des feuilles dans de la cellophane et de l'alu à minuit, à la lampe torche, avec un bob sur la tête... Merci également pour tous les délires (et là je pèse mes mots...), les « Oh dommage, cété bié joué ça », les cafés, les bières et les p'tits boudins (surtout chez moi d'ailleurs), les restos, les parties de soccer, de baby, de tennis, et tous les proverbes et expressions que la politesse m'empêche de citer ici... Merci pour tout.

Merci à **MARC VILLAR**, membre actif du team poplar, pour les rondelles $\Delta^{13}\text{C}$ de 11 à 13 (enfin c'est ce qui était prévu initialement... Désolé d'avoir débordé sur plusieurs jours...). Merci Marc pour ton entrain sans faille, ta bonne humeur constante, ta gentillesse, ta disponibilité, les discussions au café, tes encouragements, le barbecue chez toi, le cidre maison, et bien d'autres. In *Populus* we trust...

Merci aux membres du PIAF de Clermont-Ferrand pour leur précieuse contribution. Merci notamment à **TETE BARIGAH** pour sa très grande implication dans les manips, pour son soutien et son franc-parler, pour m'avoir formé au Cavitron et à l'HPFM, et pour ses remarques toujours pertinentes. Merci à **HERVE COCHARD** pour m'avoir accueilli au labo lors de mon séjour « Cavitronique », pour son encadrement et ses relectures attentives des manuscrits. Merci également à **STEPHANE HERBETTE** pour ses conseils avisés lors de mon comité de thèse et lors des réunions de travail.

Merci à **DIDIER LE THIEC** (« Didier le Tchèque ») pour sa gentillesse et son implication durant la manip échanges de gaz de Juillet 2008 ; en souvenir d'une soirée crêpes arrosée à la « Chouffe ». Merci également à ma stagiaire **CLAIRE DEPARDIEU** qui a dû m'écouter et me supporter au bureau, en serre et sur le terrain durant l'été 2008 ; merci pour ton aide précieuse et tes fameux tableaux croisés dynamiques (auxquels je reste toujours réfractaire...).

Merci aux membres de l'équipe Xylème. Merci notamment à **FRANÇOISE LAURANS** & **ALAIN MOREAU** (« Framboise & Câlin ») pour leur grande disponibilité et leur aide précieuse. Merci pour m'avoir toujours fait une GRANDE place au labo histo, même lorsque l'on était exilé en zoo, et merci surtout pour avoir mis à ma disposition un frigo « spécial Régis » ; un jour, peut être, je vous le rendrai... Merci à **MARIE-CLAUDE LESAGE-DESCAUSES** pour sa franchise, son aide et son sens de la

logistique lors des collectes et manips BM 2007 et 2008, ainsi que pour la réalisation des lames Affy. Et merci également à **ANNABELLE DEJARDIN**, **NADEGE MILLET** et **JEAN-CHARLES LEPLÉ** pour leurs conseils et leur aide lors de la préparation des manips et des collectes d'échantillons en BM.

Merci à **ISABELLE LE JAN**, **JEAN-MICHEL PETIT** et **DIDIER DELAY** pour leur aide Ô combien précieuse lors des journées « biomasses » aussi répétitives et ennuyeuses que nécessaires...

Merci aux membres de mon comité de thèse : **NATHALIE LEBLANC-FOURNIER**, **TETE BARIGAH**, **JOËL CRECHE** et **STEPHANE HERBETTE**.

Et enfin, « A special thank » à **LUDO PASQUIER** et **PATRICK POURSAT** qui ont toujours répondu présent à mes (nombreuses) sollicitations sur le terrain.

MERCI AUX PERSONNES QUI ONT CONTRIBUE A FAIRE DE CETTE THESE UN (LONG) MOMENT AGREABLE

Merci aux membres du LBLGC - Merci à « Papa Betterave » (**STEPHANE MAURY**) et ses disciples convertis (**MARIE-VERONIQUE GENTIL**, **CLAIRE HEBRARD**, **CLEMENT LAFON-PLACETTE** et **ALAIN DELAUNAY**), aux « écophysios » **CECILE BARBAROUX** et **MURIEL FEINARD-DURANCEAU**, aux « biomoleux » **LUCIE BERTHEAU**, **SABINE CARPIN**, **FRANÇOISE CHEFDOR**, **CHRISTIANE DEPIERREUX**, **DANIEL AUGUIN**, **LUDOVIC BONHOMME**, **SYLVAIN BOURGERIE**, **THOMAS DURAND**, **FRANÇOIS HERICOURT** et **DOMENICO MORABITO** et aux « entomos » **STEPHANIE BANKHEAD-DRONNET**, **SOPHIE POINTEAU**, **FRANÇOIS LIEUTIER**, **AURELIEN SALLE**, **JEAN-CLAUDE VALA** et **BRUNO VINCENT** pour leur soutien et leurs encouragements lors des dernières phases de la thèse. Merci à **VALERIE ALTEMAYER** pour m'avoir accompagné et encadré au cours de mes trois années de monitorat en Biologie Animale, et merci à **CARINE MARTIN** pour son aide lors de la préparation des TP. Merci à **FRANCIS DELMOTTE** pour m'avoir accueilli au sein du Labo. Merci à **LAURENT JEAN-ALPHONSE** pour son aide administrative. Et je garde surtout une pensée émue envers **ROMAIN MONCLUS** et **GILLES MOREAU** qui nous ont quittés trop tôt.

Merci aux membres de l'INRA - Merci notamment à **CATHERINE BASTIEN**, **ISABELLE BOURGAIL**, **JEAN-CHARLES BASTIEN**, **ERWIN DREYER**, **PHILIPPE LABEL**, et **NICOLAS MARRON** pour l'intérêt qu'ils ont montré envers mon travail, que ce soit en réunion ou lorsque j'avais des questions plus spécifiques. Un grand merci aux personnes de la doc, notamment **FRANCK ROGEON** pour avoir toujours répondu à mes (nombreuses) requêtes, et surtout pour nous avoir éclairé (ou pas...) Sylvain et moi sur la question existentielle « Mais pourquoi y a-t-il autant d'églises à Orléans ? »... Et merci à **GUY CHANTELOUP**, **JEAN-LEANDRE HATTON** et **ERIC VELLUET** pour leur disponibilité et leur efficacité en informatique.

Merci à mes amis et collègues de travail – Last, but not least... Un grand merci au trio infernal **NICOLAS CHENAULT** (« l'ami molette »), à son jumeau de thèse **SYLVAIN CHAMAILLARD** (une nouvelle fois !), et à **ROMAIN VALADE** (« Romish ») pour tous les bons moments (et les mauvais aussi) passés en leur compagnie et pour leur soutien quotidien sans faille ; nos délires, les (nombreuses) pauses cafés passées à refaire la science et le monde, les p'tites bouffes, et tout le reste me manquent déjà... Merci à **JEREM'**, mon copain de gratte et de Petits Gervais, pour ses « Tiembe raid, pa moli ». Merci également à **PASCOOL** (« PuspalaSharma »), grand athlète inconnu mi-péruvien/mi-perpignanais et spécialiste du km départ arrêté en chaise de bureau... Merci à **HAMZA** pour des keftas au barbecue mémorables et pour les rudiments d'arabe ('tomobile, tout ça tout ça)... Merci à tous les copains de foot et de baby-foot... Et enfin, merci aux occupants plus ou moins permanents du bureau stagiaires du 1^{er} étage pour avoir largement contribué à l'ambiance très conviviale ; par ordre d'apparition : **DOMI**, **MYUKI**, **ANTOINE**, **SOLENE**, **JULIEN** (« 'ti doudou »), **ESTELLE**, **AGATHE**, **ELODIE**, **MARJOLAINE**, le vieux zèbre de **MAXIME**, **MARIE**, et enfin la toute jeune **JUSTINE** (« Justin »).

Merci à ma famille – Et bien sûr, merci à ma mère, mon père, mon grand-père, mon frère et ma belle-sœur pour leur soutien au cours de ces quelques années, chacun à leur manière, et ce même si je n'ai jamais été très bavard sur ce que je pouvais bien faire « concrètement »... Et **LE PLUS GRAND DES MERCIS** à celle dont je partage la vie depuis quelques années maintenant.

à mon grand-père Kléber

SOMMAIRE

SOMMAIRE	9
LISTE DES PRINCIPALES ABREVIATIONS	11
AVANT-PROPOS : PORTRAIT D'UN ARBRE « POPULAIRE »	13
INTRODUCTION GENERALE	15
Peuplier et populiculture	17
Problématique, objectifs et stratégie	21
ETAT DES CONNAISSANCES	27
1. Rappels sur la circulation de l'eau dans le continuum Sol - Plante - Atmosphère	29
1.1. Bases thermodynamiques des mouvements d'eau en phase liquide	29
1.2. La théorie de la Tension-Cohésion	30
1.3. Modélisation des transferts hydriques dans le continuum Sol - Plante - Atmosphère.....	32
1.4. Circulation xylémienne	36
1.4.1. Ultrastructure des éléments conducteurs du xylème.....	36
1.4.2. Modélisation du flux au sein des éléments conducteurs	38
2. Limites de fonctionnement du système vasculaire : cavitation et embolie	39
2.1. Mécanisme de formation de l'embolie estivale.....	39
2.2. Mesurer et quantifier l'embolie estivale : courbes de vulnérabilité à la cavitation et paramètres descriptifs associés.....	42
2.3. Variabilité de la vulnérabilité à l'embolie estivale	45
2.3.1. Variabilité inter-spécifique	45
2.3.2. Variabilité intra-spécifique	46
2.3.3. Variabilité entre organes	47
2.3.4. Plasticité phénotypique	47
2.4. Les coûts associés à la « résistance » à l'embolie estivale	48
2.4.1. Résistance à l'embolie estivale et efficacité hydraulique.....	49
2.4.2. Résistance à l'embolie estivale et propriétés mécaniques du xylème	50
3. Coordination entre l'architecture hydraulique et les relations hydriques et carbonées de l'arbre...51	
CHAPITRE 1 VARIABILITE STRUCTURALE DU XYLEME ET PLASTICITE EN REPONSE A LA SECHERESSE CHEZ POPULUS DELTOIDES × POPULUS NIGRA	55
1. Présentation synthétique de l'article	57
Article : Xylem anatomy correlates with gas exchange, water-use efficiency and growth performance under contrasting water regimes : evidence from <i>Populus deltoides</i> × <i>Populus nigra</i> hybrids	59
2. Transition	72

CHAPITRE 2 VARIABILITE DE LA RESISTANCE A LA CAVITATION ET PLASTICITE EN REPONSE A LA SECHERESSE CHEZ <i>POPULUS DELTOIDES</i> × <i>POPULUS NIGRA</i>	73
1. Présentation synthétique de l'article	75
Article : Common trade-offs between xylem resistance to cavitation and other physiological traits do not hold among unrelated <i>Populus deltoides</i> × <i>Populus nigra</i> hybrids	79
2. Résultats complémentaires	95
Relations entre résistance à la cavitation et plasticité phénotypique	95
3. Transition	96
CHAPITRE 3 EFFICIENCE HYDRAULIQUE CHEZ <i>POPULUS DELTOIDES</i> × <i>POPULUS NIGRA</i>	97
1. Présentation synthétique de l'article	98
Article : Hydraulic efficiency and coordination with xylem resistance to cavitation, leaf function and growth performance in <i>Populus deltoides</i> × <i>Populus nigra</i>	101
2. Résultats complémentaires	136
2.1. Partitionnement des résistances hydrauliques entre organes	136
2.2. Relation entre morphologie des stomates et caractères fonctionnels foliaires	137
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	139
1. Synthèse des travaux	141
1.1. Variabilité structurale et fonctionnelle du xylème chez <i>Populus deltoides</i> × <i>Populus nigra</i> – Relations structure - fonction	141
1.2. Plasticité structurale et fonctionnelle du xylème en réponse à la sécheresse chez <i>Populus deltoides</i> × <i>Populus nigra</i>	143
1.3. Coordination entre propriétés hydrauliques du xylème et fonctionnement hydrique et carboné chez <i>Populus deltoides</i> × <i>Populus nigra</i> – Modulation des relations par la sécheresse	145
1.4. Apports complémentaires	148
1.5. Bilan final des apports scientifiques et applications	148
2. Limites de l'étude	151
3. Perspectives	153
3.1. Quelles sont les bases physiologiques et moléculaires à l'origine de l'acclimatation structurale et fonctionnelle du xylème ?	153
3.2. Vers une caractérisation plus complète des relations structure - fonction	157
3.3. La résistance à l'embolie est-elle un réel critère de survie ?	158
3.4. Vers la caractérisation d'autres fonds génétiques	159
REFERENCES CITEES	161
VALORISATION DES TRAVAUX SCIENTIFIQUES	187

LISTE DES PRINCIPALES ABREVIATIONS

δ	: Composition isotopique
Δ	: Discrimination isotopique vis-à-vis du carbone 13
$\Delta\Psi_{S-F}$	: Gradient de potentiel hydrique entre le sol et les feuilles
η	: Viscosité dynamique de l'eau
μ_{eau}	: Potentiel chimique de l'eau
π	: Pression osmotique
ρ_{wood}	: Densité du xylème
τ	: Tension de surface de l'eau
Ψ	: Potentiel hydrique
Ψ_{12}	: Tension xylémienne causant 12% de perte de conductance hydraulique
Ψ_{50}	: Tension xylémienne causant 50% de perte de conductance hydraulique
Ψ_{88}	: Tension xylémienne causant 88% de perte de conductance hydraulique
Ψ_{leaf} ou Ψ_L	: Potentiel hydrique foliaire
Ψ_{pd}	: Potentiel hydrique foliaire de base
Ψ_{xmin}	: Potentiel hydrique minimum du xylème
Ψ_{xyl}	: Tension xylémienne
A ou A_{area}	: Assimilation nette de CO ₂ par unité de surface
ADN	: Acide DésoxyriboNucléique
AFOCEL	: Association FORêt CELlulose
<i>AgF</i>	: Génotype ' <i>Agathe_F</i> '
AGPF	: Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières
A_L	: Surface foliaire totale
ANOVA	: ANalysis Of VAriance
ANR	: Agence Nationale de la Recherche
A_V	: Pourcentage de surface occupée par les vaisseaux du xylème
A_X	: Surface fonctionnelle de xylème
Biom _F	: Biomasse fraîche de la partie aérienne
BO	: Bois Opposé
BT	: Bois de Tension
C ₃	: Plantes à métabolisme photosynthétique en C ₃
C ₄	: Plantes à métabolisme photosynthétique en C ₄
c_a	: Fraction molaire de CO ₂ dans l'atmosphère
CAZymes	: Enzymes impliquées dans le métabolisme des sucres (« <i>Carbohydrate Active enZymes</i> »)
CEMAGREF	: CEntre national du Machinisme Agricole, du Génie Rural, des Eaux et Forêts
c_i	: Fraction molaire de CO ₂ dans les cavités sous-stomatiques
<i>Cim</i>	: Génotype ' <i>Cima</i> '
CO ₂	: Dioxyde de carbone
CSPA	: Continuum Sol-Plante-Atmosphère
cv.	: Cultivar
D_F	: Diamètre moyen des fibres du xylème
D_H ou d_h	: Diamètre hydraulique moyen des vaisseaux du xylème
D_V ou d_{mean}	: Diamètre moyen des vaisseaux du xylème
<i>E28</i>	: Génotype ' <i>Eco28</i> '
E	: Taux de transpiration foliaire
EEF	: Ecologie et Ecophysiologie Forestières
ESTs	: Etiquettes de séquences de gènes exprimés (« <i>Expressed Sequence Tags</i> »)
F	: Flux
FAO	: Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (« <i>Food and Agriculture Organization</i> »)
FCBA	: Forêt, Cellulose, Bois-construction, Ameublement
<i>Fle</i>	: Génotype ' <i>Flevo</i> '
g_Ω	: Conductance de la couche limite
g_{CO2}	: Conductance stomatique au dioxyde de carbone
GIS	: Groupement d'Intérêt Scientifique
g_c	: Conductance cuticulaire de la feuille
g_s	: Conductance stomatique de la feuille à la vapeur d'eau
g_t	: Conductance totale de la feuille à la vapeur d'eau

H₂O	: Eau
HPFM	: High-Pressure FlowMeter
H_{Stem}	: Hauteur finale de la tige
I45	: Génotype 'I45-51'
INRA	: Institut National de la Recherche Agronomique
IPCC	: Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat (« <i>Intergovernmental Panel on Climate Change</i> »)
k_h	: Conductance hydraulique
K_h	: Conductivité hydraulique
k_L	: Conductance hydraulique spécifique foliaire
K_L	: Conductivité hydraulique spécifique foliaire
k_{plant} ou k_{plante}	: Conductance hydraulique spécifique foliaire de la plante entière
k_S	: Conductance hydraulique spécifique du xylème
K_S	: Conductivité hydraulique spécifique du xylème
K_{S-(t)}	: Conductivité hydraulique spécifique du xylème théorique
k_{SL}	: Conductance hydraulique spécifique foliaire de la tige entière
k_{SS}	: Conductance hydraulique spécifique du xylème de la tige entière
LBLGC	: Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures
Lui	: Génotype 'Luisa Avanzo'
N_F	: Densité de fibres par unité de surface
N_{mass}	: Teneur massique en azote de la feuille
N_V ou n_v	: Densité de vaisseaux par unité de surface
p	: Probabilité (<i>p</i> -value)
P	: Pression hydrostatique
P_{atm}	: Pression atmosphérique
Pan	: Génotype 'Pannonia'
PIAF	: Physique et physiologie Intégrative de l'Arbre Fruitier
PLC	: Pourcentage de perte de conductance hydraulique (« <i>Percent Loss of hydraulic Conductance</i> »)
QTL	: Loci contrôlant un caractère quantitatif (« <i>Quantitative Trait Loci</i> »)
r	: Coefficient de Pearson
Rbs	: Génotype 'Robusta'
RGR	: Taux de croissance relatif (« <i>Relative Growth Rate</i> »)
r_h	: Résistance hydraulique
R_h	: Résistivité hydraulique
RuBisCO	: RibUlose 1,5 Bisphosphate Carboxylase Oxygénase
s	: Pente au point d'inflexion pour les courbes de vulnérabilité à la cavitation
SLA	: Surface massique de la feuille (« <i>Specific Leaf Area</i> »)
SPI	: Index de surface stomatique (« <i>Stomatal Pore area Index</i> »)
SPIR	: Spectrométrie Proche Infra-Rouge
(t/b)_h²	: Index de résistance au collapsus pariétal des vaisseaux du xylème proches du diamètre hydraulique moyen
TCR	: Taillis à Courte Rotation
t_h	: Epaisseur de la double paroi pour les couples de vaisseaux appariés
TTCR	: Taillis à Très Courte Rotation
UMR	: Unité Mixte de Recherche
UPRES – EA	: Unité PROpre Enseignement Supérieur – Equipe d'Accueil
UR	: Unité de Recherche
USC	: Unité Sous Contrat
V_{eau}	: Volume molaire de l'eau
VPD	: Déficit de pression de vapeur d'eau (« <i>Vapour Pressure Deficit</i> »)
WUE	: Efficacité d'utilisation de l'eau (« <i>Water-Use Efficiency</i> »)
WUE_i	: Efficacité intrinsèque d'utilisation de l'eau
WUE_{inst}	: Efficacité instantanée d'utilisation de l'eau

AVANT-PROPOS

PORTAIT D'UN ARBRE « POPULAIRE »

Le peuplier, sauvage ou cultivé, est une essence extrêmement commune des zones alluviales. Il n'a toutefois pas colonisé notre imaginaire avec la même pugnacité que d'autres essences de nos forêts comme le chêne. Il est même loin de faire l'unanimité, de part son comportement pionnier et sa tendance invasive. Sa mauvaise réputation dérive du déploiement à large échelle et à titre ornemental du fameux peuplier d'Italie (*Populus nigra* L. var. '*Italica*'), ainsi que de peupleraies toutes plus ressemblantes les unes que les autres et très répandues sur le territoire. Toutefois, le peuplier ne se limite pas uniquement à ces peupleraies monotones, ni au peuplier d'Italie et son port fastigié. D'autres espèces pures comme le peuplier noir (*Populus nigra* L.) ou le peuplier blanc (*Populus alba* L.) constituent de véritables espèces emblématiques de nos forêts alluviales, auxquelles peut être rattaché un certain nombre de symboles. Avant d'aborder des aspects davantage scientifiques, j'espère que les quelques lignes ci-après contribueront à redonner au peuplier ses lettres de noblesse...

Bien qu'il existe peu de légendes où il joue un rôle essentiel, on trouve un certain nombre de symboles rattachés au peuplier dès la Grèce et la Rome antiques. Selon la légende Grecque, Phaéon, le fils du soleil Hélios, obtint la permission de conduire le char de son père pendant une journée. Mais effrayé par les animaux du Zodiaque, il perdit le contrôle et descendit trop bas, commençant à brûler les montagnes sur son passage. Zeus, craignant la destruction de l'Univers, le foudroya et le précipita dans les eaux de l'Eridan (le Pô). Ses sœurs, les Héliades, furent alors métamorphosées en peupliers noirs le long du fleuve par les Dieux afin de pleurer leur frère. C'est pourquoi les grecs voyaient le peuplier noir comme le symbole de la mort. Par opposition, le peuplier blanc rendait la mort lumineuse et était considéré comme le symbole de la résurrection. Cette symbolique viendrait de l'histoire de la nymphe *leukè* qui, convoitée par Hadès, le dieu des morts, se serait métamorphosée en peuplier blanc aux abords du fleuve Achéron, le seuil des enfers, afin de lui échapper. Ceux qui perdaient la vie pouvaient alors garder espoir en le voyant. Héraclès, le plus célèbre des héros de la mythologie grecque, se fit d'ailleurs une couronne de rameaux de peuplier blanc découvert près du fleuve Achéron, avant de descendre aux Enfers ramener Cerbère.

Traditionnellement, les peupliers étaient plantés par les Romains dans les lieux publics. En fait, le nom de genre latin *Populus* dérive de l'appellation romane *arbor populi* signifiant « l'arbre du peuple ». La légende veut également que le peuplier tremble tienne son

nom de sa comparaison avec le peuple, qui comme ses feuilles, s'agite au premier coup de vent. Le peuplier a été largement planté sur la période 1830-1848 comme arbre de la liberté et ambassadeur du peuple. Il a également ému par sa grâce nombre de peintres illustres des courants impressionniste et postimpressionniste comme Paul Cézanne, Paul Gauguin, Camille Pissarro, Vincent van Gogh, et surtout Claude Monet, auteur d'une série de plus de 20 tableaux le mettant en scène entre 1890 et 1891.

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

PEUPLIER ET POPULICULTURE

Les peupliers sont des plantes supérieures ligneuses Angiospermes Eucotylédones appartenant à la famille des Salicacées. Cette famille est composée de deux genres principaux : le genre éponyme *Salix* regroupant entre autres les espèces de saules et d'osiers, et le genre *Populus* regroupant les espèces de peupliers. Les espèces de ces deux genres partagent bon nombre de caractéristiques communes, entre autres une croissance extrêmement rapide caractéristique des espèces pionnières, une forte propension à la multiplication végétative, et la production de grandes quantités de graines à fibres cotonneuses (Dickmann & Kuzovkina 2008).

Taxonomiquement, le genre *Populus* est composé d'une petite trentaine d'espèces réparties en 6 sections botaniques (*Abaso*, *Aigeiros*, *Leucoides*, *Populus*, *Tacamahaca* et *Turanga*) sur la base de critères à la fois morphologiques et écologiques (Dickmann & Kuzovkina 2008) ; l'opinion de certains auteurs diverge toutefois sur le nombre d'espèces, notamment en raison des nombreux phénomènes d'hybridations inter-spécifiques au sein du genre (Eckenwalder 1996). Les vestiges les plus anciens de peuplier proviennent de feuilles fossilisées trouvées dans des formations de la fin du Paléocène dans le Nord-Ouest des Etats-Unis (-58 millions d'années ; Collinson 1992), et appartiendraient à un ancien taxon de la section *Abaso*, *Populus wilmottae* Cockerell aujourd'hui disparu. D'autres traces fossiles suggèrent que les membres des autres sections seraient apparus plus tardivement au cours de l'Oligocène, du Miocène et du Pliocène (Eckenwalder 1996).

Les peupliers sont des espèces dioïques, diploïdes¹, à feuilles caduques (ou exceptionnellement semi-sempervirentes) et à pollinisation anémophile. Actuellement, l'aire naturelle de répartition du genre *Populus* couvre la quasi-totalité de l'hémisphère Nord (Etats-Unis, Canada, Europe, Afrique du Nord, Russie, Chine et Japon) ; aucun peuplier ne pousse à l'état spontané dans l'hémisphère Sud, mais il est largement planté par l'Homme dans les régions tempérées de l'Argentine et du Chili (Dickmann & Kuzovkina 2008). De façon générale, les peupliers sont présents aux abords des terrains humides en bordures de rivières ou de fleuves, voire dans les vallées et plaines alluviales temporairement inondées ; ils sont par conséquent, pour la plupart très bien adaptés à des régimes hydrologiques dynamiques.

¹ $2n = 38$

On trouve toutefois quelques espèces parfaitement adaptées aux régions désertiques de part leur comportement phréatophyte (*Populus euphratica* Oliv. et *Populus pruinosa* Schrenk dans la section *Turanga*). En France, seules trois espèces pures sont présentes à l'état spontané : le peuplier noir (*Populus nigra* L.), le peuplier blanc (*Populus alba* L.) ainsi que le peuplier tremble (*Populus tremula* L.).

La grande particularité du genre *Populus* réside dans la quasi-inexistence de barrières entre espèces (Stanton 2009). Les hybridations inter-spécifiques sont possibles et spontanées entre espèces d'une même section botanique mais également entre certaines espèces de section différentes, pour peu que les espèces concernées vivent dans des zones sympatriques (Eckenwalder 1996). Cette caractéristique quasi-unique chez les arbres explique la grande variabilité morphologique présente au sein du genre ainsi que les difficultés rencontrées par les botanistes pour classer les espèces. Certaines hybridations sont toutefois impossibles, même en conditions contrôlées, comme c'est le cas entre les membres de la section *Populus* et ceux des sections *Aigeiros*, *Tacamahaca* ou encore *Leuroides*. D'autres hybridations sont quant à elles unidirectionnelles, l'exemple typique étant celui des hybrides *Populus deltoides* × *P. nigra* (syn. *P. ×euramericana*) qui n'est possible que dans le sens *P. deltoides* (♀) × *P. nigra* (♂).

L'hybridation inter-spécifique est à l'origine du développement de la populiculture et constitue le principal moteur des programmes de création et de sélection variétale (Stanton 2009). Les descendants F₁ issus des croisements présentent généralement une forte vigueur hybride (*i.e.*, phénomène d'hétérosis) en terme de productivité (Marron & Ceulemans 2006 ; Marron *et al.* 2006 ; Marron, Dillen & Ceulemans 2007 ; Dillen *et al.* 2009) ; maîtrisée, l'hybridation peut donc permettre de combiner au sein d'individus des caractères d'intérêts présents chez les deux parents appartenant à des espèces distinctes. En Europe, la plupart des cultivars commercialisés sont des hybrides inter-spécifiques issus de croisements entre trois espèces, deux originaires des Etats-Unis (*Populus deltoides* Bartr. ex Marsh. et *Populus trichocarpa* Torr. & Gray) et une originaire d'Europe (*Populus nigra* L.). Les hybrides de type *Populus deltoides* × *P. trichocarpa* ou *Populus trichocarpa* × *P. deltoides* (syn. *P. ×interamericana*), qui présentaient une résistance totale au champignon pathogène *Melampsora larici-populina* (l'agent de la rouille foliaire), ont dominé les ventes de cultivars jusqu'en 1997 (le cultivar 'Beaupré' notamment), date à laquelle de nombreux dépérissements se sont produits en raison du contournement des résistances qualitatives par de nouvelles souches virulentes. Depuis, les ventes de cultivars sont dominées par les hybrides

de type *Populus deltoides* × *P. nigra* ; en 2009, ce type de cultivars représentait plus de 77% des ventes, et à l'horizon 2020 ils devraient représenter 95% des surfaces plantées (Thivolle-Cazat 2003). Ces cultivars sont pour la plupart issus de programmes de sélection des pays voisins (Belgique, Italie et Pays-Bas) ; en France, la création du Groupement d'Intérêt Scientifique (GIS) Peuplier en 2001, regroupant l'AFOCEL (aujourd'hui FCBA), le Cemagref et l'INRA, a permis de structurer le programme français d'amélioration génétique du peuplier et les premiers cultivars homologués devraient être déployés dans les prochaines années. L'objectif de ces programmes d'amélioration est de fournir aux propriétaires forestiers le matériel génétique le mieux adapté aux exigences stationnelles et au mode de culture pour la production de bois. Jusqu'à présent, les critères de sélection ont été centrés sur la productivité, la forme et le degré de branchaison ainsi que la résistance aux pathogènes (rouille foliaire, brunissure des feuilles et chancre bactérien) (Berthelot *et al.* 2005).

En France, les surfaces plantées en peuplier représentent plus de 235 000 ha (FAO 2008), soit moins de 2% des surfaces boisées (35% pour le chêne et 8% pour le hêtre). Toutefois, la forte productivité, la faible durée de rotation et l'utilisation de techniques productivistes à la frange de l'agriculture et de la sylviculture (plantations monoclonales régulières, intrants) permettent de compenser nettement les faibles surfaces populicoles, tant et si bien que le peuplier représente la deuxième essence feuillue récoltée en volume de bois d'œuvre (1.5 millions de m³ par an), derrière le chêne. Le bois produit est essentiellement utilisé en déroulage et en sciage pour la confection d'emballages légers, et dans une moindre mesure pour la production de pâte à papier. Par ailleurs, en parallèle des conduites culturales classiques sur des rotations de 15 à 20 ans, les conduites culturales en haute densité de type taillis à courte ou très courte rotation (TCR et TTCR, respectivement) devraient à l'avenir prendre une importance considérable. De telles conduites culturales pourraient à la fois jouer le rôle de puits de carbone et donc mitiger les effets du changement global tout en assurant la production d'énergie renouvelable (Liberloo *et al.* 2009).

Jusqu'à présent, la populiculture était cantonnée majoritairement aux plaines alluviales, là où la ressource en eau ne constitue pas un facteur limitant à la production. C'est pourquoi près de 80% des surfaces plantées sont limitées à trois grandes zones populicoles en France : (i) la Picardie et le bassin Parisien, (ii) la région Poitou-Charentes et le bassin Aquitain, et (iii) la région Centre et la basse vallée de la Loire. Toutefois, l'augmentation des événements climatiques extrêmes de type canicule et sécheresse prévue à moyen et long termes dans le cadre du changement global (Meehl & Tebaldi 2004 ; IPCC 2007) pourraient

affecter la productivité des plantations futures (Loustau *et al.* 2005), particulièrement dans les zones hors vallées. Dans ce contexte, une façon raisonnée d'ajuster les cultivars aux exigences stationnelles et de faire face aux modifications climatiques prédites serait de disposer de ressources génétiques productives mais aussi (i) capables de produire une même quantité de biomasse à moindre coût en eau, autrement dit des cultivars efficaces pour l'utilisation de l'eau, et (ii) capables de limiter l'impact de contraintes édaphiques ponctuelles et modérées sur leur niveau de productivité, autrement dit des cultivars tolérants à la sécheresse.

PROBLEMATIQUE, OBJECTIFS ET STRATEGIE

Les travaux présentés dans cette thèse peuvent être replacés dans le cadre général de la thématique des deux équipes de recherche dans lesquelles ils ont été développés.

La thématique de recherche de l'équipe « Ecophysiologie et Biologie Moléculaire des Ligneux » du Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures de l'Université d'Orléans (LBLGC, UPRES-EA 1207 – INRA USC2030 Arbres et Réponses aux Contraintes Hydrique et Environnementales) vise à développer une approche intégrative afin d'identifier chez le peuplier les bases écophysiologiques et moléculaires impliquées dans les variations génétique et phénotypique de caractères complexes d'intérêt comme le potentiel de croissance, l'efficacité d'utilisation de l'eau (WUE) et la tolérance à la sécheresse. Cette thématique est développée en combinant des approches complémentaires (écophysiologie, génétique quantitative, épigénétique, protéomique et transcriptomique) sur différents fonds génétiques [compartiment cultivé (hybrides inter-spécifiques *P. ×euramericana* et *P. ×interamericana*) versus compartiment sauvage (*Populus nigra*)]. Sur le plan appliqué, les travaux ont pour objectif final d'une part de juger de la possibilité de sélectionner du matériel génétique à la fois performant et adapté aux exigences stationnelles (compartiment cultivé), et d'autre part de fournir des informations utiles à la conservation des ressources génétiques naturelles (compartiment sauvage). Ces travaux sont réalisés en étroite collaboration avec les centres INRA d'Orléans (Unité 'Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières'), de Clermont-Ferrand (équipe HYDRO de l'UMR INRA-UBP 'Physique et Physiologie Intégratives de l'Arbre Fruitier et Forestier'), de Nancy (équipe Bioclimatologie et Ecophysiologie de l'UMR INRA-UHP 'Ecologie et Ecophysiologie Forestière') et de Bordeaux (équipe Génétique de l'UMR INRA-Bordeaux I 'Biodiversité, Gènes et Communautés').

La thématique de recherche de l'équipe « Xylème » de l'Unité Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières (UR INRA 588) vise à identifier les bases physiologiques et moléculaires impliquées dans la formation du bois (*i.e.* le xylème). Le bois de tension¹ est utilisé comme modèle d'étude (Pilate *et al.* 2004) et la stratégie repose sur une démarche de génomique fonctionnelle classique incluant (*i*) l'identification en masse de gènes par des méthodes de séquençage systématique (ESTs) ou d'analyse globale d'expression

¹ Le bois de tension est le bois de réaction des Angiospermes. Il se forme sur la face supérieure de la tige en réponse à une modification de l'orientation de l'axe par rapport à la verticale. Il présente des caractéristiques anatomiques, biochimiques et mécaniques très différentes du bois « normal », la caractéristique principale étant la présence de fibres gélatineuse (fibres G) riches en cellulose cristalline et peu lignifiées.

(puces à ADN), (ii) pour les candidats intéressants, la localisation cellulaire et subcellulaire dans le xylème des protéines par des méthodes d'immunolocalisation, et (iii) la validation fonctionnelle des gènes identifiés par génétique inverse (transgénèse). Sur le plan appliqué, les travaux ont pour objectif d'identifier les mécanismes physiologique et moléculaire impliqués dans le déterminisme des propriétés structurales du bois à l'échelle macroscopique.

Les travaux de recherche entrepris sur peuplier dans l'axe Ecophysiologie au LBLGC ont jusqu'à présent été conduits essentiellement dans un contexte appliqué de sélection. La majorité des études a porté sur les principaux cultivars *Populus deltoides* × *Populus nigra* commercialisés en Europe. Ces travaux ont fait l'objet de trois thèses de doctorat (N. Marron 2000-2003 ; R. Monclus 2002-2006 ; L. Bonhomme 2005-2009) et ont permis de mettre en évidence une large gamme de variations génotypiques pour des caractères complexes comme le potentiel de croissance, WUE et la tolérance à la sécheresse, et ce quel que soit l'âge des arbres et l'environnement de croissance (serre – pépinière – peupleraie) (Marron *et al.* 2005 ; Monclus *et al.* 2005 ; Monclus *et al.* 2006 ; Bonhomme *et al.* 2008). L'efficacité d'utilisation de l'eau a été abordée au niveau foliaire à deux échelles de temps distinctes : à l'échelle instantanée au travers de mesures d'échanges de gaz, ou à une échelle plus intégrée à l'aide de l'outil isotopique (voir **Encadré IG1**) (Marron *et al.* 2005 ; Monclus *et al.* 2006 ; Bonhomme *et al.* 2008). Des indicateurs morphologiques du niveau de productivité, simples et très fiables tels que la surface foliaire maximale, ont été identifiés (Marron *et al.* 2005 ; Monclus *et al.* 2005 ; Monclus *et al.* 2006). Aucune relation directe n'a pu être mise en évidence entre productivité et WUE, suggérant ainsi la possibilité de sélectionner des génotypes possédant à la fois un fort potentiel de croissance et une forte WUE (Marron *et al.* 2005 ; Monclus *et al.* 2005 ; Monclus *et al.* 2006 ; Bonhomme *et al.* 2008). De même, aucun lien évident n'a pu être mis en évidence entre d'une part le potentiel de croissance et le niveau de tolérance à la sécheresse, et d'autre part WUE et la tolérance à la sécheresse (Monclus *et al.* 2006). Enfin, la forte relation observée entre la discrimination isotopique vis-à-vis du ¹³C et la conductance stomatique laissait supposer que les variations observées pour WUE étaient largement contrôlées par des différences de fonctionnement foliaire en phase vapeur (Monclus *et al.* 2006).

Encadré IG1. Efficience d'utilisation de l'eau et discrimination isotopique vis-à-vis du ^{13}C

L'efficience d'utilisation de l'eau (WUE) peut être définie à plusieurs échelles spatiales et temporelles. A l'échelle intégrée de la plante entière, elle est définie comme le rapport entre la biomasse accumulée et la quantité d'eau utilisée pour produire cette quantité de biomasse. A l'échelle foliaire et instantanée, WUE est définie comme le rapport entre le taux d'assimilation nette de CO_2 et le taux de transpiration (WUE_{inst}). WUE_{inst} peut être décomposé en deux composantes : l'une environnementale liée au déficit de pression de vapeur d'eau de l'air, l'autre entièrement biologique liée à la régulation stomatique des échanges de gaz. Cette dernière composante est appelée **efficience intrinsèque d'utilisation de l'eau (WUE_i)**, et correspond au rapport entre l'assimilation nette de CO_2 et la conductance stomatique à la vapeur d'eau (A/g_s).

WUE_i peut être estimée indirectement, sur un pas de temps intégré à l'échelle de la vie de la feuille, par des mesures de discrimination isotopique vis-à-vis du ^{13}C de la matière organique foliaire (Δ). Le principe de ces mesures est détaillé ci-après. Il existe deux isotopes stables du carbone : le ^{12}C et le ^{13}C . L'isotope le plus abondant dans le CO_2 atmosphérique est le ^{12}C (environ 98.9%). Ce dernier présente un encombrement stérique moins important que le ^{13}C , à l'origine de propriétés physiques et biochimiques différentes. Ainsi, le $^{12}\text{CO}_2$ diffuse plus facilement depuis l'atmosphère vers les sites enzymatiques de la Rubisco ; ensuite, le $^{12}\text{CO}_2$ est également préférentiellement fixé par la Rubisco. La conséquence directe est un appauvrissement en ^{13}C de la matière organique des feuilles.

La discrimination isotopique vis-à-vis du ^{13}C de la matière organique foliaire permet de quantifier cet appauvrissement. Elle est calculée à partir de la **composition isotopique (δ)** de l'échantillon ; les valeurs de δ s'expriment par rapport à un standard, à savoir la Pee Dee Belemnite (un fossile calcaire du crétacé trouvé à Pee Dee en Caroline du Sud) (Craig, 1957) :

$$\delta_{\text{échantillon}} (\text{‰}) = [(R_{\text{échantillon}} - R_{\text{standard}}) / R_{\text{standard}}] \times 1000 \quad (1)$$

où $R_{\text{échantillon}}$ et R_{standard} représentent le ratio $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de l'échantillon et du standard, respectivement. Les mesures de δ sont effectuées à l'aide d'un spectromètre de masse en analysant les ratios de $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ produit par combustion des échantillons. La matière organique contenant moins de ^{13}C que le standard, les valeurs de δ sont négatives. La **discrimination isotopique vis-à-vis du ^{13}C (Δ)** de la matière organique foliaire est ensuite calculée de la façon suivante :

$$\Delta (\text{‰}) = (\delta_{\text{air}} - \delta_{\text{échantillon}}) / [1 + (\delta_{\text{échantillon}} / 1000)] \quad (2)$$

avec $\delta_{\text{air}} = -8\text{‰}$.

En quoi Δ est-il indicateur de WUE_i ? Le lien entre les deux paramètres peut être explicité au travers du modèle de photosynthèse pour les plantes en C_3 proposé par Farquhar (Farquhar, von Caemmerer & Berry 1980 ; Farquhar, O'Leary & Berry 1982 ; Farquhar & Richards 1984 ; voir aussi Farquhar, Ehleringer & Hubick 1989 pour une revue), lequel prédit que Δ dépend de la diffusion du CO_2 au niveau foliaire ainsi que des réactions biochimiques. Le modèle comporte 5 termes décrivant chacun un processus influant sur la discrimination : (i) la diffusion à travers la couche limite, (ii) la diffusion à travers les stomates, (iii) la diffusion depuis les espaces gazeux intercellulaires jusqu'aux sites enzymatiques de la Rubisco, (iv) la fixation par la Rubisco, et (v) la photorespiration et la respiration liée au cycle de Krebs. En règle générale, le modèle est simplifié en négligeant les processus de fractionnement liés aux points (i), (iii) et (v). Connaissant les fractions molaires de CO_2 dans l'atmosphère (c_a) et au niveau des sites évaporants intercellulaires (c_i), Δ peut alors être prédit :

$$\Delta = a + (b - a) \times (c_i / c_a) \quad (3)$$

où a représente le coefficient de fractionnement causé par la diffusion au travers des stomates ($a \sim 4.4\text{‰}$), et b représente le coefficient de fractionnement causé par la Rubisco lors du processus de carboxylation ($b \sim 27\text{‰}$).

Par ailleurs, l'assimilation nette de CO_2 (A) est fonction de la conductance stomatique au CO_2 (g_{CO_2}) et de c_i et c_a si bien que :

$$A = g_{\text{CO}_2} \times (c_a - c_i) \quad (4)$$

Sachant que la conductance stomatique à la vapeur d'eau (g_s) est égale à 1.6 fois g_{CO_2} et en réarrangeant les équations (3) et (4), Δ peut alors être relié linéairement et négativement à WUE_i :

$$\text{WUE}_i = A/g_s = (c_a/1.6) \times [(b - \Delta) / (b - a)] \quad (5)$$

Dans les études précédentes, la feuille a généralement été considérée comme un niveau d'étude privilégié pour la compréhension des relations hydriques et carbonées de l'arbre puisqu'elle est à la fois le site des processus de transpiration et de photosynthèse. Toutefois, la régulation des échanges de gaz s'effectue en étroite coordination avec les capacités d'alimentation en eau de la plante en phase liquide afin d'éviter tout dessèchement létal. Si la transpiration peut être considérée comme le déterminant majeur de l'état hydrique de la plante, elle représente également le moteur de l'ascension de la sève brute. L'essentiel des transferts de sève brute en phase liquide étant assuré par le xylème, les propriétés structurales et fonctionnelles du xylème liées à son efficacité de conduction mais aussi à ses dysfonctionnements peuvent être considérées comme l'un des déterminant majeurs du fonctionnement foliaire, et donc de la croissance en général (Mencuccini 2003). Par conséquent, la caractérisation de l'architecture hydraulique pourrait fournir une vision plus complète des relations hydriques et carbonées au sein des hybrides *Populus deltoides* × *P. nigra*.

L'objectif général de cette thèse visait à caractériser l'architecture hydraulique des hybrides *Populus deltoides* × *P. nigra* et à juger des relations avec le fonctionnement hydrique et carboné de l'arbre en conditions d'irrigation contrastées. Les objectifs spécifiques de la thèse étaient :

- (i) de caractériser la gamme de variations structurales et fonctionnelles du xylème entre géotypes et de préciser les relations structure - fonction.**
- (ii) d'évaluer et quantifier l'impact d'une contrainte hydrique sur les propriétés structurales et fonctionnelles du xylème**
- (iii) de juger des liens entre la structure et la fonction du xylème avec d'autres caractères intégrés indicateurs du fonctionnement hydrique et carboné de l'arbre**

Afin de répondre à ces objectifs, nous avons sélectionné huit géotypes *Populus deltoides* × *P. nigra* non apparentés et contrastés pour leur discrimination isotopique vis-à-vis du ^{13}C (Δ) sur la base des données précédemment obtenues en pépinière en condition hydrique non limitante sur un set de 29 géotypes (Monclus *et al.* 2005). L'ensemble des expériences a été réalisé en pépinière, à partir de plançons enracinés depuis au moins un an. Le dispositif

expérimental comprenait deux parcelles jumelles espacées de 15 mètres, l'une régulièrement irriguée et l'autre non irriguée. Les mesures ont systématiquement été effectuées sur la tige principale de l'année. Les propriétés structurales du xylème associées à l'efficacité de conduction et aux propriétés mécaniques ont été caractérisées, de même que les deux principaux aspects du fonctionnement hydraulique du xylème (efficacité de conduction et vulnérabilité à la cavitation). Le fonctionnement hydrique et carboné de l'arbre a quant à lui été abordé (*i*) à l'échelle de la feuille à l'aide de caractères morphologiques et structuraux (*e.g.* surface massique foliaire, morphologie des stomates) ou fonctionnels (*e.g.* potentiels hydriques, échanges de gaz, discrimination isotopique vis-à-vis du ^{13}C), et (*ii*) à l'échelle de la plante entière *via* l'estimation des performances de croissance (*e.g.* biomasse aérienne, taux de croissance relatif).

Le manuscrit est articulé de la façon suivante. Une revue de la littérature visant à présenter les principaux concepts utiles à la compréhension du fonctionnement hydraulique et de son implication potentielle dans le fonctionnement hydrique et carboné de l'arbre est d'abord effectuée. Les résultats du travail de thèse sont ensuite présentés sous la forme de trois chapitres, correspondant chacun à un article accepté ou prochainement soumis pour publication ; certains résultats non publiés sont parfois présentés à titre complémentaire. Notre démarche a consisté d'abord à juger de l'amplitude des variations structurales du xylème entre géotypes, avant d'entreprendre ensuite des mesures plus fonctionnelles ; l'ordre de présentation des chapitres souligne cette démarche. A l'issue des trois chapitres, les principaux résultats acquis dans le cadre de ce travail sont restitués au regard des objectifs initiaux, et les perspectives de recherche les plus intéressantes sont enfin évoquées. A ce niveau, un axe de recherche visant à identifier les bases physiologiques et moléculaires de la plasticité structurale du xylème en réponse à la sécheresse a été initié dans le cadre de ma thèse ; les résultats de cet axe étant en cours d'analyse, ils sont présentés en perspectives de travail.

ETAT DES CONNAISSANCES

L'objectif de cette partie est de présenter brièvement les concepts et les connaissances actuelles utiles à la compréhension de la problématique et des articles présentés par la suite. Elle traite majoritairement de la circulation de l'eau en phase liquide dans le système vasculaire et de ses limites de fonctionnement ; les mouvements d'eau dans le système extravasculaire ainsi que ceux en phase vapeur sont abordés mais ne sont pas spécifiquement traités. On pourra pour cela se reporter à certains ouvrages ou certaines synthèses comme ceux de Nobel (1999) ou Steudle (2001).

1. RAPPELS SUR LA CIRCULATION DE L'EAU DANS LE CONTINUUM SOL - PLANTE - ATMOSPHERE

1.1. Bases thermodynamiques des mouvements d'eau en phase liquide

La force motrice responsable des flux d'eau dans un système d'un point A vers un point B dépend de l'état énergétique de l'eau en ces deux points. En physiologie, l'état énergétique de l'eau est caractérisé par le potentiel hydrique (Ψ), une grandeur thermodynamique intensive qui détermine sous certaines conditions le sens et l'intensité du flux entre deux points distincts. Ψ est défini comme « le travail volumique qu'il faut fournir à l'eau du système pour la ramener à un état de référence (eau 'libre', c'est-à-dire l'eau pure à la température du système et à pression atmosphérique) ». De façon plus formelle, Ψ est défini par rapport au potentiel chimique de l'eau et peut être décrit de la façon suivante :

$$\Psi = (\mu_{\text{eau}} - \mu^{\circ}_{\text{eau}}) / V_{\text{eau}} \quad (1)$$

où μ_{eau} (J mol^{-1}) représente le potentiel chimique de l'eau dans le système considéré, μ°_{eau} (J mol^{-1}) représente le potentiel chimique de l'eau à l'état standard (eau pure à pression atmosphérique et à même température que le système), et V_{eau} représente le volume molaire de l'eau ($18 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \text{ mol}^{-1}$). Fondamentalement, Ψ s'exprime en J m^{-3} ou encore en N m^{-2} ; or, une force d'un Newton exercée sur une surface d'un m^2 est égale à un Pa, d'où l'expression usuelle de Ψ en MPa. Par définition, Ψ dans l'état standard est égal à zéro. Si l'eau doit céder de l'énergie pour revenir à l'état de référence, Ψ est positif ; si au contraire il faut fournir de l'énergie pour ramener l'eau à l'état de référence, Ψ est négatif. Chez les plantes, Ψ est la plupart du temps négatif. Une différence de Ψ entre deux points indique que l'eau n'est pas à l'équilibre énergétique et qu'elle aura tendance à se déplacer depuis un point A où Ψ est élevé vers un point B où Ψ est plus faible.

Dans un contexte cellulaire, Ψ possède deux composantes :

$$\Psi = P - \pi \quad (2)$$

où P représente la pression hydrostatique, et π représente la pression osmotique. Dans un contexte de transferts au sein du système vasculaire, la composante osmotique peut être négligée puisque la sève brute est une solution très diluée ; on considère que les mouvements d'eau se font donc uniquement en réponse à une différence de pression hydrostatique, à ceci près que P est négatif car l'eau circule sous tension. A noter toutefois qu'une composante gravitationnelle contribue à diminuer Ψ d'environ 0.01 MPa tous les mètres ; cette composante sera négligée dans la suite de la synthèse mais sa contribution peut devenir importante pour les arbres de très grande taille.

1.2. La théorie de la Tension-Cohésion

En règle générale (hors phénomènes de poussées racinaires), la sève brute circule depuis les racines jusqu'aux feuilles sous tension, c'est-à-dire à des pressions négatives. Le mécanisme de circulation, simple en apparence, extrêmement efficace et non coûteux pour la plante (la vaporisation de l'eau par le soleil au niveau des feuilles fournit l'énergie nécessaire), fait appel à des principes physiques plus complexes. Les mécanismes sous-jacents sont décrits dans la théorie de la Tension-Cohésion proposée par Dixon & Joly depuis maintenant plus d'un siècle (Dixon & Joly 1895). Bien qu'elle ait été sujette à controverse, même encore récemment (Canny 1995 ; Canny, Huang & McCully 2001 ; Zimmermann *et al.* 2004), cette théorie vaut toujours comme référence pour expliquer le mécanisme d'ascension et un grand nombre de faits expérimentaux sont depuis venus assoir la théorie (*e.g.* Holbrook, Burns & Field 1995 ; Pockman, Sperry & O'Leary 1995 ; Steudle 1995 ; Sperry *et al.* 1996 ; Cochard, Améglio & Cruiziat 2001 ; Tyree, Cochard & Cruiziat 2003 ; voir aussi Steudle 2001 ; Tyree & Zimmermann 2002 ; Angeles *et al.* 2004).

De façon simple, l'eau est littéralement « tirée » vers le haut sous l'effet de l'évaporation de la sève brute dans les cavités sous-stomatiques des feuilles, grâce à la structure nanoporeuse des parois pectocellulosiques des cellules mésophylliennes et aux propriétés cohésives des molécules d'eau. De façon plus spécifique, elle peut être résumée par les quelques dogmes fondamentaux suivants :

(i) La sève brute forme un réseau continu de colonnes liquides depuis les racines responsables de l'absorption, jusqu'aux feuilles où s'effectue le processus de transpiration. La continuité des colonnes d'eau est rendue possible par la forte cohésion des molécules d'eau entre elles et donc par la forte tension de surface de l'eau. Quatre vingt dix neuf pourcent du trajet ont lieu dans les conduits du système vasculaire (le xylème), les 1% restant du trajet ayant lieu dans le système extravasculaire (cortex racinaire et mésophylle foliaire).

(ii) La structure nanoporeuse des parois pectocellulosiques des cellules mésophylliennes bordant la cavité sous stomatique permet la formation de ménisques eau-air de quelques nanomètres de diamètre, à l'interface entre la sève arrivée à l'extrémité du trajet et la chambre sous-stomatique où a lieu la vaporisation de l'eau.

(iii) L'énergie reçue à la surface des feuilles crée une différence de pression de vapeur d'eau entre la surface foliaire et l'intérieur de la feuille, ce qui entraîne la vaporisation de l'eau (passage de l'état liquide à l'état vapeur). La vaporisation de l'eau au niveau des ménisques eau-air génère des tensions capillaires qui entraînent une diminution du potentiel hydrique de l'eau dans les régions adjacentes. En raison de la continuité des colonnes d'eau, ce changement d'état énergétique est instantanément transféré dans l'ensemble de la plante, les régions proches de la surface transpirante fonctionnant à des potentiels hydriques plus faibles (des tensions plus fortes) que les régions proches des racines. Le gradient de potentiel hydrique ($\Delta\Psi$) ainsi généré est responsable du sens et de l'intensité du flux de sève brute.

(iv) La sève brute circule sous tension et donc en dessous de la valeur de tension de vapeur saturante correspondant à la température de la sève. Autrement dit, la sève brute circule dans un état instable, également appelé métastable. Une phase gazeuse plus stable, à pression atmosphérique, peut donc apparaître dans la phase liquide : c'est le phénomène de cavitation. Lorsqu'il a lieu, de la vapeur d'eau d'abord, puis de l'air ensuite, envahissent tout le conduit qui est alors cavité. Une fois l'air à pression atmosphérique, le conduit n'est plus fonctionnel et est alors embolisé. Néanmoins, la structure intrinsèque des conduits vasculaires ainsi que la forte cohésion des molécules d'eau contribuent très largement à limiter les risques de cavitation dans des conditions de fonctionnement « normales ». Nous reviendrons en détails sur ces aspects plus tard.

(v) L'arrêt du processus de transpiration entraîne l'arrêt de la circulation ($\Delta\Psi = 0$). Le potentiel hydrique est alors le même dans toutes les parties de la plante. En considérant cet équilibre comme parfait, le potentiel hydrique de la plante équivaut alors à celui du sol : ce potentiel est appelé potentiel hydrique de base. A noter que si le sol n'est pas saturé en eau ($\Psi_{\text{sol}} < 0$), la sève brute restera sous tension, malgré l'absence de flux.

Cette théorie de l'ascension de l'eau est appelée **tension-cohésion** car (i) la force motrice à l'origine du flux est générée par les **tensions capillaires** en réponse à la vaporisation de l'eau, et (ii) c'est la **cohésion des molécules d'eau** entre elles, grâce à des liaisons hydrogènes, qui permet le développement des tensions sans qu'il n'y ait, sauf cas exceptionnels, rupture de la colonne d'eau.

1.3. Modélisation des transferts hydriques dans le continuum Sol - Plante - Atmosphère

Avant d'aborder les paragraphes suivants, il est nécessaire de présenter un certain nombre de concepts et de paramètres que nous utiliserons de façon récurrente dans la suite du manuscrit, notamment les notions de conductance, conductivité, résistance et résistivité hydraulique.

Les plantes sont à l'interface de deux milieux, le sol et l'atmosphère, l'ensemble des trois maillons formant le continuum Sol - Plante - Atmosphère (CSPA) au sein duquel s'effectuent les processus de transferts d'eau. Les mouvements d'eau entre deux points A et B du CSPA peuvent être formalisés de façon simple, par analogie à la loi d'Ohm qui décrit les mouvements de charges électriques dans un circuit composé d'un ensemble de résistances en série (Van den Honert 1948). A chaque organe ou ensemble d'organes est alors associée une valeur de résistance (ou son inverse, une conductance) au flux (**Fig. S1**).

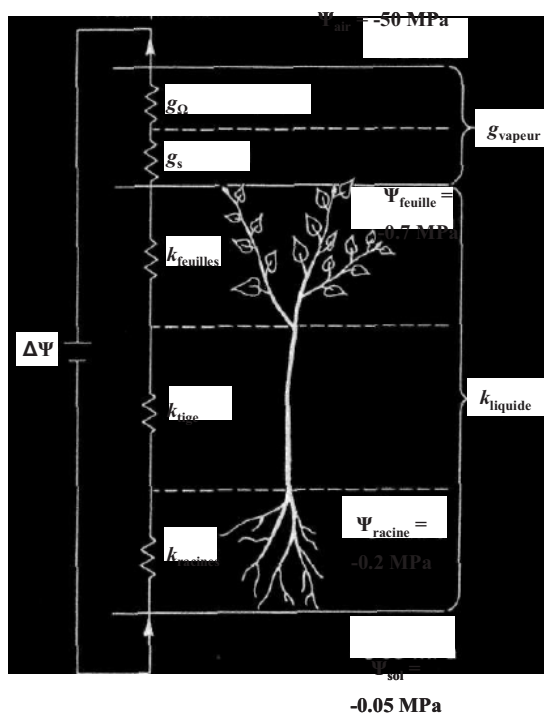


Fig. S1 Analogie Ohmique du flux de sève brute dans le continuum Sol - Plante - Atmosphère. Dans sa forme la plus simpliste, une valeur de conductance moyenne est associée à chaque organe et les conductances sont traitées en série. Les conductances en phase liquide sont indexées k ; les conductances en phase vapeur sont indexées g (g_s , conductance stomatique; g_Ω , conductance de la couche limite). Les valeurs de potentiel hydrique (Ψ) sont des valeurs moyennes données à titre indicatif. Le gradient de potentiel hydrique ($\Delta\Psi$) conditionne le sens et l'intensité du flux de sève brute.

L'analogie Ohmique reste le modèle le plus utilisé pour la caractérisation du fonctionnement hydraulique des arbres. Toutefois, le modèle présenté ici est un modèle simplifié car (1) il considère l'ensemble des conductances en série alors que dans des systèmes complexes comme le houppier d'un arbre les branches sont à la fois associées en série et en parallèle, et (2) il ne tient pas compte des effets capacitifs de chaque organe. Modifié d'après Tyree & Ewers (1991).

De façon générale, le flux d'eau (F , kg s^{-1}) entre deux points A et B suit l'équation généraliste suivante (Nobel 1999) :

$$F_{AB} = \text{coefficient de proportionnalité} \times \text{force motrice} \quad (3)$$

Nous avons vu que la force motrice responsable des transferts d'eau en phase liquide était générée par une différence de pression hydrostatique (*i.e.* une différence de potentiel hydrique, MPa). Par ailleurs, le coefficient de proportionnalité est conventionnellement appelé conductance hydraulique (k_h , $\text{kg s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$) et représente une caractéristique intrinsèque indicatrice du niveau de résistance au flux. Les différents termes de l'équation (3) peuvent alors être réarrangés pour donner :

$$F_{AB} = k_{h\ AB} \times (\Psi_A - \Psi_B) = k_{h\ AB} \times \Delta\Psi_{AB} \quad (4)$$

A partir de cette équation, il est clair que pour une valeur donnée de $\Delta\Psi_{AB}$, l'efficacité du flux entre A et B dépend de la valeur de $k_{h\ AB}$. Il est important de noter que l'équation (4) peut être appliquée en n'importe quels points du trajet de la sève brute. Par conséquent la conductance hydraulique (ou la résistance) peut être une caractéristique intrinsèque de la plante entière, d'un organe, d'un segment de tige... A l'échelle de la plante entière, la conductance hydraulique dépendra à la fois des propriétés du trajet vasculaire (flux axial) et extravasculaire (flux radial). A l'échelle de la tige ou d'un segment de tige, la conductance hydraulique dépendra uniquement des propriétés du trajet vasculaire, notamment des caractéristiques morphologiques des conduits vasculaires.

L'inverse de la conductance hydraulique est appelé résistance hydraulique ($r_h = 1/k_h$, MPa s kg^{-1}). Les résistances étant additives en série, on préférera utiliser cette notion lorsque l'on cherche à savoir comment sont partitionnées les résistances au flux au sein de la plante (Tyree & Zimmermann 2002). La notion de conductance hydraulique est quant à elle généralement préférée lorsque l'on raisonne en termes d'efficacité de flux.

La conductivité hydraulique entre deux points A et B ($K_{h\ AB}$, $\text{kg m s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$) est égale à $k_{h\ AB}$ multipliée par la distance entre les deux points considérés (Δx_{AB} , m). En d'autres termes, la conductivité hydraulique est égale au flux d'eau entre A et B divisé par le gradient de pression hydrostatique qui génère le flux ($\Delta\Psi_{AB}/\Delta x_{AB}$) :

$$K_{h\ AB} = k_{h\ AB} \times \Delta x_{AB} = F_{AB} / (\Delta \Psi_{AB} / \Delta x_{AB}) \quad (5)$$

Contrairement à k_h , K_h ne dépend pas de la longueur du trajet parcouru. Néanmoins, c'est une grandeur qui ne peut être calculée que lorsque la distance parcourue est connue ; c'est le cas lorsque les mesures sont effectuées sur des segments de tige de faible longueur. A l'inverse, calculer la conductivité à l'échelle de la plante entière est difficilement concevable, la distance des trajets extravasculaires ne pouvant être identifiés. L'inverse de la conductivité hydraulique est appelé résistivité hydraulique ($R_h = 1/K_h$, MPa s kg⁻¹ m⁻¹).

Les paramètres décrits ci-dessus ne sont généralement pas utilisés tels quels pour décrire l'efficacité du transport de sève brute dans un contexte physiologique. On préfère donc normaliser les données de conductance ou de conductivité hydraulique (i) soit par la surface effective de conduction xylémienne lorsque les mesures concernent les flux axiaux, (ii) soit par unité de surface foliaire alimentée (Tyree & Ewers 1991 ; Cruiziat, Cochard & Améglio 2002). Les conductances ou conductivités ainsi normalisées sont indexées par le suffixe spécifique.

(i) La conductance hydraulique spécifique du xylème (k_s , kg s⁻¹ m⁻² MPa⁻¹) est calculée comme le rapport entre la conductance hydraulique et la surface effective de conduction de la tige ou de l'échantillon de xylème considéré (A_x , m²) :

$$k_s = k_h / A_x \quad (6)$$

De la même façon, la conductivité hydraulique spécifique du xylème (K_s , kg s⁻¹ m⁻¹ MPa⁻¹) est calculée comme $K_s = K_h / A_x$. Les valeurs de k_s et K_s sont indicatrices de l'efficacité avec laquelle la sève brute circule au sein du xylème ; ces valeurs sont uniquement dépendantes des propriétés des conduits vasculaires et ne sont donc applicables qu'aux flux axiaux.

(ii) La conductance hydraulique spécifique foliaire (k_L , kg s⁻¹ m⁻² MPa⁻¹) est calculée comme le rapport entre la conductance hydraulique et la surface foliaire totale supportée par l'échantillon considéré (A_L , m²) :

$$k_L = k_h / A_L \quad (7)$$

De la même façon, la conductivité hydraulique spécifique foliaire (K_L , $\text{kg s}^{-1} \text{m}^{-1} \text{MPa}^{-1}$) peut être calculée pour les flux axiaux comme $K_L = K_h/A_L$. Les valeurs de k_L et K_L sont indicatrices de l'efficacité avec laquelle les feuilles sont alimentées en eau.

Enfin, un dernier paramètre est généralement utilisé pour la caractérisation de l'efficacité hydraulique : le « nombre de Huber¹ » (Tyree & Ewers 1991 ; Cuiziat, Cochard & Améglio 2002). Ce dernier correspond au rapport A_X/A_L et représente un indicateur morphologique de l'investissement dans la structure vasculaire pour une surface foliaire donnée. Par définition, A_X/A_L permet de relier k_L ou K_L à k_S ou K_S au travers de l'équation suivante :

$$k_L = A_X/A_L \times k_S \quad \text{ou} \quad K_L = A_X/A_L \times K_S \quad (8)$$

Les mesures de conductance hydraulique peuvent être réalisées à différentes échelles spatiales en combinant des approches expérimentales variées. Sur la base de l'équation (4), le principe est simple et reste toujours le même : il consiste à mesurer le flux et la différence de pression (ou de potentiel hydrique) entre deux points du système.

- A l'échelle de la plante entière, la conductance hydraulique peut être dérivée en combinant des mesures journalières de flux de sève brute ou de flux de transpiration à des mesures de potentiels hydriques du sol et des feuilles (*e.g.* Bucci *et al.* 2004 ; Bucci *et al.* 2006 ; voir aussi **Chapitre 3**).
- A l'échelle de la branche feuillée entière ou du système racinaire, la conductance hydraulique totale du trajet peut être mesurée à l'aide d'un fluxmètre à haute pression (HPFM, 'High Pressure FlowMeter') (*e.g.* Tyree *et al.* 1993b ; Tyree *et al.* 1995 ; Tsuda & Tyree 2000 ; Barigah *et al.* 2006 ; voir aussi **Chapitre 3**). Le principe consiste à perfuser l'échantillon (typiquement avec de l'eau ultra-pure dégazée et filtrée) à des pressions relativement élevées de l'ordre de 0.3 MPa et à mesurer le flux correspondant.
- A l'échelle du segment de xylème, les mesures de conductance hydraulique sont généralement effectuées à des pressions plus faibles, typiquement inférieures à 0.01 MPa (Sperry, Donnelly & Tyree 1988). Le flux peut être mesuré à l'aide d'un fluxmètre de précision (*e.g.* Awad *et al.* 2010), ou simplement en mesurant la quantité d'eau traversant l'échantillon par unité de temps à l'aide d'une balance analytique (*e.g.* Sperry, Donnelly & Tyree 1988).

¹ « Huber Value » en anglais

1.4. Circulation xylémienne

1.4.1. Ultrastructure des éléments conducteurs du xylème

Quatre vingt dix neuf pourcent du trajet de la sève brute s'effectuent au sein du système vasculaire dans des éléments conducteurs spécialisés rigides, lignifiés et dépourvus de protoplasme. L'apparition d'un tel système de transport de l'eau chez les plantes au cours de l'évolution a coïncidé avec l'affranchissement du milieu aquatique et la colonisation du milieu terrestre. On distingue deux grands types de conduits vasculaires : les trachéides, caractéristiques des Gymnospermes, et les vaisseaux, caractéristiques de la majorité des Angiospermes (Esau 1977). D'un point de vue évolutif, on considère les trachéides plus primitives que les vaisseaux (Carlquist 2001) ; elles dérivent d'une seule initiale cambiale et mesurent en moyenne 1 à 10 mm de long pour 10 à 30 μm de large. Nous focaliserons la suite de notre synthèse sur les vaisseaux.

Les vaisseaux sont des structures multicellulaires, constitués de l'empilement (jusqu'à plusieurs milliers) d'éléments de vaisseaux (**Fig. S2**). Ces derniers communiquent entre eux par des perforations résultant de la lyse partielle ou totale de la paroi transversale durant les étapes ultimes de maturation (Nakashima *et al.* 2000) ; chez le peuplier, les perforations sont complètes (**Fig. S2**). La longueur des éléments de vaisseaux varie entre 150 μm et 2 mm suivant les espèces ; le diamètre varie entre 10 et 500 μm . La longueur des vaisseaux est également finie, mais varie grandement entre espèces, de 1 mm par exemple chez certaines herbacées jusqu'à plusieurs mètres chez certaines espèces ligneuses comme le chêne.

La structure d'un vaisseau peut être assimilée à un capillaire creux, rigide, mais limité à chaque extrémité par des parois transversales qui ne sont pas perforées. L'extrémité des vaisseaux est effilée et le passage de la sève brute de vaisseaux à vaisseaux doit alors s'effectuer au travers de la paroi *via* des structures spécialisées : les ponctuations. Ces ponctuations correspondent à des zones amincies où seule la paroi primaire partiellement hydrolysée et poreuse permet le passage de la sève brute ; le diamètre des pores varie globalement de quelques nanomètres à plusieurs centaines de nanomètres (*voir* Choat, Cobb & Jansen 2008 pour une revue). Nous verrons plus tard que ces pores, bien qu'indispensables au transfert d'eau à grande échelle, sont à l'origine des limites de fonctionnement en phase liquide. Les ponctuations sont typiquement « bordées¹ », c'est-à-dire que la paroi secondaire vient former un rebord de petit diamètre débouchant sur une chambre de ponctuation plus large (**Fig. S2**). La paroi primaire et la lamelle mitoyenne communes aux deux vaisseaux

¹ « Bordered pit » en anglais

adjacents constituent la membrane de ponctuation (**Fig. S2**) ; il convient de noter toutefois que le terme ‘membrane’ est ici légèrement confus puisqu’il ne fait en aucun cas référence à une membrane biologique classique, *i.e.* une bicouche lipidique.

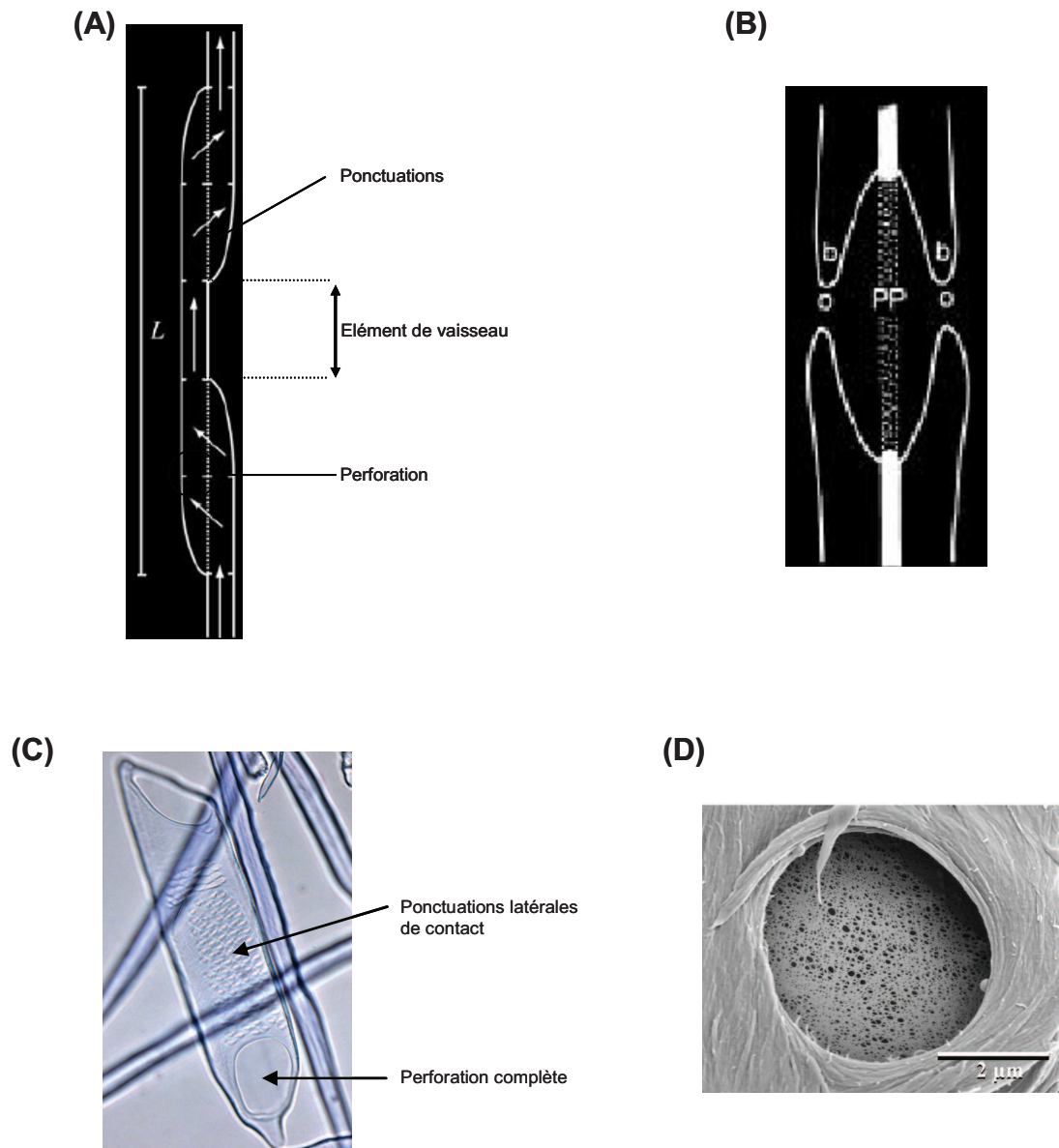


Fig. S2 Représentation schématique et ultrastructure éléments conducteurs de sève brute chez les Angiospermes. (A) Représentation schématique de la circulation de la sève brute à l'échelle du vaisseau (modifié d'après Choat, Cobb & Jansen 2008). Les vaisseaux sont constitués de l'empilement d'éléments de vaisseaux communiquant directement les uns avec les autres au travers de perforations. La circulation d'un vaisseau à l'autre s'effectue au travers de ponctuations. *L*, longueur du vaisseau. (B) Représentation schématique d'une ponctuation en coupe longitudinale (d'après Robert & Catesson 1990). *b*, rebords formés par la paroi secondaire et délimitant l'entrée dans la chambre de ponctuation ; *PP* paroi primaire et lamelle mitoyenne constituant la 'membrane' de la ponctuation. (C) Observation en microscopie photonique d'un élément de vaisseau chez le peuplier (*Populus deltoides* × *P. nigra* cv. 'Eco28' ; Photo R. Fichot). Les éléments de vaisseaux ont été obtenus après macération d'échantillons de bois dans un mélange peroxyde d'hydrogène : eau distillée : acide acétique glacial (1:4:5 vol). A noter la disparition complète de la paroi transversale. (D) Observation en microscopie électronique à balayage d'une ponctuation (*Salix alba*) (d'après Jansen, Choat & Pletsers 2009). L'interruption de la paroi secondaire laisse entrevoir la membrane de la ponctuation dans la chambre sous-jacente. A noter la présence de pores au sein de la membrane.

1.4.2. Modélisation du flux au sein des éléments conducteurs

Le flux d'eau au sein des éléments conducteurs peut être analysé par analogie au flux à travers des capillaires lisses de section transversale parfaitement circulaire et de longueur infinie (Tyree & Zimmermann 2002). La loi de Hagen-Poiseuille décrit l'écoulement d'un fluide le long d'un capillaire en conditions laminaires (*i.e.* non turbulentes) et permet de calculer la conductivité axiale de ce capillaire. Les éléments conducteurs étant parallèles au flux le long d'un segment, la conductivité axiale du segment de tige est théoriquement égale à la somme des conductivités de chacun des vaisseaux :

$$K_{théorique} = (\pi\rho/128\eta) \times \sum_{i=1}^n d_i^4 \quad (9)$$

où $K_{théorique}$ représente la conductivité hydraulique théorique du segment de xylème ($\text{kg m s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$), ρ représente la densité de l'eau (998.2 kg m^{-3} à 20°C), η représente la viscosité dynamique de l'eau ($1.002 \times 10^{-9} \text{ MPa s}$ à 20°C), d_i représente le diamètre interne du $i^{\text{ème}}$ vaisseau (m), et n représente le nombre d'éléments conducteurs en parallèle. L'équation (9) démontre l'importance des propriétés morphologiques des éléments conducteurs, notamment le diamètre du lumen, dans la conductivité du xylème. Ainsi, l'augmentation d'un facteur 2 du diamètre d'un élément conducteur augmente sa conductivité d'un facteur 16 (2^4) ; c'est pourquoi ce sont les vaisseaux de grande taille, pourtant minoritaires au sein de la tige, qui participent majoritairement au flux (Tyree, Davis & Cochard 1994). Un certain nombre de travaux ont comparé la conductivité théorique du xylème déduite à partir des propriétés des vaisseaux en section transversale à la conductivité réelle du segment de tige (Calkin, Gibson & Nobel 1985 ; Gibson, Calkin & Nobel 1985 ; Schulte, Gibson & Nobel 1989 ; Hargrave *et al.* 1994 ; Martre, Durand & Cochard 2000 ; Martre, Cochard & Durand 2001 ; Santiago *et al.* 2004 ; Choat, Sack & Holbrook 2007). Les valeurs de $K_{théorique}$ et de conductivité réelle sont généralement corrélées, mais il apparaît clairement que $K_{théorique}$ surestime la conductivité réelle, d'un facteur dépendant de l'espèce considérée. Ceci peut s'expliquer facilement du fait que (i) les vaisseaux ne se comportent pas exactement comme des capillaires à géométrie parfaite en section transversale, et (ii) les ponctuations au niveau des jonctions vaisseau-vaisseau offrent une résistance considérable au flux xylémien (Sperry *et al.* 2005 ; Wheeler *et al.* 2005 ; Hacke *et al.* 2006) qui n'est pas prise en compte dans le calcul de $K_{théorique}$, les capillaires étant considérés de longueur infinie. De plus, des erreurs d'estimation du diamètre des vaisseaux entraînent forcément de grandes erreurs dans le calcul de $K_{théorique}$ puisque d est élevé à la puissance 4. Néanmoins, la loi de Hagen-Poiseuille reste très utile et toujours

très utilisée dans la caractérisation des relations structure-fonction du xylème (*e.g.* Poorter *et al.* 2009 ; Zanne *et al.* 2010).

2. LIMITES DE FONCTIONNEMENT DU SYSTEME VASCULAIRE : CAVITATION ET EMBOLIE

Comme nous l'avons vu précédemment, la sève brute circule la plupart du temps sous tension, c'est-à-dire sous pression négative. Sous cette forme, l'eau est dans un état métastable, sujette à se vaporiser étant donné que la pression au sein du xylème est plus négative que la pression de vapeur du liquide. La vaporisation soudaine de la colonne d'eau sous tension au sein d'un conduit constitue à proprement parler le phénomène de cavitation (terme du domaine de la physique). Le vaisseau conducteur considéré devient alors rapidement saturé par de l'air à pression atmosphérique provoquant ainsi une embolie gazeuse (l'équivalent d'une thrombose) et donc l'arrêt de circulation de la sève brute dans le conduit. Si le phénomène se produit à grande échelle, la capacité à alimenter en eau les feuilles et les parties en croissance peut alors devenir réduite et menacer à terme le fonctionnement hydrique et carboné de l'arbre. Néanmoins, l'organisation et la structure intrinsèque du xylème, ainsi que les propriétés cohésives des molécules d'eau, contribuent très largement à limiter ces risques.

Il existe deux principales causes à l'embolie chez les arbres : l'alternance des cycles gel-dégel en hiver (embolie hivernale) et la sécheresse (embolie estivale). Seule l'embolie estivale sera traitée dans ce manuscrit car c'est cet aspect qui a été abordé au cours de la thèse. On notera toutefois que les mécanismes de formation mis en jeu sont différents dans les deux cas. Dans le premier cas, la formation d'embolie dépend principalement de la taille des conduits qui joue sur le diamètre et donc sur le volume maximal des bulles d'air qui se forment lors de la prise en masse de la sève (la sève est saturée en gaz et les gaz ne sont pas solubles dans la glace) ; le lecteur pourra se référer à Cruiziat *et al.* (2002) ou à Tyree & Zimmermann (2002) pour une revue du mécanisme complet. Dans le deuxième cas, et nous allons y revenir en détail, la formation d'embolie dépend avant tout de la structure des ponctuations au niveau des jonctions vaisseaux-vasseaux.

2.1. Mécanisme de formation de l'embolie estivale

En théorie, plusieurs mécanismes sont susceptibles de provoquer la rupture d'une colonne d'eau sous tension (Cochard 2006). En fait, deux hypothèses sont *a priori* concevables : (i) la nucléation « homogène », qui est liée à une rupture spontanée des liaisons entre les molécules

d'eau au sein du lumen des conduits ; ou (ii) la nucléation hétérogène, qui est liée à une perte d'adhésion au niveau de la paroi des conduits. En réalité, la première hypothèse (nucléation homogène) est improbable et généralement écartée puisque la rupture spontanée des forces cohésives entre les molécules d'eau n'intervient qu'à des valeurs de tensions très fortes (< -50 MPa) (Briggs 1950 ; voir aussi Cochard 2006), c'est-à-dire à des tensions bien au dessus des valeurs extrêmes de tensions enregistrées chez les plantes.

L'hypothèse du germe d'air¹, largement acceptée par la communauté scientifique et qui prévaut aujourd'hui comme le mécanisme le plus probable, s'inscrit dans la deuxième catégorie (nucléation hétérogène). Cette hypothèse, proposée par Zimmermann (1983), suggère que la rupture de la colonne d'eau serait causée par l'entrée d'une bulle d'air au travers d'un pore (de l'ordre de quelques dizaines à quelques centaines de nm) de la paroi primaire des ponctuations. Le mécanisme s'apparente à la rupture capillaire d'un ménisque air/eau situé à l'interface entre deux conduits, l'un déjà embolisé pour une raison quelconque et à pression atmosphérique (P_{atm}), l'autre fonctionnel rempli de sève à pression xylémienne (P_{xyl}) (**Fig. S3**). En d'autres termes, les forces capillaires s'exerçant au niveau du ménisque air/eau empêcheront l'aspiration de la bulle d'air jusqu'à ce que la différence de pression entre les deux conduits (ΔP_{crit} , MPa) ne devienne supérieure. Ceci peut être formalisé au travers de l'équation capillaire suivante (Sperry & Tyree 1988 ; Tyree & Sperry 1989) :

$$\Delta P_{\text{crit}} = P_{\text{atm}} - P_{\text{xyl}} = (4\tau \cos\alpha) / d \quad (10)$$

où τ représente la tension superficielle de l'eau (N m^{-1}), d représente le diamètre du pore (m), et α l'angle de contact entre l'eau et la paroi. L'angle de contact est généralement considéré comme nul ($\cos\alpha = 1$), la paroi étant recouverte de composés hydrophiles de type polysaccharides pectiques (Choat, Cobb & Jansen 2008). En considérant alors que P_{atm} et τ sont constants, il apparaît à partir de l'équation (10) que la tension xylémienne (P_{xyl}) entraînant la rupture capillaire est entièrement dépendante de la taille du pore : plus le diamètre du pore sera important, plus la tension xylémienne nécessaire à l'aspiration de la bulle d'air sera faible, et plus les risques d'embolie seront élevés. C'est donc au niveau de l'ultrastructure des parois primaires des ponctuations que l'on doit rechercher les déterminants de l'embolie estivale. Ceci explique également pourquoi la vulnérabilité d'un

¹ « air-seeding » en anglais

conduit à l'embolie estivale n'est pas directement liée au diamètre de son lumen, contrairement à une idée préconçue.

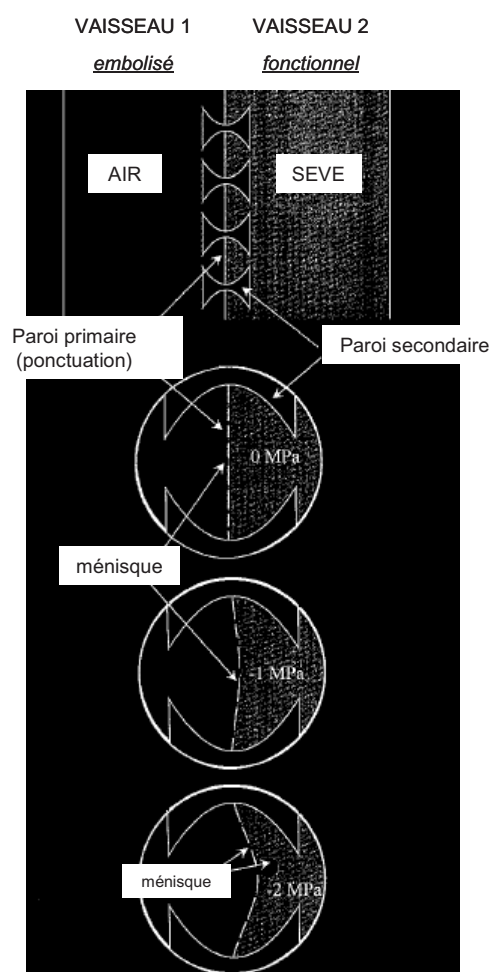


Fig. S3 Représentation schématique du mécanisme du « germe d'air » conduisant à l'embolie estivale chez les angiospermes. Le schéma offre un aperçu simplifié de la structure des ponctuations dans les zones de contact vaisseaux – vaisseaux. Le mécanisme met en jeu deux vaisseaux adjacents: l'un fonctionnel saturé de sève brute, l'autre non fonctionnel saturé d'air à pression atmosphérique. Les forces capillaires générées au niveau des ménisques air-eau dans les pores de la paroi primaire des ponctuations préviennent l'aspiration d'une bulle d'air jusqu'à ce que la différence de pression entre les deux vaisseaux ne devienne supérieure (voir le texte pour plus de détails). Modifié d'après Tyree & Zimmermann (2002).

Bon nombre de preuves expérimentales sont venues assoir l'hypothèse du germe d'air au cours des 20 dernières années (Sperry & Tyree 1988 ; Tyree & Sperry 1989 ; Sperry, Perry & Sullivan 1991 ; Cochard, Cruiziat & Tyree 1992 ; Jarbeau, Ewers & Davis 1995 ; Pockman, Sperry & O'Leary 1995 ; Sperry *et al.* 1996). On aurait pu également s'attendre à ce que le développement des méthodes de microscopie électronique à balayage lève définitivement le voile quant à la correspondance entre le diamètre des pores observés au niveau des ponctuations et les valeurs déduites de l'équation capillaire. Néanmoins, les études qui se sont pour l'instant penchées sur ce problème ont donné des résultats conflictuels, qui

peuvent s'expliquer du fait que les observations en microscopie sont effectuées sur du matériel déshydraté offrant une vue biaisée et statique de la porosité réelle des ponctuations (Choat *et al.* 2003, 2004, 2006).

On notera que le mécanisme du germe d'air décrit ci-dessus ne concerne que les Angiospermes. En effet, les ponctuations aréolées des Gymnospermes sont très distinctes de celles des Angiospermes, et présentent un épaississement pariétal central caractéristique (le torus) entouré d'une marge très lâche constitué de l'enchevêtrement de microfibrilles de cellulose. Les expériences ont montré que le torus jouait le rôle de valve de sécurité en venant se plaquer contre l'ouverture de la chambre de la ponctuation bien avant qu'il n'y ait rupture capillaire dans la marge (Domec *et al.* 2006). Le mécanisme de cavitation chez les Gymnospermes n'est donc toujours que partiellement compris, bien que des expériences récentes suggèrent qu'il s'agit quand même d'une rupture capillaire dont l'origine exacte reste à identifier (Cochard *et al.* 2009).

2.2. Mesurer et quantifier l'embolie estivale : courbes de vulnérabilité à la cavitation et paramètres descriptifs associés

Un certain nombre de techniques permettent de mettre en évidence l'embolie : détection acoustique dans les fréquences du domaine de l'audible (Milburn 1966), détection acoustique dans le domaine ultrasonique (Tyree & Dixon 1983), microscopie électronique à balayage couplée à la cryogénie (cryo-SEM, Cochard *et al.* 2000). Néanmoins, ces techniques ne permettent pas une quantification précise du phénomène.

La technique de référence permettant de quantifier le taux d'embolie est la méthode dite « hydraulique ». Elle a été introduite par Sperry, Donnelly & Tyree (1988) et est basée sur un constat : l'embolie entraîne une perte de fonctionnalité des conduits et donc une diminution de la conductance hydraulique. Le principe consiste donc à mesurer la conductance hydraulique initiale (k_i) d'un segment de xylème et de la comparer à la conductance après complète re-saturation du segment ($k_{\max}$). Le taux d'embolie est alors calculé comme le pourcentage de perte de conductance (PLC, Percent Loss of Conductance) de la façon suivante :

$$\text{PLC} = (1 - k_i/k_{\max}) \times 100 \quad (11)$$

La vulnérabilité du xylème à la cavitation est une caractéristique intrinsèque, non modulable à court terme. Il en découle que chaque espèce, chaque individu ou chaque organe peut être caractérisé par sa vulnérabilité à la cavitation. La vulnérabilité à la cavitation est estimée au travers de courbes de vulnérabilité à la cavitation représentant le PLC (%) en fonction des valeurs de tensions xylémiennes (MPa) (**Fig. S4**). Afin de construire une courbe, les valeurs de PLC doivent donc être mesurées pour chaque valeur de tension xylémienne. Différentes techniques existent, la plus connue étant la technique de déshydratation qui consiste à laisser déshydrater des segments de xylème (autant de segments que de points sur la courbe) à différentes valeurs de tensions xylémiennes et ensuite à mesurer le PLC (Sperry, Donnelly & Tyree 1988). Cette technique présente toutefois deux inconvénients. Le premier est qu'elle nécessite un grand nombre d'échantillons et qu'elle est très coûteuse en temps. Le deuxième est que les mesures de conductance hydraulique nécessaires au calcul de PLC sont effectuées à des pressions hydrostatiques légèrement positives, et non pas négatives comme celles présentes *in planta*.

Ces verrous méthodologiques ont été récemment levés par la conception d'une nouvelle technique à l'UMR PIAF de Clermont-Ferrand : le « Cavitron » (Cochard 2002a). Elle est adaptée de celle d'Alder *et al.* (1997) et repose sur l'utilisation de la force centrifuge pour générer des pressions hydrostatiques négatives au sein de l'échantillon. Les segments de tige de longueur et de diamètre calibrés (28 cm de long ; 5 à 8 mm de diamètre) sont disposés sur un rotor dont la vitesse de rotation peut être contrôlée en temps réel. La tension au sein de l'échantillon peut alors être ajustée de façon précise (± 0.01 MPa) en ajustant la vitesse de rotation du rotor, et la conductance hydraulique de l'échantillon ainsi que le PLC sont ensuite mesurées en temps réel. Par conséquent, à l'aide de ce système, une courbe de vulnérabilité à la cavitation peut être établie à l'aide d'un seul échantillon en 30-45 min. A noter toutefois que cette technique ne peut être utilisée sur des espèces possédant un grand nombre de conduits plus longs que les 28 cm de l'échantillon, au risque d'obtenir des courbes de vulnérabilité à la cavitation biaisées car représentatives seulement d'une sous-population de conduits ; c'est notamment le cas pour les espèces présentant un bois à zone poreuse comme les chênes (*Quercus* sp.) et les frênes (*Fraxinus* sp.) (Cochard *et al.* 2005).

Une courbe de vulnérabilité à la cavitation comporte typiquement 3 phases distinctes (**Fig. S4**). Au cours de la phase 1, l'augmentation de la tension xylémienne ne provoque aucune variation détectable de PLC jusqu'à une valeur seuil critique. Au cours de la phase 2,

l'augmentation de la tension xylémienne entraîne une augmentation importante et brutale de PLC jusqu'à 100%. La phase 3 correspond à la zone de rupture hydraulique totale.

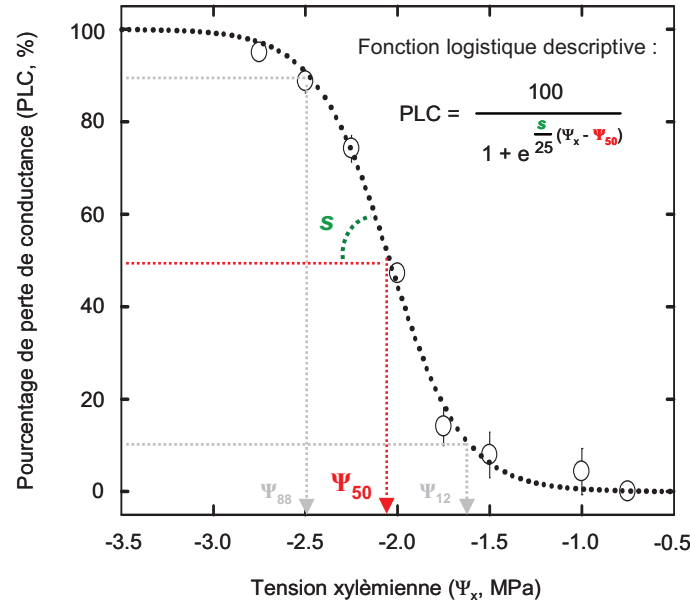


Fig. S4 Courbe type de vulnérabilité à l'embolie estivale (*Populus* sp.) et paramètres descriptifs associés. Les données de PLC en fonction des valeurs de tension xylémienne sont ajustées à l'aide d'une fonction logistique à deux paramètres. Le premier paramètre (Ψ_{50} , MPa) représente la valeur de tension xylémienne causant 50% de perte de conductance hydraulique et est utilisé comme indicateur du niveau de vulnérabilité. Le deuxième paramètre (s , PLC MPa⁻¹) représente la pente au point d'inflexion et est indicateur de la gamme de tension dans laquelle l'embolie se développe. Outre ces deux paramètres, d'autres paramètres descriptifs peuvent être déduits des courbes de vulnérabilité : la valeur de tension xylémienne au point d'entrée (Ψ_{12} , MPa) et la valeur de tension xylémienne au point de rupture (Ψ_{88} , MPa).

Les courbes de vulnérabilité sont généralement très bien décrites par des fonctions logistiques. Le modèle le plus souvent utilisé et qui a été retenu dans cette thèse est celui de Pammenter & Vander Willigen (1998) à deux paramètres:

$$PLC = 100 / [1 + \exp(s/25 \times (\Psi_{xyl} - \Psi_{50}))] \quad (12)$$

où Ψ_{xyl} (MPa) représente la tension xylémienne, Ψ_{50} (MPa) représente la valeur de Ψ_{xyl} entraînant 50% de PLC, et s (PLC MPa⁻¹) représente la pente de la courbe de vulnérabilité à la cavitation. La valeur de s est indicatrice de l'amplitude de la gamme de Ψ_{xyl} dans laquelle les événements de cavitation se produisent. De son côté, Ψ_{50} est de loin le paramètre le plus utilisé dans la littérature pour caractériser le niveau de vulnérabilité à la cavitation (*e.g.* Maherali, Pockman & Jackson 2004) ; néanmoins, bien qu'il ait le mérite d'être un indicateur

robuste et comparable, Ψ_{50} ne possède aucune signification physiologique réelle. Afin de pallier à ce problème, d'autres paramètres ayant une signification physiologique plus avérée sont également déduits des courbes de vulnérabilité à la cavitation (**Fig. S4**). Le Ψ_{12} (la valeur de Ψ_{xyl} entraînant 12% de PLC) est généralement considéré comme le point d'entrée et possède une réelle signification physiologique dans un contexte de régulation stomatique des tensions xylémiennes, alors que le Ψ_{88} (la valeur de Ψ_{xyl} entraînant 88% de PLC) est généralement considéré comme le point de non retour correspondant à la rupture hydraulique du système (Domec & Gartner 2001 ; Meinzer *et al.* 2009).

2.3. Variabilité de la vulnérabilité à l'embolie estivale

Les travaux issus de la littérature montrent que la vulnérabilité à l'embolie estivale varie de façon importante, et ce à différents niveaux d'analyses : entre espèces (variabilité inter-spécifique), entre génotypes d'une même espèce (variabilité intra-spécifique) et même au sein d'un même individu (variabilité entre organes et plasticité phénotypique).

2.3.1. Variabilité inter-spécifique

Un grand nombre de courbes de vulnérabilité à l'embolie estivale sont aujourd'hui publiées. Les différences entre espèces constituent de loin la source de variabilité la plus grande (voir Maherali, Pockman & Jackson 2004). Parmi les espèces ligneuses les plus vulnérables, on compte les peupliers (*e.g.* Cochard, Ridolfi & Dreyer 1996 ; Harvey & Van Den Driessche 1997, 1999 ; Rood *et al.* 2000 ; Hukin *et al.* 2005 ; Cochard, Mencuccini & Casella 2007b) et les saules (Cochard, Cruiziat & Tyree 1992 ; Wikberg & Ögren 2004 ; Cochard, Mencuccini & Casella 2007b) avec des valeurs de Ψ_{50} généralement comprises entre -1 et -3 MPa. A l'autre extrémité, des valeurs de Ψ_{50} inférieures à -10 MPa ont été rapportées pour certaines espèces de *Juniperus* (Pockman & Sperry 2000).

La caractérisation d'un grand nombre d'espèces provenant d'habitats très contrastés a permis de mettre en évidence que les espèces xérophiles possédaient des valeurs de Ψ_{50} plus faibles que les espèces mésophiles (*e.g.* Kolb & Sperry 1999 ; Hacke, Sperry & Pittermann 2000 ; Pockman & Sperry 2000 ; Maherali, Pockman & Jackson 2004). Autrement dit, les seuils de vulnérabilité à la cavitation correspondent assez bien avec la notion empirique de tolérance à la sécheresse au niveau inter-spécifique. Il est donc fort probable que la vulnérabilité à la cavitation soit un trait soumis à sélection compte tenu de son importance fonctionnelle pour le maintien d'une balance hydrique favorable.

2.3.2. Variabilité intra-spécifique

Cet aspect est beaucoup moins documenté que la variabilité inter-spécifique. Les raisons dérivent probablement du fait que les méthodologies qui étaient auparavant utilisées ne permettaient pas de mettre en évidence de façon systématique de très faibles différences de Ψ_{50} . Une des premières études centrée sur la variation intra-spécifique fut celle de Neufeld *et al.* (1992) qui démontra des différences de Ψ_{50} (-0.83 à -1.36 MPa) entre 4 génotypes de canne à sucre (*Saccharum sp.*) sur des segments de feuille. D'autres études similaires sur l'eucalyptus (Vander Willigen & Pammenter 1998 ; Pita, Gascó & Pardos 2003), l'hévéa (Sangsing *et al.* 2004a, 2004b), l'olivier (Ennajeh *et al.* 2008), le saule (Wikberg & Ögren 2004), ou encore le peuplier (Harvey & Van Den Driessche 1997) sont par la suite venues documenter la variation entre génotypes pour ces espèces d'intérêt agronomique. Certains travaux se sont également attachés à caractériser la variation existante entre populations ou provenances géographiques d'un même taxon, comme par exemple pour une espèce d'érable proche de l'érable à sucre (*Acer grandidentatum*, Alder, Sperry & Pockman 1996), l'ambrosie (*Ambrosia dumosa*, Mencuccini & Comstock 1997), le peuplier baumier de l'Ouest (*Populus trichocarpa*, Sparks & Black 1999), le pin ponderosa (*Pinus ponderosa*, Maherali & De Lucia 2000), une essence néo-tropicale de la famille des *Borraginaceae* (*Cordia alliodora*, Choat, Sack & Holbrook 2007), le cèdre du Liban (*Cedrus libani*, Ducrey *et al.* 2008) ou encore le pin sylvestre (*Pinus sylvestris*, Martínez-Vilalta *et al.* 2009). Néanmoins, parmi ces études, seules celles de Mencuccini & Comstock (1997), Sparks & Black (1999) et Ducrey *et al.* (2008) ont été réalisées dans des conditions environnementales identiques permettant de distinguer réellement variabilité génétique et plasticité phénotypique.

De façon générale, la gamme de variabilité généralement observée pour la vulnérabilité à la cavitation à l'échelle intra-spécifique est en toute logique inférieure à celle trouvée au niveau inter-spécifique (typiquement entre 1 et 2 MPa). Même si les données au niveau intra-spécifique sont moins nombreuses que celles au niveau inter-spécifique, il est très probable que ce genre d'étude va prendre de l'importance dans le futur. Les études intra-spécifiques offrent de réelles opportunités afin de répondre à certaines questions essentielles : quelle est la part de variabilité intra-population et inter-population ? La vulnérabilité à la cavitation est-elle un trait adaptatif ? Quel contrôle génétique de la vulnérabilité à la cavitation ? Peut-on envisager d'utiliser la vulnérabilité à la cavitation comme un critère de tolérance à la sécheresse pour des génotypes au sein d'espèces d'intérêt agronomique ? Les relations couramment observées au niveau inter-spécifique entre la vulnérabilité à la

cavitation et d'autres traits d'importance physiologique sont-elles applicables au niveau intra-spécifique ?

2.3.3. Variabilité entre organes

La vulnérabilité à la cavitation peut également varier au sein d'un même individu en fonction des organes considérés : pétiole, tige ou racine. L'idée que les pétioles seraient plus vulnérables que la tige a d'abord été énoncée par Zimmermann (1983) et fait référence à l'hypothèse de segmentation hydraulique. Les feuilles correspondant aux zones où les tensions xylémiennes sont les plus fortes dans la plante, ce sont elles qui souffriront des premiers événements de cavitation lorsque la tension seuil sera atteinte, par exemple lors d'une sécheresse. La conséquence directe est la chute des feuilles en question, la limitation du taux de transpiration et donc la limitation des tensions dans la tige. Sous cette hypothèse, les parties non pérennes (les feuilles) sont donc sacrifiées au profit des parties pérennes représentant l'investissement carboné le plus important (la tige). Une étude sur noyer a clairement confirmé cette hypothèse avec des différences d'environ 1 MPa (Tyree *et al.* 1993a). Au contraire, d'autres études sur peuplier ne l'ont pas confirmée (Cochard, Ridolfi & Dreyer 1996 ; Hacke & Sauter 1996) : dans le premier cas, aucune différence n'avait pu être détectée alors que dans le second cas, les pétioles étaient plus résistants. Par ailleurs, un grand nombre de courbes de vulnérabilité ont également été construites sur des racines et montrent que ces dernières sont en général plus vulnérables que la tige (Sperry & Saliendra 1994 ; Alder, Sperry & Pockman 1996 ; Hacke & Sauter 1996 ; Alder *et al.* 1997 ; Kavanagh *et al.* 1999 ; Martínez-Vilalta *et al.* 2002 ; McElrone *et al.* 2004 ; Maherali *et al.* 2006 ; Pratt *et al.* 2007a, 2007b) : ceci est en accord avec le fait que les racines correspondent aux zones à moindre risque, là où les tensions xylémiennes sont les plus faibles.

2.3.4. Plasticité phénotypique

Le dernier niveau de variabilité à considérer est la plasticité phénotypique. Comme dit précédemment, la vulnérabilité à la cavitation est une caractéristique intrinsèque du tissu conducteur, entièrement dépendante de l'ultrastructure des ponctuations. Il en résulte que comme pour tout trait structural, une modification des conditions environnementales prévalentes entraîne un ajustement de la vulnérabilité à l'embolie estivale. L'effet de la lumière est probablement l'effet le mieux documenté. Par exemple, chez le hêtre, les expériences ont montré que (i) les branches d'arbres adultes développées dans la canopée en

condition de lumière incidente limitée, ainsi que (ii) des plants de deux ans acclimatés à 12% de lumière incidente montraient une vulnérabilité à la cavitation accrue (Cochard, Lemoine & Dreyer 1999 ; Lemoine, Jacquemin & Granier 2002). Des résultats similaires ont été rapportés pour un plus large panel d'espèces d'arbres de nos régions tempérées (Barigah *et al.* 2006). La généralisation de telles observations peut s'expliquer du fait que des valeurs d'irradiance plus fortes s'accompagnent généralement d'une demande évaporative plus forte, et donc de tensions plus fortes au sein du xylème ; la mise en place d'un xylème moins vulnérable est donc nécessaire afin de pallier les risques éventuels d'embolie. Il existe par ailleurs d'autres facteurs environnementaux pouvant influencer sur le niveau de vulnérabilité à la cavitation, notamment la fertilisation à l'azote (Harvey & Van Den Driessche 1997, 1999; Ewers, Oren & Sperry 2000), la texture du sol (Holste, Jerke & Matzner 2006), ou encore la sécheresse (Holste, Jerke & Matzner 2006; Beikircher & Mayr 2009). Toutefois, il est très surprenant de noter que cette dernière catégorie est très peu documentée.

L'ensemble de ces résultats soulève une question : comment la vulnérabilité à la cavitation est-elle modulée ? Cette dernière étant totalement dépendante de la taille des pores au niveau de la paroi primaire des ponctuations, le(s) mécanisme(s) d'acclimatation est à rechercher au niveau des facteurs contrôlant la mise en place de cette paroi et la formation des ponctuations. Aucune étude n'a toutefois été publiée à ce jour ni sur l'acclimatation possible de l'ultrastructure des ponctuations, ni sur les bases physiologiques et moléculaires de cette acclimatation.

2.4. Les coûts associés à la « résistance » à l'embolie estivale

La caractérisation de la vulnérabilité à l'embolie estivale pour des espèces vivant dans des milieux très contrastés en termes de disponibilité en eau indique que les marges de sécurité (*i.e.* la différence entre le seuil de cavitation et le potentiel hydrique minimum subi au cours de la saison de végétation) tendent à être faibles (quelques dixièmes de MPa) et relativement conservées entre espèces (Hacke, Sperry & Pittermann 2000 ; Pockman & Sperry 2000 ; Pratt *et al.* 2007a ; Jacobsen *et al.* 2007a ; Jacobsen *et al.* 2009). Autrement dit, la vulnérabilité à l'embolie estivale est un trait probablement soumis à sélection. On peut donc supposer que la mise en place d'un xylème « plus sûr » a un coût ; si ce n'était pas le cas, toutes les espèces possèderaient une faible vulnérabilité à l'embolie estivale, quelque soit l'environnement considéré. On notera que sur le plan cognitif, le coût de construction se doit d'être associé à la notion de « résistance » ; les deux termes, vulnérabilité et résistance, seront donc utilisés dans

la suite du manuscrit en fonction contexte. Deux principaux coûts associés à la résistance à l'embolie estivale ont été proposés ; ils sont évoqués ci-dessous.

2.4.1. Résistance à l'embolie estivale et efficacité hydraulique

Une plus forte résistance à la cavitation a pendant longtemps été supposée être balancé par une plus faible efficacité hydraulique du xylème (Zimmermann 1983). Un tel compromis expliquerait à la fois la faible capacité de croissance et la forte tolérance à la sécheresse des espèces vivant en milieu xérique. Aux niveaux cellulaire et tissulaire, certaines études sont venues en partie étayer cette affirmation, les espèces résistantes possédant une plus faible conductivité spécifique du xylème ou des vaisseaux de plus faible diamètre (Tyree, Davis & Cochard 1994 ; Pockman & Sperry 2000 ; Martínez-Vilalta *et al.* 2002 ; Choat *et al.* 2003 ; Maherali, Pockman & Jackson 2004 ; Maherali *et al.* 2006 ; Sperry, Hacke & Pittermann 2006 ; Hacke, Jacobsen & Pratt 2009). Toutefois, les coefficients de corrélation sont en règle générale assez faibles et les relations souffrent d'un bruit de fond important. D'autres études n'ont, quant-à-elles, pas été en mesure de mettre en évidence une telle relation (Hacke & Sperry 2001 ; Jacobsen *et al.* 2005 ; Pratt *et al.* 2007a). L'ensemble de ces résultats suggère donc que le compromis est fortement dépendant des espèces et des communautés végétales considérées. En réalité, la vulnérabilité à l'embolie estivale étant entièrement dépendante des propriétés structurales des ponctuations, une relation avec la taille des conduits ne peut être qu'indirecte. Lorsqu'elle est observée, la relation négative entre résistance à la cavitation et efficacité hydraulique du xylème est en fait expliquée par l'hypothèse du « germe rare¹ » (Choat *et al.* 2003, 2004 ; Wheeler *et al.* 2005 ; Hacke *et al.* 2006 ; Christman, Sperry & Adler 2009 ; Hacke, Jacobsen & Pratt 2009). Cette hypothèse permet de relier les propriétés structurales et fonctionnelles des ponctuations à l'efficacité hydraulique du segment de xylème entier : elle est basée sur le fait que le seuil critique de cavitation dépend de la présence de pores de grande taille très rares au sein de la membrane des ponctuations, et non pas de la porosité moyenne des ponctuations (Sperry & Hacke 2004 ; Wheeler *et al.* 2005). Les espèces ayant un xylème plus efficace sont caractérisées par des vaisseaux de plus grande taille possédant une plus grande surface allouée aux ponctuations, en absolu ; d'un point de vue stochastique, ceci s'accompagne d'un risque plus élevé d'avoir un pore de grande taille (Wheeler *et al.* 2005). Ces « pores rares » résulteraient d'« erreurs » de conception lors du

¹ « the pit area hypothesis » récemment reformulée « the rare pit hypothesis »

dépôt de la paroi primaire et de la mise en place des ponctuations (Christman, Sperry & Adler 2009).

Les relations variables observées au niveau tissulaire entre vulnérabilité à l'embolie estivale et efficacité hydraulique expliquent en partie les relations variables observées au niveau plante entière (Bucci *et al.* 2006 ; Pratt *et al.* 2010). Par ailleurs, à une telle échelle, l'analyse de la relation entre vulnérabilité à l'embolie estivale et efficacité hydraulique est fortement compliquée par l'architecture spatiale du réseau xylémien (West, Brown & Enquist 1999 ; McCulloh, Sperry & Adler 2003 ; Loepfe *et al.* 2007 ; Choat, Cobb & Jansen 2008 ; Sperry, Meinzer & McCulloh 2008 ; McCulloh *et al.* 2010).

2.4.2. Résistance à l'embolie estivale et propriétés mécaniques du xylème

En plus du risque d'embolie, les fortes tensions xylémiennes génèrent un risque de collapsus pariétal (implosion) des éléments conducteurs (Hacke *et al.* 2001). De façon approximative, la résistance au collapsus pariétal est proportionnelle au rapport entre l'épaisseur de la paroi du conduit et le diamètre de son lumen¹ (Hacke *et al.* 2001) : plus l'épaisseur relative de la paroi est grande, plus la résistance à l'implosion est forte. Bien que l'embolie estivale et le collapsus pariétal n'aient aucun lien direct, Hacke *et al.* 2001 ont démontré au travers d'un panel de 48 espèces ligneuses que les espèces les plus résistantes à la cavitation, et donc celles qui fonctionnaient à des tensions plus fortes, présentaient une résistance au collapsus pariétal plus élevée. Cette co-variation entre les deux paramètres a par la suite été confirmée par d'autres études inter-spécifiques (Jacobsen *et al.* 2005; Jacobsen *et al.* 2007a; Pratt *et al.* 2007a; Jacobsen *et al.* 2009). La conséquence directe de cette relation se traduit au niveau tissulaire et organe par une relation positive entre la résistance à l'embolie estivale et les propriétés mécaniques du xylème estimée par la densité du bois ou les modules de rupture et d'élasticité (Jacobsen *et al.* 2005; Jacobsen *et al.* 2007a; Pratt *et al.* 2007a; Jacobsen *et al.* 2009). Une plus forte densité du xylème nécessitant un investissement carboné plus important pour la plante (Enquist *et al.* 1999 ; Chave *et al.* 2009), ces études inter-spécifiques suggèrent donc que la mise en place d'un xylème plus sûr est associée à un fort coût de construction.

¹ « *thickness-to-span ratio* » en anglais

3. COORDINATION ENTRE L'ARCHITECTURE HYDRAULIQUE ET LES RELATIONS HYDRIQUES ET CARBONEES DE L'ARBRE

Au niveau foliaire, la vapeur d'eau diffuse selon un gradient de pression partielle entre les sites évaporants du mésophylle dans les cavités sous-stomatiques et l'air ambiant environnant la feuille. En appliquant la relation (3), le taux de transpiration par unité de surface foliaire (E , $\text{mmol s}^{-1} \text{m}^{-2}$) peut alors être décrit de la façon suivante :

$$E = g_t \times \text{VPD} \quad (13)$$

où g_t représente la conductance totale foliaire à la vapeur d'eau ($\text{mmol s}^{-1} \text{m}^{-2}$), et VPD représente le déficit de pression de vapeur d'eau dans l'air (la différence de pression partielle de vapeur d'eau entre les sites évaporants et l'air ambiant). La conductance foliaire totale à la vapeur d'eau (g_t) dépend typiquement de trois composantes (Nobel 1999) : (i) la conductance stomatique (g_s) qui est variable en fonction du degré d'ouverture des stomates, (ii) la conductance de la couche limite (g_Ω) qui est variable en fonction des paramètres contrôlant la turbulence de l'écoulement gazeux à la surface de la feuille, et (iii) la conductance cuticulaire (g_c). La transpiration cuticulaire étant négligeable comparée à la transpiration au travers des stomates, g_c est généralement négligée. Par ailleurs, dans le cas des couverts rugueux couplés à l'atmosphère, la résistance de la couche limite devient négligeable devant celle opposée par les stomates ; le taux de transpiration foliaire est alors entièrement contrôlé par la conductance stomatique et la relation (13) devient :

$$E = g_s \times \text{VPD} \quad (14)$$

En condition hydrique non limitante, les pertes en eau par transpiration au niveau foliaire doivent être impérativement compensées par l'absorption afin d'éviter un dessèchement létal des feuilles et de la plante. Le flux en phase liquide équivaut alors à celui en phase vapeur ; on parle dans ce cas de flux stationnaire. Le couplage entre la phase liquide et la phase vapeur peut alors être explicité au niveau plante entière à l'aide de l'analogie avec la loi d'Ohm :

$$E = g_s \times \text{VPD} = k_{\text{plante}} \times (\Delta\Psi_{\text{S-F}}) \quad (15)$$

où k_{plante} représente la conductance hydraulique spécifique foliaire de la plante entière ($\text{mmol s}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ MPa}^{-1}$), et $\Delta\Psi_{\text{S-F}}$ représente la différence de potentiel hydrique entre le sol et les feuilles ($\Psi_{\text{S}} - \Psi_{\text{F}}$, MPa). A noter que pour des raisons d'homogénéité dans les unités avec E , k_{plante} est ici exprimé en $\text{mmol s}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ MPa}^{-1}$; les unités peuvent toutefois être facilement interchangées en $\text{kg s}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ MPa}^{-1}$. A noter également que l'équation (15) n'est applicable qu'en condition de flux stationnaire ; elle n'intègre par conséquent pas les possibles effets capacitifs des différents organes de la plante (Tyree & Ewers 1991 ; Meinzer 2002). De plus, l'équation (15) masque un certain nombre de complications possibles, notamment la non-indépendance de certains paramètres lorsque l'on raisonne d'un point de vue dynamique et non plus statique : g_s répond activement aux variations de VPD (Oren *et al.* 1999), et k_{plante} devient fonction de $\Delta\Psi_{\text{S-L}}$ lorsque le seuil critique de cavitation est franchi en condition hydrique limitante (Sperry 2000 ; Sperry *et al.* 2002).

Malgré ces limites, l'analogie d'Ohmique appliquée en conditions de flux stationnaire reste très utile et fournit une base théorique à l'analyse du couplage entre les caractéristiques des transferts d'eau en phase liquide et la régulation des relations hydriques au niveau foliaire. Ainsi, le lien positif entre efficacité hydraulique et g_s a été plusieurs fois démontré, et ce à différents niveaux d'analyse. Au niveau individuel, des manipulations expérimentales conduisant à une diminution de k_{plante} par sectionnement des racines (Meinzer & Grantz 1991), par incision du xylème de la tige (Sperry, Alder & Eastlack 1993 ; Cernusak & Marshall 2001), par induction d'embolie par pressurisation (Sperry & Pockman 1993 ; Hubbard *et al.* 2001), ou par défoliation (Pataki, Oren & Phillips 1998) entraînent une diminution de g_s . Toujours au niveau individuel, les variations ontogéniques de k_{plant} s'accompagnent de variations de g_s (Meinzer & Grantz 1990 ; Mencuccini & Grace 1996). Enfin, au niveau inter-spécifique, de plus fortes valeurs de conductivité spécifique foliaire du xylème sont étroitement associées à de plus fortes valeurs de g_s (Santiago *et al.* 2004 ; Zhang & Cao 2009).

La coordination étroite entre les capacités hydrauliques et le fonctionnement stomatique a des conséquences directes sur les relations carbonées de l'arbre, du fait de la particularité des stomates à réguler à la fois les flux sortant de vapeur d'eau mais aussi les flux entrant de CO_2 . Par conséquent bon nombre d'études ont également démontré qu'une plus forte efficacité hydraulique au niveau plante entière (Meinzer & Grantz 1990), au niveau tige (Brodribb & Feild 2000 ; Hubbard *et al.* 2001 ; Brodribb, Holbrook & Gutiérrez 2002 ; Campanello, Gatti & Goldstein 2008) ou au niveau feuille (Brodribb *et al.* 2005 ; Brodribb,

Feild & Jordan 2007 ; Brodribb & Feild 2010) était associée à de plus fortes capacités photosynthétiques, aussi bien au niveau inter-spécifique qu'au niveau individuel. La comparaison d'espèces pionnières à croissance rapide à d'autres espèces à croissance plus lente indique également que les espèces pionnières présentent généralement une plus forte efficacité hydraulique (Tyree, Velez & Dalling 1998 ; Sobrado 2003 ; Pratt *et al.* 2010). D'autres études, plus ciblées, ont également montré qu'une plus forte conductivité spécifique foliaire du xylème était associée à une production de biomasse ou des taux de croissance plus importants, aussi bien au niveau inter-spécifique (Campanello *et al.* 2008) qu'au niveau intra-spécifique (Vander Willigen & Pammenter 1998 ; Ducrey *et al.* 2008).

La coordination entre l'architecture hydraulique et d'autres traits foliaires plus intégrateurs comme l'efficacité d'utilisation de l'eau (WUE) est en revanche moins claire. L'efficacité d'utilisation de l'eau représente le compromis entre la maximisation des gains associés la fixation du carbone et la minimisation des pertes en eau associées à la transpiration. La comparaison systématique d'espèces présentant de fortes différences inhérentes de WUE (métabolisme photosynthétique en C₃ *versus* C₄), a permis de démontrer que les espèces C₄ qui présentent une plus forte WUE présentent une plus faible conductivité spécifique foliaire (Kocacinar & Sage 2003, 2004 ; Kocacinar *et al.* 2008). Cette plus faible efficacité hydraulique en terme de surface foliaire alimentée s'explique par deux stratégies possibles : (i) la mise en place d'un xylème plus sûr, moins efficace en terme de conduction, pour une surface foliaire donnée, ou (ii) la mise en place d'une surface foliaire transpirante plus grande pour une même capacité de conduction (Kocacinar & Sage 2003, 2004 ; Kocacinar *et al.* 2008). Lorsque la comparaison est réduite aux plantes en C₃, les relations observées entre efficacité hydraulique et WUE sont toutefois plus variables : ainsi, des relations négatives (Sobrado 2000 ; Drake & Franks 2003 ; Sobrado 2003 ; Santiago *et al.* 2004), ou positives (Campanello *et al.* 2008) ont été observées. D'autres études n'ont pas pu mettre en évidence de lien (Preston & Ackerly 2003). Enfin, au niveau intra-spécifique, assez peu d'études ont été conduites à ce sujet et les résultats demeurent également variables (Panek 1996 ; Ducrey *et al.* 2008 ; Martínez-Vilalta *et al.* 2009).

Les paragraphes précédents ont essentiellement mis l'accent sur la coordination entre l'efficacité hydraulique en phase liquide et le fonctionnement foliaire. Néanmoins, en imposant une limite de fonctionnement, la vulnérabilité à la cavitation joue également un rôle important dans la régulation des relations hydriques et carbonées de l'arbre. Tout d'abord, d'un point de vue dynamique, il a été démontré chez plusieurs espèces l'existence d'un

contrôle stomatique de l'embolie (Cochard 2002b ; Cochard *et al.* 2002 ; Lemoine, Cochard & Granier 2002 ; Brodribb *et al.* 2003 ; Sangsing *et al.* 2004b) : en réponse à une augmentation progressive de $\Delta\Psi_{S-L}$ (sécheresse édaphique, augmentation de la demande évaporative...), les stomates se ferment. La diminution de g_s associée à la fermeture des stomates permet de limiter $\Delta\Psi_{S-L}$ en deçà du seuil de cavitation afin d'éviter l'« emballement de l'embolie » (Tyree & Sperry 1988 ; Sperry *et al.* 2002) mais s'accompagne d'une diminution des gains en carbone. Par ailleurs, en conditions de flux stationnaire, et ce même si l'équation (15) ne permet pas de le souligner directement, la vulnérabilité à l'embolie estivale peut être coordonnée de façon indirecte avec le fonctionnement foliaire, notamment s'il existe un compromis entre k_{plante} et la vulnérabilité à la cavitation (voir le paragraphe 2.4.1). Ainsi, dans une comparaison de 14 espèces d'arbres des régions tempérées, Maherali *et al.* (2006) ont démontré que les espèces les plus vulnérables à l'embolie étaient celles qui présentaient les plus fortes valeurs de conductance stomatique ainsi que les plus forts taux d'assimilation nette de CO_2 .

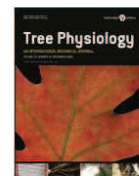
CHAPITRE 1

VARIABILITE STRUCTURALE DU XYLEME ET PLASTICITE EN REPONSE A LA SECHERESSE CHEZ *Populus deltoides* × *Populus nigra*

Variabilité structurale du xylème en conditions hydriques contrastées et relations avec les échanges de gaz, l'efficacité d'utilisation de l'eau et le potentiel de croissance chez les hybrides *Populus deltoides* × *Populus nigra*

REGIS FICHOT, FRANÇOISE LAURANS, ROMAIN MONCLUS, ALAIN MOREAU, GILLES PILATE & FRANCK BRIGNOLAS

Tree Physiology (2009) **29**: 1537-1549



1. PRESENTATION SYNTHETIQUE DE L'ARTICLE

• **Contexte.** Les plantes supérieures possèdent un système vasculaire (le xylème) chargé des transferts de sève brute en phase liquide. Les caractéristiques intrinsèques de ce système, qui dépendent majoritairement de son anatomie, conditionnent en partie les résistances au flux et peuvent potentiellement être indicatrices de certains aspects du fonctionnement hydrique et carboné.

• **Objectifs.** L'objectif général de cette étude était d'évaluer, dans des conditions d'irrigation contrastées, si les variations structurales du xylème au sein des hybrides *Populus deltoides* × *Populus nigra* pouvaient être reliées aux variations déjà observées en termes de caractères foliaires associés au fonctionnement hydrique et carboné ainsi qu'en termes de potentiel de croissance juvénile. Les objectifs spécifiques étaient de (i) caractériser la gamme de variations structurales, (ii) caractériser et quantifier l'effet d'une sécheresse modérée sur la structure du xylème, (iii) juger des liens entre la structure du xylème, les échanges de gaz et l'efficacité d'utilisation de l'eau, et (iv) juger des liens entre la structure du xylème et le potentiel de croissance.

• **Stratégie.** L'étude a porté sur six géotypes *Populus deltoides* × *P. nigra* contrastés pour leurs valeurs de discrimination isotopique vis-à-vis du ^{13}C (Monclus *et al.* 2005, 2006). Les propriétés anatomiques du xylème (nombre de fibres et de vaisseaux par unité de surface, taille des fibres et des vaisseaux) ont été caractérisées à l'aide de coupes transversales réalisées à partir d'échantillon de tiges âgées de un an et collectées à partir d'arbres plantés en pépinière en conditions hydriques optimales ou limitantes. Ces données ont été mises en relation avec divers caractères fonctionnels foliaires (assimilation nette de CO_2 , conductance stomatique, efficacité intrinsèque d'utilisation de l'eau, discrimination isotopique vis-à-vis du ^{13}C) ainsi qu'avec les caractères associés aux performances de croissance des six géotypes (hauteur et biomasses finales).

• **Résultats.** Nos résultats ont démontré d'importantes variations entre les six génotypes pour l'ensemble des caractères structuraux étudiés quelles que soient les conditions d'irrigation ; chaque génotype pouvait donc être caractérisé par une combinaison unique de caractères structuraux basiques. Nos résultats ont aussi démontré qu'une sécheresse prolongée et modérée ($\Delta\Psi_{pd}$ entre irrigués et non irrigués de l'ordre de 0.2 MPa) modifiait profondément la structure du xylème. Ainsi, les lumens des vaisseaux et des fibres étaient diminués (19 et 14% en moyenne, respectivement) alors le nombre de vaisseaux par unité de surface était sensiblement augmenté (39% en moyenne) ; l'ampleur des modifications structurales était toutefois largement génotype-dépendante, suggérant ainsi des sensibilités et des stratégies différentes entre génotypes. Des corrélations positives ont été observées entre d'une part les caractères structuraux des vaisseaux xylémiens associés à une plus forte efficacité du flux de sève brute (diamètre moyen, conductivité spécifique théorique du xylème), et d'autre part la conductance stomatique ou la discrimination isotopique vis-à-vis du ^{13}C ; à l'inverse, des corrélations négatives ont été observées avec l'efficacité intrinsèque d'utilisation de l'eau. Les corrélations étaient généralement plus fortes et plus robustes en condition hydrique limitante. Des corrélations positives ont également été observées entre d'une part le diamètre moyen des vaisseaux ou la conductivité spécifique théorique du xylème, et d'autre part les caractères associés au potentiel de croissance (hauteur finale de la tige et biomasse finale). Par ailleurs, les résultats suggèrent que les génotypes les plus plastiques d'un point de vue structural sont également ceux qui présentent la chute de production de biomasse la plus importante.

• **Conclusions.** Cette étude a permis la caractérisation de la structure du xylème chez six génotypes *Populus deltoides* × *P. nigra*. Les variations structurales observées pourraient sous-tendre des variations d'un point de vue fonctionnel. Les corrélations mises en évidence suggèrent que, comme suspecté, les caractéristiques structurales et fonctionnelles du xylème pourraient être indicatrices du fonctionnement hydrique et carboné chez ces hybrides. Par ailleurs, les profondes modifications structurales observées en réponse à la sécheresse suggèrent que la contrainte hydrique impacte à la fois les phases de différenciation et d'expansion cellulaires lors des étapes précoces de la xylogénèse ; par conséquent, la structure du xylème est plastique et possède un caractère intégrateur des conditions environnementales.

Tree Physiology 29, 1537–1549
doi:10.1093/treephys/tpp087

Xylem anatomy correlates with gas exchange, water-use efficiency and growth performance under contrasting water regimes: evidence from *Populus deltoides* × *Populus nigra* hybrids

RÉGIS FICHOT,^{1,2,3} FRANÇOISE LAURANS,³ ROMAIN MONCLUS,^{1,4,†}
ALAIN MOREAU,³ GILLES PILATE³ and FRANCK BRIGNOLAS^{1,2,5}

¹ Université d'Orléans, UFR-Faculté des Sciences, UPRES EA 1207 Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures (LBLGC), rue de Chartres, BP 6759, F-45067 Orléans, France

² INRA, USC2030 Arbres et Réponses aux Contraintes Hydrique et Environnementales (ARCHE), rue de Chartres, BP 6759, F-45067 Orléans, France

³ INRA, UR 588 Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, Equipe Xylème, Centre de Recherche d'Orléans, CS 40001 Ardon, F-45075 Orléans, Cedex 2, France

⁴ INRA, Nancy Université, UMR1137 INRA-UHP Ecologie et Ecophysiologie Forestières, IFR 110 Génomique, Ecophysiologie et Ecologie Fonctionnelle, INRA Nancy, F-54280 Champenoux, France

⁵ Corresponding author (franck.brignolas@univ-orleans.fr)

Received July 29, 2009; accepted September 11, 2009; published online October 13, 2009

Summary Six *Populus deltoides* Bartr. ex Marsh. × *P. nigra* L. genotypes were selected to investigate whether stem xylem anatomy correlated with gas exchange rates, water-use efficiency (WUE) and growth performance. Clonal copies of the genotypes were grown in a two-plot common garden test under contrasting water regimes, with one plot maintained irrigated and the other one subjected to moderate summer water deficit. The six genotypes displayed a large range of xylem anatomy, mean vessel and fibre diameter varying from about 40 to 60 µm and from 7.5 to 10.5 µm, respectively. Decreased water availability resulted in a reduced cell size and an important rise in vessel density, but the extent of xylem plasticity was both genotype and trait dependent. Vessel diameter and theoretical xylem-specific hydraulic conductivity correlated positively with stomatal conductance, carbon isotope discrimination and growth performance-related traits and negatively with intrinsic WUE, especially under water deficit conditions. Vessel diameter and vessel density measured under water deficit conditions correlated with the relative losses in biomass production in response to water deprivation; this resulted from the fact that a more plastic xylem structure was generally accompanied by a larger loss in biomass production.

Keywords: carbon isotope discrimination, *D* × *N* hybrids, genotypic variations, growth potential, intrinsic water-use efficiency, water deficit tolerance, xylem hydraulics.

Introduction

The pathway for water movement from the soil through the plant to the atmosphere can be represented by a series of liquid- and vapour-phase resistances. Ohm's law analogy applied to both the liquid- and vapour-phase water flow has been widely used as a simple approach to model long distance water transport in plants (Cowan 1972, Tyree and Ewers 1991). Maximum transpiration rates that can be sustained by plants under steady-state conditions (i.e., without accounting for internal capacitances) can therefore be basically described by the following equation:

$$g_s \times \text{VPD} = K_{S-L} \times \Delta\Psi_{S-L}, \quad (1)$$

where g_s is the stomatal conductance to water vapour expressed per leaf area, VPD is the vapour pressure difference between the leaf and the external air, K_{S-L} is the soil-to-leaf hydraulic conductance expressed per leaf area and $\Delta\Psi_{S-L}$ is the water potential difference between soil and leaf. At a constant VPD and Ψ_{soil} , it follows from Eq. (1) that the operating range of stomata is ultimately constrained by K_{S-L} , Ψ_{leaf} or both. As Ψ_{leaf} must not exceed cavitation thresholds (Sperry et al. 2002), the maximization of gas exchange rates must be achieved by increasing K_{S-L} .

Among all of the K_{S-L} components, the stem has been the most intensively studied part, because the physics of sap flow through the stem can simply be described considering the stem as a collection of pipes (the vessels in angiosperms). As the first approximation, water flow resistance in xylem conduits can be approximated by the

[†]In memoriam (September 2006).

Hagen–Poiseuille law (Tyree and Zimmermann 2002). Although the relationship between stem xylem hydraulics and gas exchange rates has been widely documented (see Meinzer 2002, Mencuccini 2003), the relationship with water-use efficiency (WUE, a composite and complex trait) has received much less attention. At the whole-plant level, WUE is defined as the ratio between biomass production and water consumption, and is therefore an effective index of the balance between photosynthetic carbon demands and water requirements. The WUE can be directly estimated at the leaf level through intrinsic WUE (WUE_i), i.e., the ratio of net CO_2 assimilation rate (A) to stomatal conductance to water vapour (g_s). Bulk leaf carbon isotope discrimination against ^{13}C (Δ) can also be used indirectly as a time-integrated surrogate of WUE_i , considering a linear and negative relationship between the two parameters in trees including poplars (Ripullone et al. 2004, Monclus et al. 2006). Given the key role of stomata in both regulating water movement through the plant and CO_2 diffusion, Panek (1996) provided a theoretical basis for a relationship between WUE and stem xylem hydraulics by combining the equations of von Caemmerer and Farquhar (1981) and Farquhar et al. (1982) with Eq. (1). This theoretical relationship was experimentally supported by the finding that Δ correlated strongly and positively with xylem-specific hydraulic conductivity and leaf-specific hydraulic conductivity (Panek 1996). Limited evidence in support of such a relationship has since become available owing to interspecific comparisons (Kocacinar and Sage 2003, 2004, Sobrado 2003, Kocacinar et al. 2008). For instance, because xylem structure and function are generally optimized to balance the conflicting demands of xylem safety versus efficiency, Kocacinar and Sage (2004) demonstrated that xylem properties of contrasting tree species (C_3 versus C_4) reflected WUE in a way that water-use efficient plants had lower hydraulic requirements with smaller xylem vessels. The relationship between WUE and plant hydraulics actually needs to be addressed at the intra-specific level.

Tolerance to water deficit is a multi-component trait, and its definition is dependent upon time scales and intensity levels at which it is studied (McDowell et al. 2008). Because xylem structure is involved in plant water balance, it can be of central importance in the mechanism of tolerance to water deficit. In the context of drastic water deprivations, xylem resistance to drought-induced cavitation is crucial for tree resilience (Brodribb and Cochard 2009). In the context of moderate water shortages that do not threaten tree survival, long-term structural acclimation of xylem properties may be an important mechanism enabling the plants to coordinate the amount of water supplied to the canopy with environmental conditions (Mencuccini 2003).

Poplars (*Populus* spp.) are among the trees with the highest biomass production rates in temperate latitudes. Because this high productivity is associated with large water requirements, poplar species are also among the most sensitive to water deficit. Wide inter- and intra-specific variabil-

ity has been reported in the poplar species for WUE as inferred from gas exchange or Δ measurements (Leffler and Evans 2001, Zhang et al. 2004, Marron et al. 2005, Monclus et al. 2005, 2006) and for tolerance to moderate water deficit as inferred from the ability to limit the relative losses in biomass production (Braatne et al. 1992, Tschaplinski et al. 1994, Monclus et al. 2006). Recent effort has been made to identify the genetic basis and the relationships between WUE, productivity and tolerance to moderate water deficit in poplar. More particularly, a recent study performed on 29 *Populus deltoides* Bartr. ex Marsh. × *Populus nigra* L. (D × N hybrids) genotypes planted in a common garden test reported a large range of variations for Δ (ca. 2.7‰) and WUE_i , growth performance and tolerance to moderate water deficit (Monclus et al. 2006). In addition, no direct relationship could be evidenced between WUE, growth performance and tolerance to moderate water deficit.

Poplar D × N hybrids stand as a good model for investigating the separate involvement of plant hydraulics in WUE, growth performance and tolerance to moderate water deficit. As the first exploratory step, this study focused on the relationships between stem xylem anatomy, WUE, growth performance and tolerance to moderate water deficit in *Populus* D × N hybrids. The approach used was to concentrate on a small number of genotypes that displayed primarily contrasting Δ . Clonal copies of these genotypes were grown in a two-plot common garden test subjected to contrasting water regimes to answer the following specific hypotheses: (i) there is a large range of variation in the stem xylem anatomy among D × N hybrids, and a moderate water deficit induces xylem structural acclimation in a genotype-dependent manner, (ii) xylem vessel anatomy correlates with gas exchange rates and WUE estimates and (iii) xylem vessel anatomy correlates with growth performance and/or tolerance to moderate water deficit.

Materials and methods

Wood samples were collected on a water deficit experiment conducted in 2004 on 29 *Populus* D × N hybrids. Details on the experimental design, growth conditions and data collection are reported in Monclus et al. (2006).

Experimental design and growth measurements

Twenty-five-cm-long woody-stem cuttings of 29 *P. deltoides* × *P. nigra* genotypes (D × N hybrids) were planted in January 2001 in a homogeneous open field test at INRA Orléans (47°46' N and 1°52' E; 110 m a.s.l.), France. Two plots were established at 15-m spacing, each plot consisting of a randomized block design with 29 genotypes × 5 replicated blocks (one sapling of each genotype per block). Within each plot, trees were planted at 0.5 × 1.2 m spacing. During 2001–2003, the two plots were similarly irrigated

and the plants were coppiced at the end of each growing season.

From 15 June to 30 September 2004, stem height and stem diameter 1 m above ground level were measured once a week for all saplings of each of the six genotypes to establish growth kinetics. Measurements were made in the morning to minimize the effects of daily stem swelling/shrinking. Stems were coppiced on 7 January 2005 and the final stem height (H_{Stem} , cm) as well as final stem fresh weight (Biom_F , g) were recorded.

Water deficit induction and water relationship

In 2004, the two plots were irrigated every second day (20 mm of water) with overhead sprinklers from bud flush until 15 June, the beginning of drought experiment. From 15 June to the end of the growing season, a natural water deficit was induced by withholding the irrigation on one of the two plots, while the second one was kept irrigated every second day and served as the control. Thus, the not-irrigated plot only received rainfall contributions. Given that poplar is one of the most sensitive species to water deficit, the intensity of the water constraint and its impact on plant physiology were quantified by two different ways throughout the growing season: firstly by measuring the leaf predawn water potential (Ψ_{pd} , MPa) and secondly by establishing growth kinetics for all genotypes. The time course of Ψ_{pd} and its spatial homogeneity were checked in all saplings from the same four genotypes ($n = 20$ plants per plot); no spatial or genotypic differences were detected (Monclus et al. 2006). Two significant drops in Ψ_{pd} were recorded during the 2004 summer. A first progressive and homogeneous decrease in Ψ_{pd} was recorded from the end of July to the beginning of August with significant peak differences between the two plots on 3 August ($\Psi_{\text{pd-control}} = -0.11 \pm 0.01$ MPa; $\Psi_{\text{pd-water deficit}} = -0.27 \pm 0.02$ MPa); a second one was recorded from the end of August to the beginning of September with significant peak differences on 8 September ($\Psi_{\text{pd-control}} = -0.18 \pm 0.02$ MPa; $\Psi_{\text{pd-water deficit}} = -0.49 \pm 0.01$ MPa) (see Monclus et al. 2006 for a detailed time course). Although Ψ_{pd} is an easily measurable and a commonly used metric, it is not very sensitive to minor changes in soil-water availability, so that Ψ_{pd} can underestimate the actual effects of water deficit on leaf physiology and therefore on growth (Bogeat-Triboulot et al. 2007). Of all genotypes gathered, growth kinetics revealed that growth rate of not-irrigated saplings started to decrease significantly on 15 July, well before a significant drop in Ψ_{pd} could be detected, and this trend was amplified throughout the growing season (Monclus et al. 2006). We concluded from all these observations that the summer water deficit was moderate, long lasting and sufficient to impact plant physiology (Monclus et al. 2006).

In this study, the tolerance to water deficit was defined as the ability to limit relative losses in annual fresh biomass

production. An index of tolerance to water deficit ($\text{TOL}_{\text{wd-index}}$, %) was thus calculated for each genotype as $(\text{Biom}_{F\text{-water deficit}}/\text{Biom}_{F\text{-well-watered}}) \times 100$ (Passioura 2002, Monclus et al. 2006).

Selection of the six genotypes and leaf functional trait measurements

The six genotypes retained for anatomical purposes were selected for their contrasting Δ values (Monclus et al. 2005): 'Eco28', 'CIMA' and 'LUIZA_AVANZO' displayed higher Δ values than 'PANNONIA', 'AGATHE_F' and 'I45-51' (Appendix, Figure A1). Leaf functional traits were assessed for all saplings at the beginning of September 2004 on a fully illuminated mature leaf that exhibited the largest width (foliar index 17). Gas exchange measurements [stomatal conductance to water vapour (g_s , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and net CO_2 assimilation rate (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)] were done on three successive cloudless days near midday using a CIRAS-2 open gas exchange system (PP Systems) with the chamber operating at a flux of 200 ml min^{-1} and a CO_2 concentration of 400 ppm; gas exchange data were averaged over the three days of measurements. Intrinsic WUE was calculated as the ratio between A and g_s (mmol mol^{-1}). Carbon isotope measurements were made on the same leaves as those used for gas exchange. All analyses were performed at the technical platform of functional ecology at the INRA Nancy (long-term external precision 2001–2009 of $\pm 0.16\text{‰}$). Bulk leaf carbon isotope composition ($\delta^{13}\text{C}$) was measured for each sapling from 1-mg homogeneous leaf dry powder and used to calculate bulk leaf carbon isotope discrimination (Δ , ‰) as described in Monclus et al. (2006). Data for leaf physiological and growth performance-related traits (g_s , A , Δ , WUE_i, Biom_F and H_{Stem}) as well as the main trends between these variables have already been reported for the 29 D × N hybrid genotypes (Monclus et al. 2006).

Xylem sampling and anatomical measurements

For each stem coppiced on 7 January 2005, a segment about 10 cm long was harvested at 1 m above the ground level where the diameter had been measured weekly. Samples were stored at -20°C until anatomical analyses. Each stem segment was subsampled in three randomly chosen sectors about 2 cm long and 1 cm large preserving pith and bark. After thawing, subsamples were vacuum-infiltrated with a bactericide/fungicide solution [0.5% in water (v:v); Bactopin +, ActionPin, France] for 3 days at room temperature and stem transverse sections $40 \mu\text{m}$ thick were cut (RM 2155, Leica Microsystems, Vienne, Austria) without any prior fixation or inclusion. Transverse sections were successively dehydrated in ethanol series, stained for 3 min in Safranin O solution [1% (w:v) in ethanol 70%; Sigma, St Louis] and then for 5 min in Astra Blue solution [1% (w:v) in ethanol 100%; Fluka, Buchs, Switzerland] and permanently mounted on Canada Balsam-coated slides.

Sections were examined under a light microscope (Leica DMR, Leica Microsystems, Vienne, Austria) coupled with a Leica DFC 320 digital camera, and the xylem sampling for image analysis was carried out as follows. A first series of images covering pith to bark was taken at a $\times 25$ magnification. For each stem, the mean bark thickness was determined on these images and the bark fraction was calculated as the ratio between the mean bark thickness and the final stem radius measured on the sampling day. A second series of images was then captured at a $\times 50$ magnification to compare the xylem anatomy of irrigated trees versus not-irrigated trees, focusing on the wood produced between 20 July and 15 August. This allowed for the delimitation of a window of about 1 month of xylem production that matched with a period of active cambial growth during the summer water deficit. This wood area was localized on each section using weekly stem diameter increments that were corrected by removing the individual mean bark fraction. Doing as such, we did not isolate only those vessels that were formed at the time of drought peaks. However, since the summer water deficit settled down progressively from 15 July to the end of the growing season, focusing on a relatively large window of xylem production (including the xylem produced about 15 days before and after the first drought peak) allowed for (i) compensating the limited accuracy of weekly diameter measurements and (ii) investigating the long-term xylem acclimation. Of all genotypes gathered, the xylem produced during this time period accounted on average for $31 \pm 1\%$ of the annual xylem production.

Image analysis and anatomical measurements were carried out using the VISILOG 6.3 software (Noesis, Courtaboeuf, France) on 4–6 independent images per sector. Depending on the genotypes and irrigation conditions, the analysed area accounted for 11–55% of the whole xylem area produced between 20 July and 15 August. The threshold to distinguish cell lumen from cell wall was set by an interactive image segmentation based on the selected image grey-level ranges that resulted in a binary image (cell wall black and cell lumen white). For each image, we estimated the vessel and fibre density (N_V and N_F , respectively, mm^{-2}) and mean vessel and fibre lumen diameter (D_V and D_F , respectively, μm). Diameters were calculated as the diameters of a circle with an area equivalent to the lumen cross-section. The frequency distributions of vessels were then analysed in 10- μm diameter classes. On average, more than 1000 vessels per tree were counted.

To approach xylem function, xylem functional anatomy was estimated by computing hydraulic-related variables from vessel morphometric features. Calculations were done assuming that all vessels were functional. We believe that this is a reasonable assumption because xylem tension inducing significant impairment of stem vessels due to cavitation is around -2 MPa in $D \times N$ hybrids (Cochard et al. 2007) and such values must not have been reached during the mild summer water deficit period. To take into account

the disproportionate contribution of large vessels to total flow, a hydraulically weighted vessel diameter was calculated as $D_H = 2(\sum r_{\text{vessel}}^5 / \sum r_{\text{vessel}}^4)$ (Sperry et al. 1994). D_H is the average diameter needed for a given vessel density to result in the theoretical hydraulic conductivity for that stem (Tyree and Zimmermann 2002). The theoretical specific xylem hydraulic conductivity ($K_{(S)t}$, $\text{kg s}^{-1} \text{m}^{-1} \text{MPa}^{-1}$) was calculated based on the Hagen–Poiseuille equation for ideal capillaries assuming laminar flow as $K_{(S)t} = (\pi\rho/128\eta A_{\text{image}}) \times \sum D_V^4$, where ρ is the density of water (998.2 kg m^{-3} at 20°C), η is the viscosity of water ($1.002 \times 10^{-9} \text{ MPa s}$ at 20°C) and A_{image} is the area of the image analysed (m^2) (Santiago et al. 2004). Experiments have shown that the specific xylem hydraulic conductivity is accurately modelled by the Hagen–Poiseuille equation, although overestimated (Santiago et al. 2004, Choat et al. 2007). In fact, $K_{(S)t}$ is rather an index of xylem lumen conductivity, the resistance of inter-vessel junctions being omitted.

Data analysis

Statistical analyses were carried out with the SPSS statistical software package Version 11.0 (SPSS, Chicago, IL). Trait data were averaged for each sapling and then for each genotype and each irrigation condition. All statistical tests were considered significant at $P \leq 0.05$. Means are expressed with their standard error (SE).

Global genetic variations and the effect of water deficit were evaluated using a two-way ANOVA with the following full factorial model: $Y_{ijk} = \mu + G_i + T_j + G_i \times T_j + \varepsilon_{ijk}$, where Y_{ijk} refers to individual values, μ is the general mean, G_i is the effect of genotype i considered as random, T_j is the effect of treatment j considered as fixed, $G_i \times T_j$ is the interaction between the two factors and ε_{ijk} is the residual. When a significant $G \times T$ interaction was found, a one-way ANOVA was performed to assess T effect within each single genotype. Genotype and water deficit effects on vessel size class distributions were evaluated using the Chi square (χ^2) homogeneity test.

Relationships between xylem traits or between xylem traits and other physiological traits were analysed using a general linear model and parametric correlations (Pearson's coefficients, r). Correlations were calculated under the two separate irrigation conditions to assess the effects of water deficit on relationships. For correlations between xylem traits, there were only little variations between the two irrigation regimes so that the data were pooled at the genotypic level ($n = 12$). For correlations between xylem traits and other physiological traits, the relationships were strongly dependent upon the irrigation regime. Because of the low number of genotypes ($n = 6$), and thus low statistical power, the correlations reported refer to the tree level. Relationships between xylem traits and tolerance to water deficit were calculated at the genotypic level.

Results

Anatomical characteristics – effects of water deficit

The six poplar genotypes differed significantly in vessel anatomy, fibre anatomy and vessel hydraulics, regardless of the water irrigation regime (Figures 1 and 2). For instance, under well-watered conditions, LUISA_AVANZO and I45-51 had the largest vessels with the lowest vessel densities (62.3 and 61.5 μm , respectively and 67 and 68 vessels mm^{-2} , respectively) whereas PANNONIA displayed the narrowest vessels with the highest vessel density (46.5 μm and 103 vessels mm^{-2}). The other genotypes displayed intermediate values. The same trends were observed for fibre anatomy and vessel hydraulics (Figure 2). Frequency distributions of vessel diameters differed significantly among the six genotypes (Figure 3, $\chi^2 = 130.7$, $P < 0.001$), but not when PANNONIA and AGATHE_F were excluded from the analysis ($\chi^2 = 13.5$, $P = 0.762$). For these two genotypes, the frequency distributions were shifted towards lower size classes when compared to the other four ones (Figure 2).

The moderate summer water deficit induced xylem structural modifications. Significant $G \times T$ interactions were

observed for vessel traits and vessel hydraulics (Figure 2). The significant $G \times T$ resulted from the fact that there were actually two groups of genotypes, those for which variables responded significantly to water deficit and the others not. For the genotypes that were found to respond significantly, D_V and D_F declined on average by ca. 19% and 14%, respectively (Figures 1 and 2). This resulted from a shift in the frequency distributions of size classes towards lower sizes, especially for vessels (Figure 3). Conversely, N_V increased on average by 39%, whereas N_F was maintained constant in most genotypes (Figure 2). $K_{(S)t}$ and D_H were found to be significantly reduced only for AGATHE_F (Figure 2). On the whole, PANNONIA and LUISA_AVANZO were the least plastic genotypes, whereas AGATHE_F was the most plastic one (Figures 2 and 3).

Relationships among xylem traits were not significantly modified by the mild summer water deficit so that the data were pooled for the two irrigation regimes (Table 1). A negative correlation was recorded between D_V and N_V . Likewise, D_F and N_F correlated negatively, but to a lesser extent. D_V and D_F varied positively, but N_V and N_F did not correlate significantly to each other. Traits related to vessel hydraulics (D_H and $K_{(S)t}$) scaled strongly and positively with D_V , while negatively with N_V .

When the six genotypes were divided into two distinct phenotypic groups ('low Δ ' versus 'high Δ '), there was no clear evidence for a range of xylem characteristics to follow the pattern of Δ (Figures 2 and 3). However, when I45-51 was discarded from the analysis, a trend could be noted for D_V and D_H , vessel size class distributions and $K_{(S)t}$: the genotypes that displayed larger vessels and higher theoretical xylem-specific lumen conductivity tended to display higher Δ values (Figures 2 and 3).

Relationships between xylem vessel anatomy, leaf physiology and growth performance – effects of water deficit

The examination of relationships between leaf physiology, growth performance and xylem anatomy was restricted to xylem vessel features because of their implication in water flow. Data related to D_H are not shown because they yielded very similar results to those obtained with $K_{(S)t}$.

Significant linear relationships were found between xylem vessel traits and either gas exchange rates or WUE estimates, but depending on the water regimes (Figures 4 and 5). Whatever the irrigation condition, D_V and $K_{(S)t}$ varied positively with g_s , whereas N_V varied negatively; however, the correlations were stronger when water was scarce. Comparatively, xylem vessel traits correlated only punctually and weakly with A . The relationships between xylem vessel traits and WUE estimates (Δ or WUE_i) were only significant under water deficit conditions. Under these conditions, D_V and $K_{(S)t}$ varied positively with Δ while negatively with WUE_i ; the opposite trends were found for N_V .

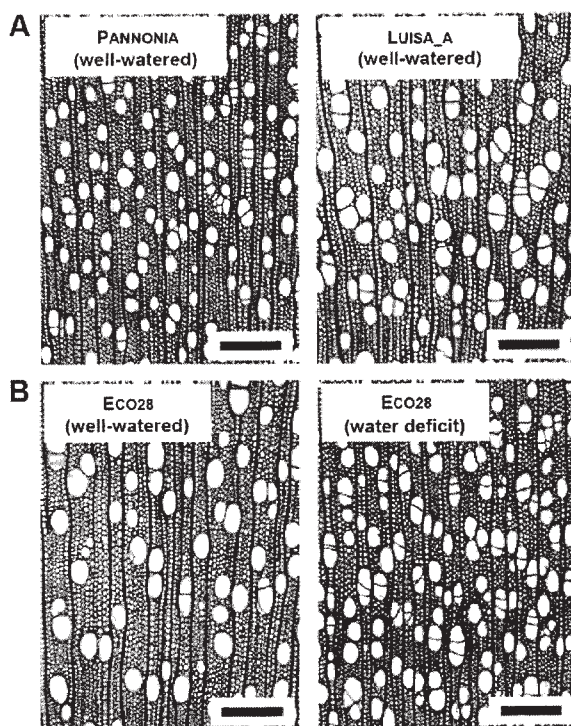


Figure 1. Stem cross-section photographs showing the xylem structure in *Populus D* × *N* hybrid genotypes. (A) Comparison between two contrasting genotypes grown under well-watered conditions and (B) effects of the water deficit on xylem structure within a single genotype. Bars, 250 μm .

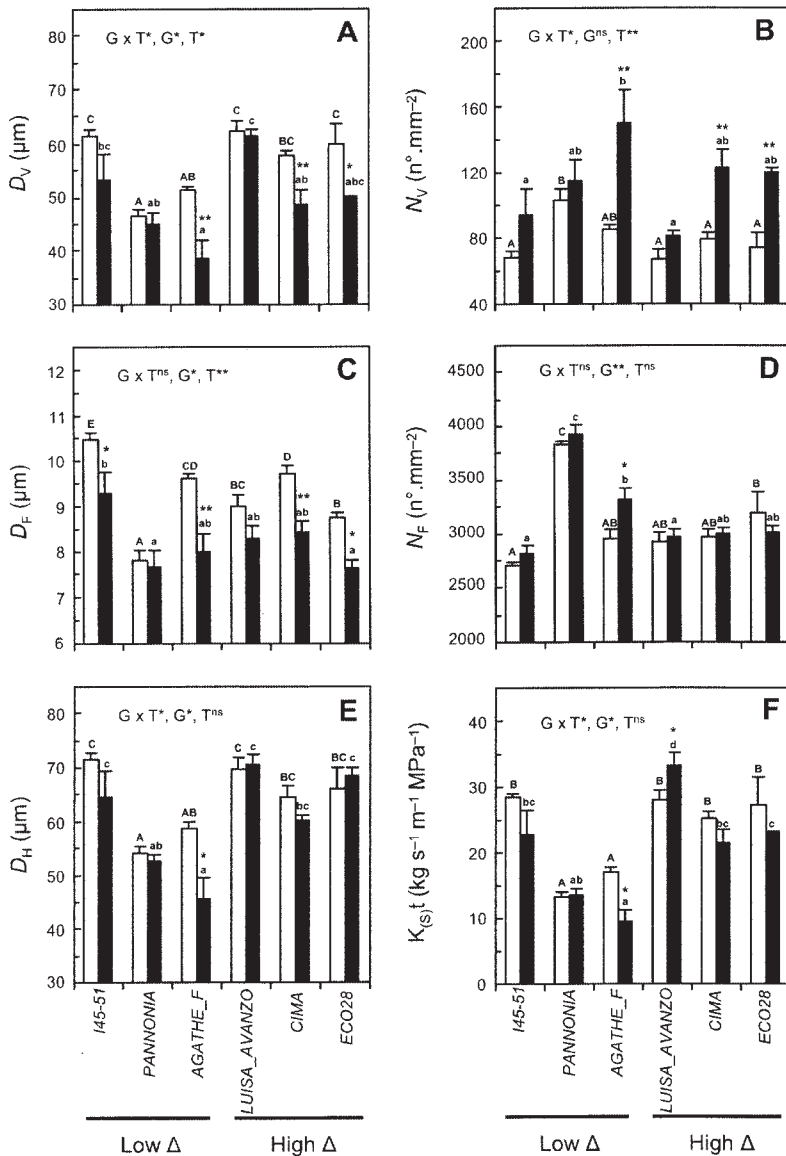


Figure 2. Variation among *Populus* D × N genotypes in vessel anatomy (A and B), fibre anatomy (C and D) and vessel hydraulics (E and F). Open bars for well-watered and closed bars for water deficit. Values are genotypic mean ($\pm$ SE) of 3–5 independent saplings. Genotypes are ranked for Δ_{2004} well-watered as in Figure A1. Global genetic variations and the effect of water deficit were evaluated using a two-way ANOVA (G, genotype effect; T, treatment effect; G × T, genotype by treatment interaction). Different letters indicate the differences between genotypes within each separate irrigation regime following a Tukey's post hoc test (upper case letters for well-watered and lowercase letters for mild water deficit). The effects of water deficit on each separate genotype are indicated by asterisks. Levels of significance are * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ and ns, non-significant.

Significant linear relationships were also found between xylem vessel traits and growth estimates, depending on the water regimes (Figure 6). D_V and $K_{(s)t}$ varied positively with H_{Stem} and Biom_F , while N_V varied negatively. As observed for the relationships between xylem structure and leaf physiology, the correlations between xylem vessel traits and growth estimates were strengthened when water was scarce.

No significant correlation could be evidenced between xylem vessel traits that were measured under well-watered conditions and $\text{TOL}_{\text{wd-index}}$ (Figure 7). However, D_V and N_V measured under water deficit conditions were found to scale significantly with $\text{TOL}_{\text{wd-index}}$, so that high values of D_V and low values of N_V were associated with a high

level of tolerance (Figure 7). This correlation resulted mainly from the fact that least tolerant genotypes tended to display more plastic D_V and N_V in response to mild summer water deficit (Figure 7).

Discussion

A large range of variations in xylem anatomy was evidenced in six *Populus* D × N hybrids. The strategy that consisted in analysing six contrasting genotypes for WUE yielded interesting insights into the relationship between xylem function, vapour water transport properties and growth behaviour.

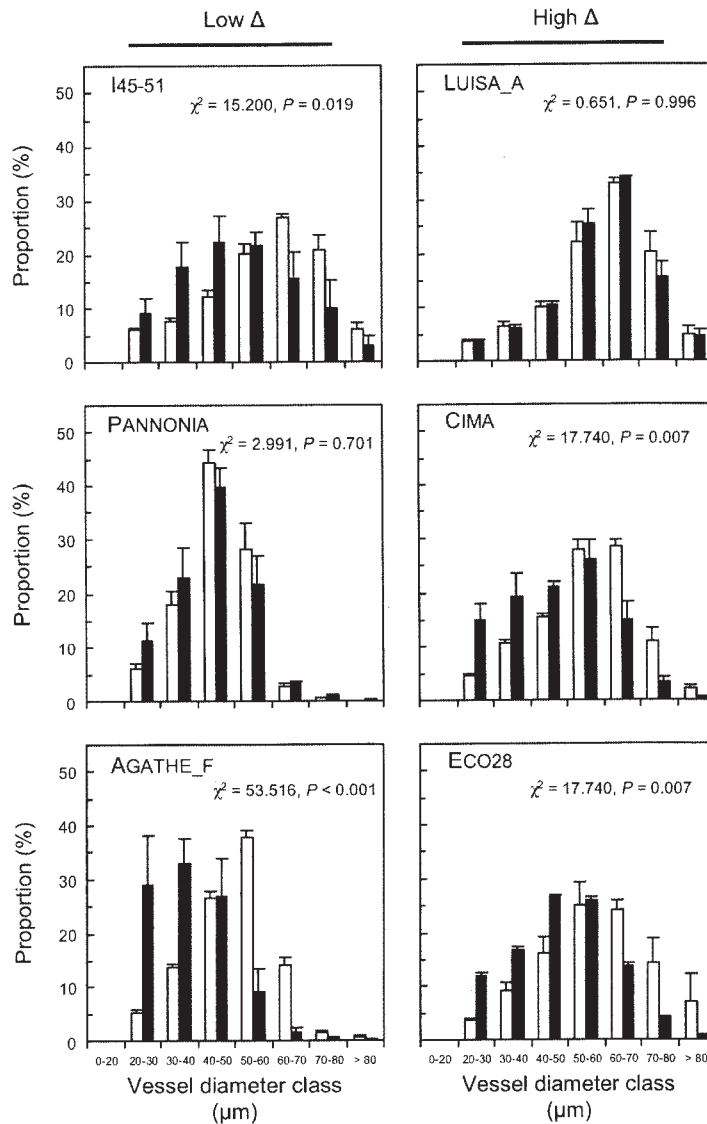


Figure 3. Frequency distributions of xylem vessel diameter classes in the six *Populus* D × N hybrid genotypes (open bars for well-watered and closed bars for water deficit). Values are genotypic mean ($\pm$ SE) of 3–5 independent saplings. Genotypes are ranked for Δ_{2004} well-watered as in Figure A1. The effect of water deficit on frequency distributions was evaluated within each genotype using the Chi square (χ^2) homogeneity test. See the text for genotypic variations (χ^2).

Table 1. Relationships between xylem anatomical variables (Pearson's coefficients from linear regressions). Data from the six genotypes and from the two irrigation regimes were pooled ($n = 12$). Levels of significance are * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ and *** $P < 0.001$. Non-significant correlations are not indicated. See the text for variable descriptions. D_V , vessel diameter; N_V , vessel density; D_F , fibre diameter; N_F , fibre density; D_H , hydraulic vessel diameter; and $K_{(S)t}$, theoretical xylem-specific hydraulic conductivity.

	D_V	N_V	D_F	N_F	D_H
N_V	−0.92***				
D_F	0.60*	−0.69*			
N_F	−0.61*		−0.69*		
D_H	0.91***	−0.75**		−0.70*	
$K_{(S)t}$	0.93***	−0.73**		−0.68*	0.95***

Genotypic variations in xylem anatomy – effects of water deficit

This study demonstrated a wide range of variations in stem xylem anatomy among six *Populus* D × N hybrid genotypes. Mean values obtained for vessel and fibre size/density were comparable to those already reported in other D × N hybrids (Peszlen 1994, Schume et al. 2004, Luo et al. 2005) and more generally in other poplar species (Junghans et al. 2006, Arend and Fromm 2007). The range of variations found for these traits among the hybrids was, however, relatively large and comparable to that identified among a comparison of different pure poplar species (e.g., *P. alba* and *P. nigra*, Luo et al. 2005), although more data on pure species are lacking. The large variations observed in this study must result from the fact that the

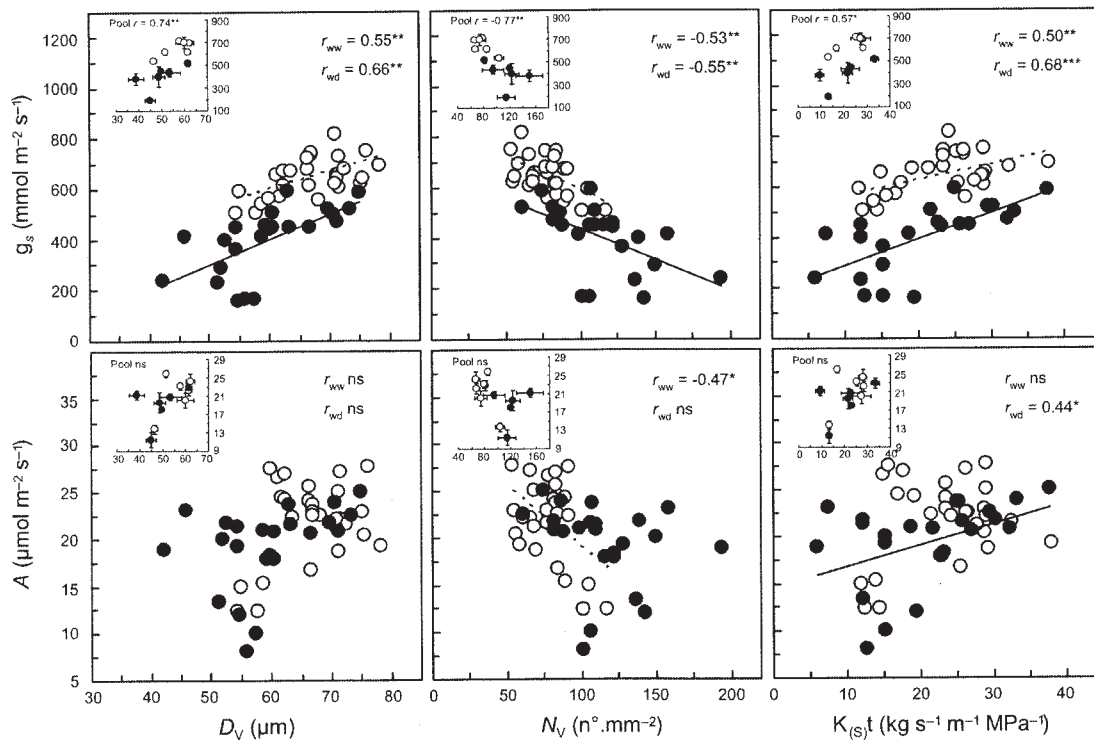


Figure 4. Relationships between gas exchange traits and selected xylem vessel traits in the six *Populus* D × N genotypes. Linear regressions (Pearson's coefficients) were computed at the tree level for the two separate irrigation regimes (r_{ww} for well-watered and r_{wd} for water deficit). Upper-left panels indicate the genotypic trends (genotypic means $\pm$ SE) with Pearson's coefficients for pooled data (r_{pool} , $n = 12$). Open symbols for well-watered conditions ($n = 27$) and closed symbols for water deficit conditions ($n = 23$). Regression lines (dashed lines for well-watered and solid lines for mild water deficit) are only shown when they are statistically significant. Levels of significance are * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ and ns, non-significant.

six genotypes studied were issued from unrelated inter-specific crosses.

Xylem formation is a highly complex process that is responsive to environmental changes. We showed that the summer water deficit, although moderate, was sufficient to induce xylem acclimation. This is in accordance with the already well-documented sensitivity of poplar to water deprivation (Bogeat-Triboulot et al. 2007). A general decrease in cell size and an important rise in vessel density were observed, suggesting that water deficit influences both the differentiation and radial expansion of cambial derivatives. Such structural modifications in response to water deficit are consistent with the other reports on woody angiosperms including poplar (Lovisolo and Schubert 1998, Schume et al. 2004, Searson et al. 2004, Arend and Fromm 2007) and also seem to be common to salinity stress (Junghans et al. 2006, Escalante-Pérez et al. 2008). Besides general trends in response to water deprivation, we further evidenced that the extent of structural modifications was both genotype and trait dependent. For instance, vessel density was found to be remarkably more plastic than vessel diameter, resulting in the maintenance of a constant vessel area (data not shown) and a limited decrease in

theoretical xylem-specific hydraulic conductivity for most genotypes. This finding is consistent with other reports where this trend was interpreted as a compensatory mechanism to the loss of hydraulic conductivity in response to the reduction in vessel size (Lovisolo and Schubert 1998, Searson et al. 2004, Arend and Fromm 2007).

In angiosperms, xylem is a complex tissue made of vessels, a matrix of fibres and other cell types surrounding them. The influence of vessels and fibres on xylem structure can be decomposed into two distinct components, lumen area and cell density, each with its own set of structural and functional implications because they affect the proportion of lumen space available (Preston et al. 2006). The analysis of correlations between pairs of xylem traits revealed a negative relationship between cell size and cell density. Owing to the interplay between the different component traits (vessels/fibres versus lumen area/cell density), a genotype could schematically be located somewhere along a continuum of operational xylem characteristics. The extremes were represented by genotypes exhibiting widely spaced large vessels with relatively less densely packed fibres (I45-51 and LUISA_AVANZO) or closely packed narrower vessels with relatively more densely packed fibres

XYLEM ANATOMY AND WATER RELATIONS IN POPLAR

1545

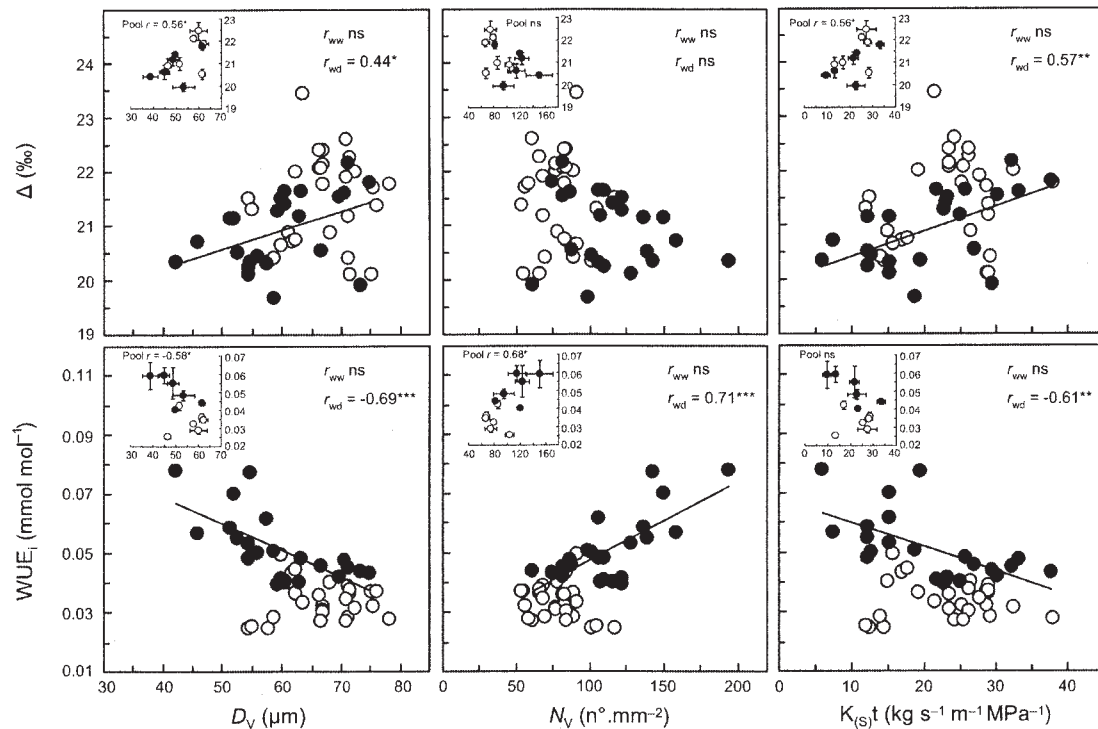


Figure 5. Relationships between long- and short-term estimates of water-use efficiency and selected xylem vessel traits in the six *Populus* D × N genotypes. Linear regressions (Pearson's coefficients) were computed at the tree level for the two separate irrigation regimes (r_{ww} for well-watered and r_{wd} for water deficit). Upper-left panels indicate the genotypic trends (genotypic means ± SE) with Pearson's coefficients for pooled data (r_{pool} , $n = 12$). Open symbols for well-watered conditions ($n = 27$) and closed symbols for water deficit conditions ($n = 23$). Regression lines (dashed lines for well-watered and solid lines for mild water deficit) are only shown when they are statistically significant. Levels of significance are * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ and ns, non-significant.

(PANNONIA). From a functional point of view, it is very likely that these trade-offs reflect the constraints imposed on xylem structural organization by the two antagonistic main functions ensured by the xylem, i.e., water transport versus mechanical support (Preston et al. 2006).

Xylem vessel anatomy, gas exchange and WUE

Many studies have demonstrated a close connection between stem xylem hydraulics and stomatal conductance, leading to the expected conclusion that water supply and water loss capacities are co-ordinated (Hubbard et al. 2001, Brodribb et al. 2002, Katul et al. 2003, Santiago et al. 2004, Ambrose et al. 2009). In our data set, xylem vessel traits related to water flow capacities, such as vessel size and theoretical xylem-specific hydraulic conductivity, correlated positively with g_s whatever the irrigation regime that is consistent with the aforementioned co-ordination between liquid- and vapour-phase water transport properties. In this context, a greater hydraulic supply provided by wider vessels and larger xylem-specific hydraulic conductivity may enable the genotypes to ensure higher transpiration rates. Because of the common pathway for water vapour and CO₂

exchange, a positive link between xylem hydraulics and photosynthetic function is also generally observed (Brodribb and Feild 2000, Santiago et al. 2004, Brodribb et al. 2007). However, no clear relationship could be evidenced in our data set between xylem vessel anatomy and A .

Because WUE reflects a balance between carbon gain and water transport capacity, it is of central importance in understanding the link between xylem hydraulics and whole-plant function. In a series of comparisons between C₃ and C₄ species, Kocacinar and Sage (2003, 2004) suggested that a greater WUE may lead to two distinct hydraulic strategies: (i) for the same xylem hydraulic capacity, a greater allocation to foliage area may be supported or (ii) for the same foliage area, a lower xylem hydraulic capacity with smaller vessels and possibly enhanced safety may be allowed. Although this framework emerged from an evolutionary perspective, the same reasoning may apply when comparing closely related genotypes as in our case. We found that smaller and more numerous vessels as well as lower theoretical-xylem-specific hydraulic conductivity values were associated with an enhanced WUE inferred from both instantaneous gas exchange and time-integrated $\Delta^{13}C$ measurements. This finding is consistent with other reports

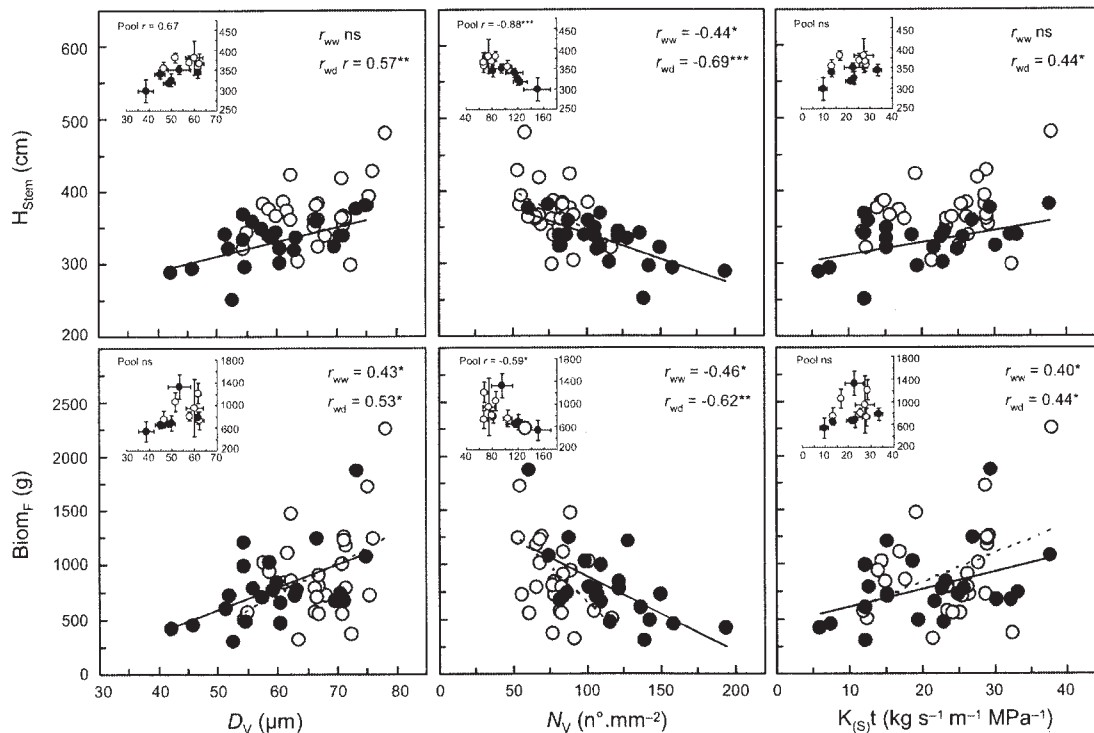


Figure 6. Relationships between growth performance and the selected xylem vessel traits in the six *Populus* D × N hybrid genotypes. Linear regressions (Pearson's coefficients) were computed at the tree level for the two separate irrigation regimes (r_{ww} for well-watered and r_{wd} for water deficit). Upper-left panels indicate the genotypic trends (genotypic means $\pm$ SE) with Pearson's coefficients for pooled data (r_{pool} , $n = 12$). Open symbols for well-watered conditions ($n = 27$) and closed symbols for water deficit conditions ($n = 23$). Regression lines (dashed lines for well-watered and solid lines for mild water deficit) are only shown when they are statistically significant. Levels of significance are * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ and ns, non-significant.

(Panek 1996, Drake and Franks 2003, Santiago et al. 2004), and would tend to favour the second hypothesis. Further hydraulic measurements will help to decipher the relationships between leaf- or xylem-area-based hydraulic conductance, xylem safety, anatomy and WUE.

The relationships between xylem vessel traits and leaf physiological traits, especially WUE estimates, were stronger and more robust under water deficit conditions. This leaves three possible explanations. Firstly, the larger range of variations generally observed under water deficit conditions for all the traits must have contributed to increase statistical power. Secondly, the stronger correlations can be adequately explained within the hydraulic model, particularly if stomata are considered insensitive to the changes in leaf water potential until a threshold is reached (Brodribb and Holbrook 2003). Under these conditions, Δ and WUE_i should be better correlated with hydraulic supply under water deficit when the leaf water potential approaches the response envelope of the stomata. Thirdly, as WUE_i is a ratio, the relationships with WUE_i are likely to depend on (i) which of A versus g_s drives the genotypic differences in WUE and (ii) to which extent A and g_s are related to

hydraulic function. Because the variations in WUE_i under well-watered conditions were mainly driven by A (Monclus et al. 2006) and because A correlated only weakly with xylem vessel traits, we were unable to find any significant relationship between xylem anatomy and WUE estimates. In contrast, because the variations in WUE_i under water deficit conditions were mainly driven by g_s (Monclus et al. 2006) and because g_s correlated strongly with vessel anatomy this resulted in strong correlations between xylem vessel anatomy and WUE estimates.

Xylem anatomy, growth performance and tolerance to water deficit

Mean vessel diameter and theoretical xylem-specific conductivity correlated positively with H_{stem} and $Biom_F$. This is in accordance with other studies reporting xylem hydraulics as important determinants of growth performance (Vander Willigen and Pammenter 1998, Sangsing et al. 2004, Kondoh et al. 2006). Such a relationship may be due to the fact that an efficient water supply to the leaves may permit higher gas exchange rates. However, traits

XYLEM ANATOMY AND WATER RELATIONS IN POPLAR

1547

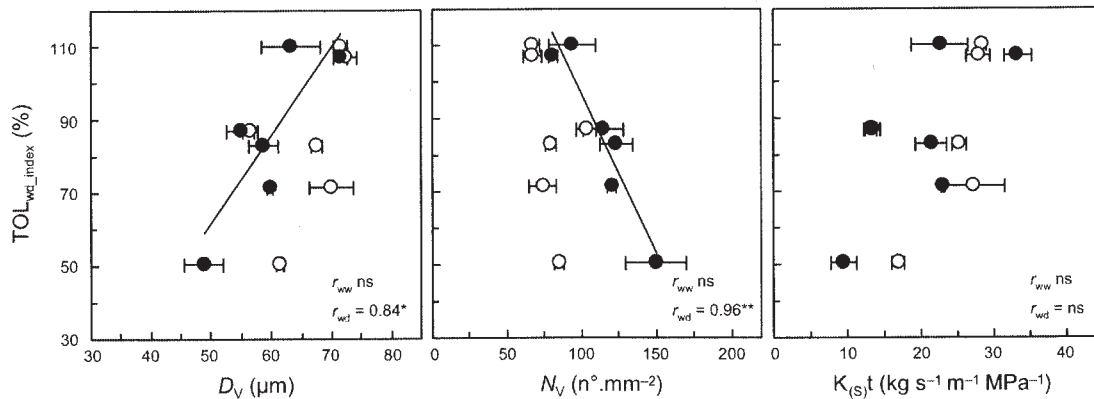


Figure 7. Relationships between the index of tolerance to water deficit and xylem vessel traits in the six *Populus* D × N genotypes. Linear regressions (Pearson's coefficients) were computed at the genotypic level ($n = 6$) for the two separate irrigation regimes (r_{ww} for well-watered and r_{wd} for water deficit). Open symbols were used for well-watered conditions and closed symbols for water deficit conditions. Values for xylem vessel traits are genotypic mean ($\pm$ SE) of 3–5 independent saplings. The index of tolerance to water deficit ($TOL_{wd-index}$, %) was defined in terms of relative loss in fresh biomass in response to the moderate summer water deficit and was calculated as $Biom_{Fwater\ deficit}/Biom_{Fwell-watered} \times 100$ as described in Monclus et al. (2006). Regression lines are only shown when they are statistically significant. Levels of significance are * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ and ns, non-significant.

related to growth performance were not significantly related to gas exchange rates either in our data set of six genotypes, or when extending the analysis to the 29 genotypes (Monclus et al. 2006). Alternatively, a high hydraulic supply at high or moderate Ψ values may be advantageous for at least two other reasons. Firstly, it may enable the trees to provide water supply to a greater canopy area. Because total canopy area is the main determinant of growth performance in D × N hybrids (Marron et al. 2005, Monclus et al. 2005, 2006, Marron and Ceulemans 2006), this would in turn enable a greater growth performance. However, this possibility contradicts the aforementioned hypothesis that a greater WUE may be achieved by building a less efficient xylem for the same foliage area rather than allocating more to foliage area for the same xylem capacity. Secondly, according to Eq. (1), trees with a higher hydraulic conductance will exhibit less important xylem tension and a buffered Ψ gradient along the root-to-leaf pathway. As a consequence, the plant meristems would remain fully hydrated, which, in the end, would result in enhanced growth.

No significant correlations were detected between xylem traits that were measured under well-watered conditions and $TOL_{wd-index}$ ruling out the possibility of using simple anatomical traits as reliable predictors of tolerance to mild water deficit. However, we observed that vessel diameter and vessel density measured under water deficit conditions correlated strongly with $TOL_{wd-index}$. This correlation resulted from the fact that the most tolerant genotypes tended to be the least plastic for vessel diameter and vessel density, so that xylem plasticity had apparently a larger cost than its return on investment in terms of growth performance. We hypothesize that under such mild water

deficits, the plasticity of xylem structure may be more important than the intrinsic suite of xylem traits in setting the level of tolerance.

Conclusion

We evidenced a large range of variations in stem xylem anatomy among six *Populus* D × N hybrid genotypes that correlated both with gas exchange rates, WUE estimates and growth performance under contrasting water regimes. Because there is no clear evidence for WUE to be related to the growth performance in D × N hybrids (Monclus et al. 2006), the relationships recorded between stem vessel features and other functional traits are likely to be non-causal, but may be the consequence of more global co-ordinations between the different components of the whole-plant hydraulic system. Additional functional studies within D × N hybrids will be valuable to decipher the relationships between xylem structure, hydraulic function, leaf physiology and growth performance.

Acknowledgments

We are indebted to Dr. M. Villar (UR INRA, Orleans) for his help during sample collection and for helpful comments on preliminary drafts. We warmly thank Dr. E. Dreyer (UMR INRA-UHP, Nancy) for invaluable discussions during the course of this work. Genotypes were kindly provided by O. Forestier from the State Forestry Nursery of Guéméné-Penfao (Loire Atlantique, France). The authors gratefully acknowledge the staff of René Blanluet (UE INRA, Orléans), Isabelle Le

Jan, Alain Guichard and Gilles Moreau (LBLGC, Orleans University) for their excellent technical assistance. R.F. was supported by a Ph.D. Grant from the 'French Ministry of Higher Education and Research'. R. Monclus died in a car crash in September 2006. The authors wish to thank the three anonymous reviewers for their helpful comments on the previous version of the manuscript.

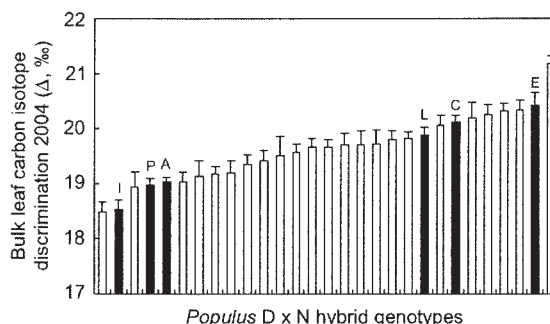
References

- Ambrose, A.R., S.C. Sillett and T.E. Dawson. 2009. Effects of tree height on branch hydraulics, leaf structure and gas exchange in California redwoods. *Plant Cell Environ.* 32: 743–757.
- Arend, M. and J. Fromm. 2007. Seasonal change in the drought response of wood cell development in poplar. *Tree Physiol.* 27:985–992.
- Bogeat-Triboulot, M.B., M. Brosché, J. Renaut et al. 2007. Gradual soil water depletion results in reversible changes of gene expression, protein profiles, ecophysiology, and growth performance in *Populus euphratica*, a poplar growing in arid regions. *Plant Physiol.* 143:876–892.
- Braatne, J.H., T.M. Hinckley and R.F. Stettler. 1992. Influence of soil water on the physiological and morphological components of plant water balance in *Populus trichocarpa*, *Populus deltoides* and their F1 hybrids. *Tree Physiol.* 11:325–339.
- Brodribb, T.J. and H. Cochard. 2009. Hydraulic failure defines the recovery and point of death in water-stressed conifers. *Plant Physiol.* 149:575–584.
- Brodribb, T.J. and T.S. Feild. 2000. Stem hydraulic supply is linked to leaf photosynthetic capacity: evidence from New Caledonian and Tasmanian rainforests. *Plant Cell Environ.* 23:1381–1388.
- Brodribb, T.J. and N.M. Holbrook. 2003. Somatal closure during leaf dehydration, correlation with other leaf physiological traits. *Plant Physiol.* 132:2166–2173.
- Brodribb, T.J., N.M. Holbrook and M.V. Gutiérrez. 2002. Hydraulic and photosynthetic co-ordination in seasonally dry tropical forest trees. *Plant Cell Environ.* 25:1435–1444.
- Brodribb, T.J., T.S. Feild and G.J. Jordan. 2007. Leaf maximum photosynthetic rate and venation are linked by hydraulics. *Plant Physiol.* 144:1890–1898.
- Choat, B., L. Sack and N.M. Holbrook. 2007. Diversity of hydraulic traits in nine *Cordia* species growing in tropical forests with contrasting precipitation. *New Phytol.* 175: 686–698.
- Cochard, H., E. Casella and M. Mencuccini. 2007. Xylem vulnerability to cavitation varies among poplar and willow clones and correlates with yield. *Tree Physiol.* 27:1761–1767.
- Cowan, I.R. 1972. An electrical analogue of evaporation from, and flow of water in plants. *Planta* 106:221–226.
- Drake, P.L. and P.J. Franks. 2003. Water resource partitioning, stem xylem hydraulic properties, and plant water use strategies in a seasonally dry riparian tropical rainforest. *Oecologia* 137:321–329.
- Escalante-Pérez, M., S. Lautner, U. Nehls et al. 2008. Salt stress affects xylem differentiation of grey poplar (*Populus* × *canescens*). *Planta*, doi:10.1007/s00425-008-0829-7.
- Farquhar, G.D., M.H. O'Leary and J.A. Berry. 1982. On the relationship between carbon isotope discrimination and the intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Aust. J. Plant Physiol.* 9:121–137.
- Hubbard, R.M., M.G. Ryan, V. Stiller and J.S. Sperry. 2001. Stomatal conductance and photosynthesis vary linearly with plant hydraulic conductance in ponderosa pine. *Plant Cell Environ.* 24:113–121.
- Junghans, U., A. Polle, P. Dürting, E. Weiler, B. Kuhlman, F. Gruber and T. Teichmann. 2006. Adaptation to high salinity in poplar involves changes in xylem anatomy and auxin physiology. *Plant Cell Environ.* 29:1519–1531.
- Katul, G., R. Leuning and R. Oren. 2003. Relationship between plant hydraulic and biochemical properties derived from a steady-state coupled water and carbon transport model. *Plant Cell Environ.* 26:339–350.
- Kocacinar, F. and R.F. Sage. 2003. Photosynthetic pathway alters xylem structure and hydraulic function in herbaceous plants. *Plant Cell Environ.* 26:2015–2026.
- Kocacinar, F. and R.F. Sage. 2004. Photosynthetic pathway alters hydraulic structure and function in woody plants. *Oecologia* 139:214–223.
- Kocacinar, F., A.D. McKown, T.L. Sage and R.F. Sage. 2008. Photosynthetic pathway influences xylem structure and function in *Flaveria* (Asteraceae). *Plant Cell Environ.* 31:1363–1376.
- Kondoh, S., H. Yahata, T. Nakashizuka and M. Kondoh. 2006. Interspecific variation in vessel size, growth and drought tolerance of broad-leaved trees in semi-arid regions of Kenya. *Tree Physiol.* 26:899–904.
- Leffler, A.J. and A.S. Evans. 2001. Physiological variation among *Populus fremontii* populations: short- and long-term relationships between $\delta^{13}\text{C}$ and water availability. *Tree Physiol.* 21:1149–1155.
- Lovisolo, C. and A. Schubert. 1998. Effects of water stress on vessel size and xylem hydraulic conductivity in *Vitis vinifera* L. *J. Exp. Bot.* 49:693–700.
- Luo, Z., R. Langenfeld-Heyzer, C. Calfapietra and A. Polle. 2005. Influence of free air CO₂ enrichment (EUROFACE) and nitrogen fertilisation on the anatomy of juvenile wood of three poplar species after coppicing. *Trees* 19:109–118.
- Marron, N. and R. Ceulemans. 2006. Genetic variation of leaf traits related to productivity in a *Populus deltoides* × *Populus nigra* family. *Can. J. For. Res.* 36:390–400.
- Marron, N., M. Villar, E. Dreyer, D. Delay, E. Boudouresque, J.M. Petit, F.M. Delmotte, J.M. Guehl and F. Brignolas. 2005. Diversity of leaf traits related to productivity in 31 *Populus deltoides* × *Populus nigra* clones. *Tree Physiol.* 25:425–435.
- McDowell, N., W.T. Pockman, C.D. Allen et al. 2008. Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while others succumb to drought? *New Phytol.* 178:719–739.
- Meinzer, F.C. 2002. Co-ordination of vapour and liquid phase water transport properties in plants. *Plant Cell Environ.* 25:265–274.
- Mencuccini, M. 2003. The ecological significance of long-distance water transport: short-term regulation, long-term acclimation and the hydraulic costs of stature across plant life forms. *Plant Cell Environ.* 26:163–182.
- Monclus, R., E. Dreyer, F.M. Delmotte, M. Villar, D. Delay, E. Boudouresque, J.M. Petit, N. Marron, C. Bréchet and F. Brignolas. 2005. Productivity, leaf traits and carbon isotope discrimination in 29 *Populus deltoides* × *P. nigra* clones. *New Phytol.* 167:53–62.
- Monclus, R., E. Dreyer, M. Villar, F.M. Delmotte, D. Delay, J.M. Petit, C. Barbaroux, D. Le Thiec, C. Bréchet and

- F. Brignolas. 2006. Impact of drought on productivity and water use efficiency in 29 genotypes of *Populus deltoides* × *Populus nigra*. *New Phytol.* 169:765–777.
- Panek, J.A. 1996. Correlations between stable carbon-isotope abundance and hydraulic conductivity in Douglas-fir across a climate gradient in Oregon, USA. *Tree Physiol.* 16:747–755.
- Passioura, J.B. 2002. Environmental biology and crop improvement. *Funct. Plant Biol.* 29:537–546.
- Peszlen, I. 1994. Influence of age on selected anatomical properties of *Populus* clones. *IAWA J.* 15:311–321.
- Preston, K.A., W.K. Cornwell and J.L. DeNoyer. 2006. Wood density and vessel traits as distinct correlates of ecological strategy in 51 California coast range angiosperms. *New Phytol.* 170:807–818.
- Ripullone, F., M. Lauteri, G. Grassi, M. Amato and M. Borghetti. 2004. Variations in nitrogen supply changes water-use efficiency of *Pseudotsuga menziesii* and *Populus* × *euroamericana*; a comparison of three approaches to determine water-use efficiency. *Tree Physiol.* 24:671–679.
- Sangsing, K., H. Cochard, P. Kasemsap, S. Thanisawanyangkura, K. Sanghkasila, E. Gohet and P. Thaler. 2004. Is growth performance in rubber (*Hevea brasiliensis*) related to xylem hydraulic efficiency? *Can. J. Bot.* 82:886–891.
- Santiago, L.S., G. Goldstein, F.C. Meinzer, J.B. Fisher, K. Machado, D. Woodruff and T. Jones. 2004. Leaf photosynthetic traits scale with hydraulic conductivity and wood density in Panamanian forest canopy trees. *Oecologia* 140: 543–550.
- Schume, H., M. Grabner and O. Eckmüller. 2004. The influence of an altered groundwater regime on vessel properties of hybrid poplar. *Trees* 18:184–194.
- Searson, M.J., D.S. Thomas, K.D. Montagu and J.P. Conroy. 2004. Wood density and anatomy of water-limited eucalypts. *Tree Physiol.* 24:1295–1302.
- Sobrado, M.A. 2003. Hydraulic characteristics and leaf water use efficiency in trees from tropical montane habitats. *Trees* 17:400–406.
- Sperry, J.S., K.L. Nichols, J.E.M. Sullivan and S.E. Eastlack. 1994. Xylem embolism in ring-porous, diffuse-porous, and coniferous trees of Northern Utah and interior Alaska. *Ecology* 75:1736–1752.
- Sperry, J.S., U.G. Hacke, R. Oren and J.P. Comstock. 2002. Water deficits and hydraulic limits to leaf water supply. *Plant Cell Environ.* 25:251–263.
- Tschaplinski, T.J., G.A. Tuskan and C.A. Gunderson. 1994. Water-stress tolerance of black and eastern cottonwood clones and four hybrid progeny I. Growth, water relations, and gas exchange. *Can. J. For. Res.* 24:364–371.
- Tyree, M.T. and F.W. Ewers. 1991. The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *New Phytol.* 119:345–360.
- Tyree, M.T. and M.H. Zimmermann. 2002. Xylem structure and the ascent of sap. 2nd Edn. Springer, Berlin, 250 p.
- Vander Willigen, C. and N.W. Pammenter. 1998. Relationship between growth and xylem hydraulic characteristics of clones of *Eucalyptus* spp. at contrasting sites. *Tree Physiol.* 18: 595–600.
- von Caemmerer, S. and G.D. Farquhar. 1981. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta* 153:376–387.
- Zhang, X., R. Zang and C. Li. 2004. Population differences in physiological and morphological adaptations of *Populus davidiana* seedlings in response to progressive drought stress. *Plant Sci.* 166:791–797.

Appendix

Figure A1. Place of the six *Populus* D × N hybrid genotypes studied among the 29 previously reported in Monclus et al. (2005, 2006) on the basis of Δ values ($\pm$ SE) that were recorded in 2004 under optimal irrigation condition (Monclus et al. 2006). Genotype abbreviations: A, AGATHE_F; C, CIMA; E, Eco28; I, I45-51; L, LUISA_AVANZO; P, PANNONIA.



2. TRANSITION

L'ensemble des résultats acquis dans le cadre de ce travail a permis de conforter notre hypothèse de départ, à savoir que les relations structure-fonction du xylème pourraient être indicatrices du fonctionnement hydrique et carboné de l'arbre chez les hybrides *Populus deltoides* × *P. nigra*, et de façon plus générale chez le peuplier. Néanmoins, ces premiers travaux axés au niveau structure représentaient une première étape. La large gamme de variations structurales du xylème observée parmi les hybrides *Populus deltoides* × *P. nigra* laissait supposer d'importantes variations d'un point de vue fonctionnel. Les deux chapitres suivants sont donc consacrés à la caractérisation des deux principaux aspects du fonctionnement hydraulique du xylème. Ces deux aspects concernent les limites de fonctionnement (résistance à la cavitation) et l'efficacité hydraulique.

CHAPITRE 2

VARIABILITE DE LA RESISTANCE A LA CAVITATION ET PLASTICITE EN REPONSE A LA SECHERESSE CHEZ *Populus deltoides* × *Populus nigra*

Relations entre résistance à la cavitation, propriétés structurales du xylème, fonctionnement foliaire et potentiel de croissance chez les hybrides *Populus deltoides* × *Populus nigra* en conditions hydriques contrastées

REGIS FICHOT, TETE S. BARIGAH, SYLVAIN CHAMAILLARD, DIDER LE THIEC, FRANÇOISE LAURANS, HERVE COCHARD & FRANCK BRIGNOLAS

Plant, Cell & Environment (2010)

doi : 10.1111/j.1365-3040.2010.02164.x



1. PRESENTATION SYNTHETIQUE DE L'ARTICLE

• **Contexte.** La sève brute circule au sein du système vasculaire sous tension. Dans ces conditions, l'eau est dans un état métastable et est donc sujette à se vaporiser. La vaporisation brutale de la sève brute (le phénomène de cavitation) se produit lorsque les tensions xylémiennes excèdent une valeur seuil déterminée par les caractéristiques intrinsèques des ponctuations, rendant les éléments conducteurs embolisés et donc non fonctionnels. Au cours des deux dernières décennies, un grand nombre d'études a démontré que la vulnérabilité à la cavitation imposait une réelle limite fonctionnelle sur le fonctionnement hydrique et carboné de l'arbre. Toutefois, la majorité des connaissances concernant les relations entre la résistance à la cavitation et d'autres caractères structuraux et fonctionnels indicateurs du fonctionnement physiologique des plantes a été obtenue à l'aide de comparaisons inter-spécifiques.

• **Objectifs.** L'objectif général de cette étude était d'évaluer au sein des hybrides *Populus deltoides* × *Populus nigra*, dans des conditions d'irrigation contrastées, les relations entre d'une part la résistance à la cavitation de la tige et d'autre part des caractères structuraux et fonctionnels indicateurs du fonctionnement physiologique de la plante. Les objectifs spécifiques étaient de (i) caractériser la gamme de variation pour la résistance à la cavitation, (ii) caractériser et quantifier l'effet d'une sécheresse sur le niveau de résistance à la cavitation, (iii) juger des liens entre résistance à la cavitation et propriétés structurales du xylème, notamment celles associées à l'efficacité de conduction et au renforcement mécanique, (iv) juger des relations entre résistance à la cavitation et fonctionnement hydrique et carboné au niveau foliaire, et (v) juger des relations entre résistance à la cavitation et potentiel de croissance. Un corolaire important à cette étude a été d'évaluer si les relations ou les « compromis » entre la résistance à la cavitation et les autres caractères structuraux et

fonctionnels couramment observés au niveau inter-spécifique étaient également observables à une échelle d'étude plus réduite.

• **Stratégie.** L'étude a portée sur huit génotypes *P. deltoides* × *P. nigra* contrastés principalement pour leurs valeurs de discrimination isotopique vis-à-vis du ^{13}C (Monclus *et al.* 2005, 2006) et déjà connus pour présenter d'importantes variations pour la structure du xylème (Fichot *et al.* 2009). Les travaux ont été réalisés en pépinière, en conditions hydriques optimales ou limitantes, à partir de plançons non démarrés et enracinés depuis deux ans. Les mesures ont été réalisées sur l'axe dominant de l'année. Les courbes de vulnérabilité à la cavitation ont été réalisées à l'aide de la technique Cavitron développée au sein de l'UMR PIAF de Clermont-Ferrand par Hervé Cochard et l'équipe HYDRO. Les tensions xylémiennes causant 12, 50 et 88% de perte de conductance hydraulique ainsi que la pente de la courbe au point d'inflexion ont été estimées. Ces paramètres ont ensuite été mis en relation avec les données de potentiel hydrique minimum de la tige, les caractéristiques structurales du xylème associées à l'efficacité de conduction de la sève brute (diamètre moyen des vaisseaux, pourcentage de surface allouée à la conduction, conductivité spécifique théorique) ou au renforcement mécanique (résistance au collapsus pariétal, densité du xylème), les caractères fonctionnels foliaires (assimilation nette de CO_2 , conductance stomatique, discrimination isotopique vis-à-vis du ^{13}C) ainsi que les caractères associés au potentiel de croissance des huit génotypes (taux de croissance relatif du brin dominant de chaque cépée et biomasses annuelles).

• **Résultats.** Nos résultats ont d'abord confirmé la grande vulnérabilité du peuplier à la cavitation, et de façon plus générale sa grande sensibilité à la sécheresse. La rupture hydraulique du xylème se produit avant -3 MPa, dans une gamme de tension xylémienne faible de l'ordre de 1.5 MPa. Néanmoins, des variations significatives du niveau de résistance à l'embolie ont été observées entre les huit génotypes, les valeurs de Ψ_{50} ¹ variant de -1.60 à -2.40 MPa. Nos résultats ont également démontré qu'une sécheresse prolongée et modérée entraînait une diminution de Ψ_{50} (*i.e.* les arbres acclimatés possèdent généralement une résistance accrue), bien que l'ampleur des variations était largement génotype-dépendante. Nous avons également mis en évidence que l'amplitude des variations phénotypiques en réponse à la sécheresse dépendait du niveau de résistance intrinsèque en condition hydrique optimale. Quelles que soient les conditions d'irrigation, les marges de sécurité vis-à-vis de la

¹ Ψ_{50} correspond à la valeur de tension xylémienne causant 50% de perte de conductance hydraulique et est utilisée comme un indicateur du niveau de résistance à la cavitation.

cavitation¹ variaient de façon significative entre génotype (jusqu'à 0.98 MPa en condition hydrique optimale et jusqu'à 0.66 MPa en condition hydrique limitante) ; en d'autres termes, les génotypes plus résistants ne fonctionnent pas nécessairement à des tensions xylémiennes plus importantes. Au niveau tissulaire, nous n'avons pas pu mettre en évidence de relations entre la résistance à la cavitation et les caractères structuraux associés à l'efficacité de conduction (diamètre des vaisseaux conducteurs, pourcentage de surface allouée à la conduction, conductivité spécifique théorique du xylème) ou aux propriétés mécaniques du xylème (densité du xylème et résistance au collapsus pariétal). Le seul trait structural corrélé à Ψ_{50} était l'épaisseur de la paroi des vaisseaux appariés, les génotypes les plus résistants présentant une paroi plus épaisse. Au niveau foliaire, un compromis entre la résistance à la cavitation et la conductance stomatique a été mis en évidence en condition hydrique optimale. En considérant l'analogie avec la loi d'Ohm et sous l'hypothèse que la conductance stomatique maximale dépend de la conductance spécifique foliaire de la plante entière, le compromis observé pourrait en fait refléter de façon plus générale un compromis entre la résistance à la cavitation et l'efficacité hydraulique de la plante entière. Par ailleurs, aucune relation claire n'a pu être observée entre la résistance à la cavitation et l'assimilation nette de CO₂ ou la discrimination isotopique vis-à-vis du ¹³C, quelles que soient les conditions d'irrigation. Au niveau plante entière, nos résultats ont démontré qu'en condition hydrique optimale, les génotypes les plus résistants à l'embolie étaient également ceux qui présentaient le potentiel de croissance intrinsèque le plus important ; cette relation n'était toutefois plus observée en condition hydrique limitante ce qui suggère d'une part un fort effet environnemental sur les relations résistance à la cavitation – croissance, et d'autre part que la résistance à la cavitation n'est pas un bon critère pour discriminer les génotypes performants en condition de sécheresse modérée.

• **Conclusions.** L'ensemble des résultats acquis dans le cadre de ce travail a permis de mettre en évidence des variations à la fois génétiques et phénotypiques pour la résistance à la cavitation au sein des hybrides *Populus deltoides* × *P. nigra*. Nous montrons que la résistance à la cavitation peut être reliée à certains aspects du fonctionnement hydrique et carboné de l'arbre à différentes échelles d'étude. Nous montrons également que certaines relations couramment observées au niveau inter-spécifique ne sont plus nécessairement valides à une échelle d'étude plus fine. Certaines relations inattendues, notamment la relation positive entre

¹ Les marges de sécurité ont été calculées comme la différence entre la tension xylémienne causant les premiers événements significatifs de cavitation (Ψ_{12}) et le potentiel hydrique minimum de la tige au cours de la saison de végétation (Ψ_{xmin}).

la résistance à la cavitation et le potentiel de croissance, pourraient s'expliquer en partie du fait de la particularité de notre modèle d'étude. En effet, les génotypes étudiés étant des hybrides inter-spécifiques non-apparentés essentiellement sélectionnés pour leur niveau de productivité, il est fort probable que ces génotypes représentent en fait des phénotypes extrêmes artificiels issus d'un phénomène de ségrégation transgressive.

Common trade-offs between xylem resistance to cavitation and other physiological traits do not hold among unrelated *Populus deltoides* × *Populus nigra* hybrids

RÉGIS FICHOT^{1,2,3}, TÊTE S. BARIGAH⁴, SYLVAIN CHAMAILLARD^{1,2,3}, DIDER LE THIEC⁵, FRANÇOISE LAURANS³, HERVÉ COCHARD⁴ & FRANCK BRIGNOLAS^{1,2}

¹Université d'Orléans, UFR-Faculté des Sciences, UPRES EA 1207 Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures (LBLGC), BP 6759, F-45067, France, ²INRA, USC2030 Arbres et Réponses aux Contraintes Hydrique et Environnementales (ARCHE), BP 6759, F-45067, France, ³INRA UR588 Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières (AGPF), Centre de Recherche d'Orléans, CS 40001 Ardon, F-45075, Orléans Cedex 2, France, ⁴UMR547 Physiologie Intégrée de l'Arbre Fruitier (PIAF), INRA-Université Blaise Pascal, F-63100, Clermont-Ferrand, France and ⁵INRA, UMR1137 Ecologie et Ecophysiologie Forestières, Nancy Universités, IFR110 Génomique, Ecophysiologie, Ecologie Fonctionnelle, F-54280, Champenoux, France

ABSTRACT

We examined the relationships between xylem resistance to cavitation and 16 structural and functional traits across eight unrelated *Populus deltoides* × *Populus nigra* genotypes grown under two contrasting water regimes. The xylem water potential inducing 50% loss of hydraulic conductance (Ψ_{50}) varied from -1.60 to -2.40 MPa. Drought-acclimated trees displayed a safer xylem, although the extent of the response was largely genotype dependant, with Ψ_{50} being decreased by as far as 0.60 MPa. At the tissue level, there was no clear relationship between xylem safety and either xylem water transport efficiency or xylem biomechanics; the only structural trait to be strongly associated with Ψ_{50} was the double vessel wall thickness, genotypes exhibiting a thicker double wall being more resistant. At the leaf level, increased cavitation resistance was associated with decreased stomatal conductance, while no relationship could be identified with traits associated with carbon uptake or bulk leaf carbon isotope discrimination, a surrogate of intrinsic water-use efficiency. At the whole-plant level, increased safety was associated with higher shoot growth potential under well-irrigated regime only. We conclude that common trade-offs between xylem resistance to cavitation and other physiological traits that are observed across species may not necessarily hold true at narrower scales.

Key-words: carbon isotope discrimination; photosynthesis; poplars; relative growth rate; stomatal conductance; water deficit; water relations; xylem anatomy; xylem vulnerability to embolism.

INTRODUCTION

One of the most remarkable aspects of plant water relations is probably that during transpiration, water moves through the xylem under tension (negative pressure). This places xylem under the constant threat of cavitation through air seeding. As xylem tension reaches a critical threshold, air seeding occurs through bordered pits as a result of an air bubble being sucked into a water-filled conduit from an adjacent air-filled conduit. Cavitation events actually lead to vapour-filled (embolized) conduits that no longer carry water, thereby decreasing xylem hydraulic conductivity (Tyree & Sperry 1989). To prevent damaging drops in xylem tension, stomata act as a pressure regulator (Sperry *et al.* 2002), but this may come at the cost of reduced CO_2 uptake and *in fine*, reduced plant growth. Therefore, xylem resistance to cavitation appears as one key trait in understanding the conflicting balance between maximizing carbon uptake and minimizing water loss.

Xylem resistance to cavitation is usually described through vulnerability curves (VCs), that is, the plot of percent loss of xylem hydraulic conductivity versus xylem tension. Cavitation resistance has been widely documented across species and varies greatly (Maherali, Pockman & Jackson 2004). Although reports at the intraspecific level are by far less numerous, there is also evidence that cavitation resistance can vary between populations of the same species (Alder, Sperry & Pockman 1996; Mencuccini & Comstock 1997; Sparks & Black 1999; Choat, Sack & Holbrook 2007) or between closely related genotypes (Neufeld *et al.* 1992; Vander Willigen & Pammenter 1998; Pita, Gascó & Pardos 2003; Sangsing *et al.* 2004; Cochard, Casella & Mencuccini 2007). However, most of our current understandings of how xylem resistance to cavitation is related to other functional traits involved in plant water transport and carbon uptake has come from interspecific comparisons. The comparisons of more or less distantly related taxa growing in contrasting environments tend to indicate that

Correspondence: F. Brignolas. Fax: +33 (0)2 38 49 49 11; e-mail: franck.brignolas@univ-orleans.fr

2 R. Fichot et al.

increased cavitation resistance is one key component of species growing in drought-prone habitats (Kolb & Sperry 1999; Hacke, Sperry & Pittermann 2000; Pockman & Sperry 2000). A structural trade-off between xylem safety and xylem transport efficiency has for long been hypothesized and several studies have since supported such a trade-off (Martínez-Vilalta *et al.* 2002; Hacke *et al.* 2006; Hacke, Jacobsen & Pratt 2009). This may be explained according to the pit area hypothesis (Wheeler *et al.* 2005), species with more efficient xylem being more susceptible to cavitation because larger and longer conduits tend to have a greater pitted wall area; in turn, a greater pitted area may lead to a greater probability of having large pit membrane pores that are more prone to air seeding. However, results from other studies tend to indicate that the trade-off between xylem safety and efficiency may depend on species considered and life history (Maherali *et al.* 2004; Choat *et al.* 2007; Jacobsen *et al.* 2007; Pratt *et al.* 2007). In addition, several studies focusing on the relationships between cavitation resistance and xylem structural properties showed that increased resistance to cavitation comes at the cost of greater mechanical reinforcement. Such a relationship lies in the necessity for xylem tissue to resist stresses induced by higher negative hydrostatic pressures and has been shown to hold at the cell level (as inferred from conduit wall resistance to collapse), the tissue level (as inferred from wood density) and the organ level (as inferred from modulus of rupture and elasticity) (Hacke *et al.* 2001; Jacobsen *et al.* 2005, 2007; Pratt *et al.* 2007; Jacobsen *et al.* 2009). Finally, although resistance to cavitation may theoretically impose constraints on leaf gas exchange, few studies have directly addressed the relationship between cavitation resistance and leaf physiological traits related to water and CO₂ fluxes. For instance, increased cavitation resistance was found to be weakly associated with lower gas exchange rates and higher water-use efficiency (WUE) in a cross-species comparison of 14 temperate trees (Maherali *et al.* 2006).

Xylem resistance to cavitation has been found to adjust to different levels of irradiance (Cochard, Lemoine & Dreyer 1999; Lemoine, Jacquemin & Granier 2002; Barigah *et al.* 2006; Caquet *et al.* 2009), nutrients (Harvey & Van Den Driessche 1997, 1999; Ewers, Oren & Sperry 2000) or differences in soil porosity (Holste, Jerke & Matzner 2006). However, evidence for a direct effect of soil water availability on cavitation resistance remains surprisingly very poorly documented (Holste *et al.* 2006; Beikircher & Mayr 2009). Although increased xylem resistance to cavitation seems to be adaptive for species growing in drier environments, comparative studies may confound both genetic variability and phenotypic plasticity. In this context, common garden tests are valuable tools to separate the distinct effects of genetics and acclimation.

Poplar species (*Populus* spp.) and especially interspecific hybrids are known to be among the most superior trees under temperate latitudes in terms of growth rates (Heilman *et al.* 1996). However, this comes at the expense of large water requirements, and despite some degree of genetic variability, poplars are known to be very sensitive to

water deprivation (Braatne, Hinckley & Stettler 1992; Tschaplinski, Tuskan & Gunderson 1994; Monclus *et al.* 2006). Xylem resistance to cavitation has already been documented for pure poplar species (Sperry, Perry & Sullivan 1991; Tyree, Alexander & Machado 1992; Hacke & Sauter 1996; Sparks & Black 1999; Tognetti, Longobucco & Raschi 1999; Hukin *et al.* 2005) as well as for various interspecific hybrids (Cochard, Ridolfi & Dreyer 1996; Harvey & Van Den Driessche 1997, 1999; Cochard *et al.* 2007, 2008). All these studies demonstrated that although some variation does exist, poplars are among the most vulnerable tree species with cavitation events beginning as soon as xylem tension reaches the range of -1 to -1.5 MPa.

It is intriguing to test whether common associations between xylem resistance to cavitation and other physiological traits observed when comparing contrasting species still hold true when comparing populations of the same species or closely related genotypes. Here, we examined the relationships between stem xylem resistance to cavitation and 16 structural and functional traits related to water transport and carbon uptake under two contrasting water regimes using eight unrelated poplar genotypes but all issued from a unique hybrid formula *Populus deltoides* Bartr. ex Marsh. × *Populus nigra* L. The eight genotypes chosen were already known for differing in water use, growth behaviour and xylem anatomy (Monclus *et al.* 2005, 2006; Fichot *et al.* 2009). Cavitation measurements were performed on 1-year-old shoots using the Cavitron technique (Cochard *et al.* 2005). Saplings of the eight genotypes were grown in a two-plot common garden test, with one plot subjected to a moderate summer water deficit and the other one maintained irrigated throughout the growing season (control). The specific objectives of the study were to determine: (1) the extent of genotypic variation in cavitation resistance and whether water deficit induced acclimation; (2) whether cavitation resistance scaled with xylem traits associated to water transport efficiency and mechanical reinforcement; (3) whether cavitation resistance correlated with leaf traits associated with carbon and water fluxes; and (4) whether cavitation resistance was correlated with individual growth performances.

MATERIALS AND METHODS

Plant material and experimental design

Experiments were conducted in 2008, on a 250 m² coppice plantation of eight unrelated commercialized *P. deltoides* Bartr. ex Marsh × *P. nigra* L. genotypes ('*Agathe_F*', '*Cima*', '*Eco28*', '*Flevo*', '*I45-51*', '*Luisa_Avanzo*', '*Pannonia*' and '*Robusta*'). These eight genotypes were already previously selected for contrasting water use, growth performances and xylem anatomy (Monclus *et al.* 2006; Fichot *et al.* 2009). The plantation was located at the Institut National de la Recherche Agromanique (INRA) station of Genetic and Forest Research of Orléans, France (47°46' N, 1°52' E, 110 m above sea level). The field trial was set in June 2006 on a loamy sand soil (pH = 5.9) from 0.25-m-long hardwood

Xylem resistance to cavitation and water relations in poplar 3

Table 1. Monthly climate characteristics of the study site during the period of active growth

Month	Mean T (°C)	Cumulative P (mm)	Cumulative PET (mm)	P/PET	VPD (kPa)
May	15.86	60.0	75.0	0.80	1.57
June	17.53	13.0	66.2	0.20	1.63
July	18.29	36.5	80.9	0.45	2.00
August	18.34	76.5	48.9	1.56	1.58
September	13.59	8.0	35.9	0.22	1.51

Climate data were obtained from a nearby meteorological station located on the field trial. Mean T, mean temperature; cumulative P, cumulative precipitation; cumulative PET, cumulative potential evapotranspiration; P/PET, ratio of cumulative precipitation to cumulative potential evapotranspiration; VPD, water vapour pressure deficit.

cuttings without fertilizer addition. Two twin plots with north-south oriented rows were established 15 m apart from each other. Each plot consisted in five complete randomized blocks with three individuals of each genotype per block. Spacing within and between rows was 0.75 m × 1.20 m, respectively, accommodating an overall density of about 11 000 plants per hectare. A border row of the cv. *Mellone_Caro* was planted around each plot to minimize edge effects. Throughout each growing season, the plantation management included mechanical and manual weed control as well as irrigation. At the end of 2006 and 2007, all saplings were cut back to create a coppice system. In 2007 and 2008, bud flush occurred within the first two weeks of April for all individuals.

Environmental conditions and drought induction

Daily environmental conditions in terms of temperature (minimum, mean and maximum, T, °C), relative humidity (RH, %), potential evapotranspiration (PET, mm) and precipitations (P, mm) were recorded at a nearby meteorological station. A monthly vapour pressure deficit (VPD) was calculated using mean monthly temperature and RH to estimate actual vapour pressure, and mean monthly maximum temperature to estimate saturation vapour pressure as described in Martínez-Vilalta *et al.* (2009). Monthly values for climate data are given in Table 1 for the time period May–September, which corresponded roughly to the growing season.

In 2007 and 2008, from May to September, irrigation was performed using overhead sprinklers and was designed to meet evaporative demand (i.e. 4.5 mm of water were sprinkled every time cumulative PET reached 4 mm). In 2008, irrigation was withheld from one of the two plots from June 18 to the end of the growing season, while the second one was maintained irrigated (control). Thus, the not-irrigated plot only received rainfall precipitations.

Soil and plant water status

Water potentials were measured using a pressure chamber (PMS Instruments, Albany, OR, USA). Pre-dawn leaf water potential was used as an index of soil water potential and

was monitored over each plot from 18 June to 18 August (Ψ_{pd} , MPa) (see Table 2 for the definition of trait abbreviations used in this article). Measurements were performed on one individual per block for the three genotypes ‘*Agathe_F*’, ‘*Flevo*’ and ‘*Robusta*’ ($n = 5$ per genotype per plot). Minimum xylem water potential (Ψ_{xmin} , MPa) was measured on the main shoot of one individual of each genotype per block ($n = 5$ per genotype per plot) on 23 July 2008, which corresponded to the summer drought peak experienced by the plants in the field (see Fig. 1). To do this, fully mature leaves (foliar index 13–16) were covered with plastic film and a final layer of aluminium foil the evening preceding measurements. On the day of measurements, leaves were removed from plants between 11.00 AM and 13.00 PM local time, put in small plastic bags with moist

Table 2. List of abbreviations used in the text

Symbol	Definition	Units
Functional traits		
A	Leaf net CO ₂ assimilation rate	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
g_s	Stomatal conductance to water vapour	$\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
Δ	Bulk leaf carbon isotope discrimination	‰
Ψ_{50}	Water potential causing 50% loss of hydraulic conductance	MPa
Ψ_{12}	Water potential causing 12% loss of hydraulic conductance	MPa
Ψ_{88}	Water potential causing 88% loss of hydraulic conductance	MPa
Ψ_{pd}	Pre-dawn leaf water potential	MPa
Ψ_{xmin}	Minimum xylem water potential experienced	MPa
RGR	Relative growth rate	$\text{g g}^{-1} \text{day}^{-1}$
Structural traits		
A_v	Percentage of vessel lumen area per cross-sectional area	%
d_h	Hydraulic vessel diameter	μm
d	Mean vessel diameter	μm
$K_{S(t)}$	Theoretical xylem specific hydraulic conductivity	$\text{kg s}^{-1} \text{m}^{-1} \text{MPa}^{-1}$
n_v	Vessel density per cross-sectional area	mm^{-2}
ρ_{wood}	Wood density	g cm^{-3}
t_h	Double vessel wall thickness	μm
$(t/b)_h^2$	Thickness-to-span ratio	

4 R. Fichot et al.

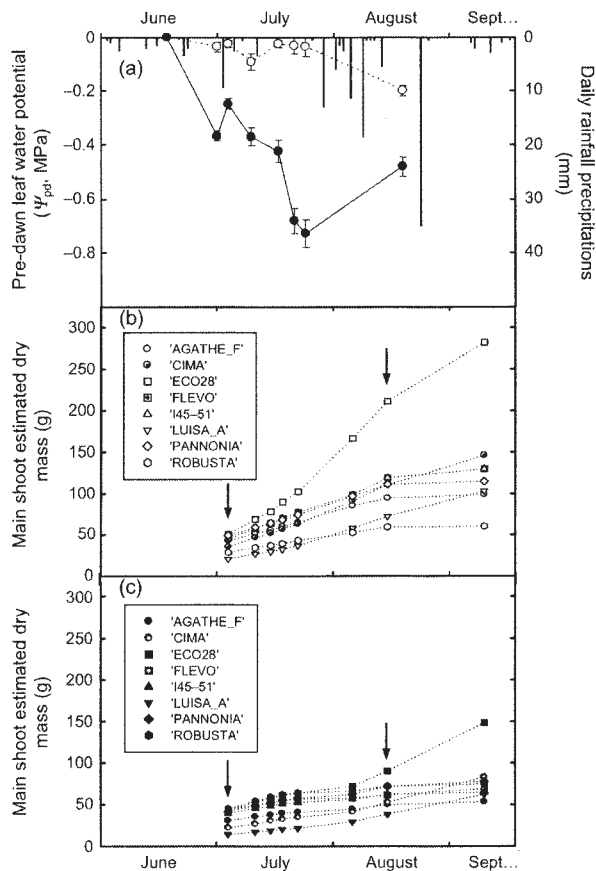


Figure 1. Seasonal dynamics of drought stress. (a) Summer time course of pre-dawn leaf water potential (Ψ_{pd} , MPa; circles) and daily rainfall precipitations (mm; vertical bars). Values of pre-dawn leaf water potential are means $\pm$ SE from 15 well-watered trees (open circles) and 15 drought-exposed trees (closed circles). (b and c) Summer growth kinetics of the main shoot in terms of estimated dry mass for well-watered and water deficit trees, respectively. Symbols are genotype means ($n = 5$); SE are not shown for figure clarity. Summer kinetics in terms of shoot dry mass were established from summer kinetics of shoot height increment and from allometric relationships established between shoot height and shoot dry mass for each genotype and each irrigation condition at the end of the growing season (see the Materials and Methods section for details). Arrows indicate the time interval chosen for the calculation of the main shoot relative growth rate.

towel, placed on ice and transported to a near laboratory where they were rapidly processed. The water potential of the wrapped (non-transpiring) leaves was assumed to equal the minimum xylem water potential.

Leaf gas exchange and carbon isotope discrimination

Net CO_2 assimilation rate (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and stomatal conductance to water vapour (g_s , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) were measured using a LI-6200 portable gas exchange system (Li-Cor Biosciences Inc., Lincoln, NE, USA). Measurements were

carried out over the two plots on 23 July, a cloudless day (average photosynthetic photon flux density during measurements of $1350 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), between 11.00 AM and 13.00 PM local time. Measurements were made on a fully illuminated young leaf, adjacent to the one used for Ψ_{min} ($n = 5$ per genotype per plot). Leaf temperature, VPD and average CO_2 concentration inside the chamber matched ambient conditions. The leaves were allowed to equilibrate inside the chamber for 20 s before measurements were taken.

Carbon isotope discrimination against ^{13}C (Δ) was used as a time-integrated surrogate of intrinsic WUE (Farquhar & Richards 1984). Samplings for Δ analyses were performed on 23 July on the same leaves that were used for leaf gas exchange measurements ($n = 5$ per genotype per plot). Six calibrated disks of leaf lamina (2 cm^2) were taken from each leaf and oven-dried at 60°C for 48 h. The six calibrated disks were ground to a fine powder for the analysis of leaf carbon isotope composition ($\delta^{13}\text{C}$). All analyses were performed at the technical platform of functional ecology at the INRA-Nancy (http://www.nancy.inra.fr/les_plateaux_techniques/ptef). One milligram subsamples of ground material were enclosed in tin capsules and combusted. The CO_2 produced by combustion was purified, and its $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ ratio was analysed with a Finnigan MAT Delta S isotope ratio mass spectrometer (IRMS) (Bremen, Germany) coupled to a Carlo Erba NA1500 elemental analyser (Carlo Erba Instruments, Milan, Italy). Carbon isotope composition was expressed relative to the Pee Dee Belemnite standard and was calculated as:

$$\delta^{13}\text{C} = [(R_{\text{sa}} - R_{\text{sd}})/R_{\text{sd}}] \times 1000 (\text{‰}) \quad (1)$$

where R_{sa} and R_{sd} are the $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ ratios of the sample and the standard, respectively (Farquhar, Ehleringer & Hubick 1989). The accuracy of $\delta^{13}\text{C}$ over the measurements was $\pm 0.14\text{‰}$. The discrimination between atmospheric CO_2 (δ_{air}) and plant material (δ_{plant}) was then calculated as:

$$\Delta = (\delta_{\text{air}} - \delta_{\text{plant}})/(1 + (\delta_{\text{plant}}/1000)), \quad (2)$$

assuming δ_{air} equals -8‰ (Farquhar *et al.* 1989).

Growth performances

The growth performance of the eight genotypes was described in terms of vigour of the main shoot [relative growth rate (RGR, $\text{g g}^{-1} \text{day}^{-1}$) and annual dry mass (g)] and in terms of total potential yield [annual total above-ground coppice dry mass (g)] which is both a function of the number of shoots per individual and of their vigour. The calculation of the main shoot RGR was performed by combining seasonal growth kinetics in terms of shoot height increment and allometric relationships established between shoot height and shoot dry mass at the end of the growing season. To this purpose, the height of the main shoot of each individual was measured to the nearest centimetre using a graduated height pole eight times from 4 July to 8

September 2008. At the end of the growing season, all living shoots of all individuals were harvested, measured to the nearest centimetre and oven dried (50 °C) until constant mass. The dry mass of each shoot was recorded to the nearest 0.5 g and was used to calculate annual total above-ground coppice dry mass at the individual level for each genotype. Allometric relationships between shoot height and shoot dry mass were then established for each genotype and each irrigation condition. The best fit was obtained with the following cubic equation: $Shoot_{DM} = aH^3 + bH^2 + cH$, where $Shoot_{DM}$ is the shoot dry mass and H is the shoot height; for all genotypes, regressions were significant at $P < 0.001$, and r^2 lied between 0.95 and 0.99. From these measurements (height increment and allometric relationships), seasonal growth kinetics (July–September) of the main shoots were established in terms of estimated dry mass (Fig. 1b,c). The main shoot RGR was then calculated as $RGR = [\ln(m_2) - \ln(m_1)]/\Delta t$, where m_1 and m_2 are the estimated shoot dry mass on 4 July and 14 August, respectively, and Δt is the time interval between the two dates (Cernusak, Winter & Turner 2009). This time interval was selected based on the fact that the trees from the irrigated plot were still under a period of active growth (Fig. 1b). Please note that the use of the term RGR throughout the paper actually refers to the RGR of the main shoot.

Xylem resistance to cavitation

Xylem resistance to cavitation was assessed during October 2008 from the main shoots already used for growth kinetics, Ψ_{xmin} , leaf gas exchange and Δ measurements ($n = 5$ per genotype per plot). An 80-cm-long stem segment was sampled in the half top part of each shoot, immediately wrapped in moist towel and enclosed in a black plastic bag to minimize dehydration. Stem segments were brought to the laboratory where they were stored for a maximum of 6 d at 4 °C until measurements were completed. We used the Cavitron technique (Cochard *et al.* 2005) to measure the vulnerability of stem xylem to water stress-induced cavitation. This technique uses the centrifugal force to increase the tension in a calibrated xylem segment while measuring variations in its hydraulic conductance at the same time. Calibrated samples of 0.7–0.8 cm in diameter and 28 cm in length were cut in air from the 80-cm-long segments and were air perfused at a pressure of 0.1 MPa (Cochard *et al.* 2005) before being set on the custom-built rotor and spun at given velocities. Maximal conductance (k_{max}) was determined by setting the xylem pressure to a reference value (−0.75 MPa); preliminary experiments showed that there was no significant difference in k_{max} when beginning at less negative Ψ -values than −0.75 MPa (data not shown). Afterward, xylem pressure was set to gradually more negative pressures by 0.25–0.50 MPa steps. For each new xylem pressure, the hydraulic conductance (k_{Ψ}) was measured at equilibrium and the percent loss of conductance (PLC) calculated as $PLC = 100 \times (1 - k_{\Psi}/k_{max})$. This procedure was repeated until PLC reached at least 90%. Rotor velocity was monitored with an electronic tachymeter (10 rpm

resolution). The dependence of PLC upon xylem pressure was used to generate VCs for each stem segment, which were fit to the following sigmoid function (Pammenter & Vander Willigen 1998):

$$PLC = 100/(1 + \exp(s/25 \times (\Psi - \Psi_{50}))), \quad (3)$$

where Ψ_{50} is the xylem tension causing 50% loss of conductance and s is the slope parameter. Values of Ψ_{50} were used to compare resistance to cavitation among genotypes, while s is representative of the range of xylem tension over which cavitation occurs. Using the Eqn 3 and the values of Ψ_{50} and s , we derived the xylem tension causing 12 and 88% loss of conductance for each sample (Ψ_{12} and Ψ_{88} , respectively), assumed to represent the xylem tension at the onset and the offset of cavitation, respectively (Sparks & Black 1999; Domec & Gartner 2001). Values of Ψ_{12} , Ψ_{50} , Ψ_{88} and s were then averaged for each genotype. To assess the degree of xylem safety against drought-induced embolism, a safety margin was calculated as the difference between Ψ_{12} and Ψ_{xmin} . Please note that Ψ_{12} , Ψ_{50} and Ψ_{88} are reported as negative values throughout the paper.

Vessel anatomy and hydraulic efficiency

Measurements of anatomical parameters were performed on the same stem segments which were already used for cavitation measurements ($n = 5$ per genotype per plot). Stem cross sections 30 μ m thick were obtained with a hand microtome (RM 2155, Leica Microsystems, Vienne, Austria), stained with toluidine blue 0.1% (w : v), flushed with clean acetic water to improve contrast and avoid staining diffusion, and embedded in a glycerol-like medium. Stained sections were examined under a light microscope (Leica DMR) coupled with a Leica DFC 320 digital camera. For vessel diameter and vessel density analyses, observations were made on two opposite radial sectors that were most representative for the whole cross section. Images at 100 $\times$ magnification were taken of wedge-shaped sectors, using vascular rays as the borders, to sample for vessels from pith to cambium. All of the vessels in sectors were counted so that at least 150 vessels per stem were measured. Image analysis was performed using the image analysis software Visilog 6.3 (Noesis, St Aubain, France). Vessel diameters (d , μ m) were calculated from vessel areas as the diameter of an equivalent circle. Vessel density (n_v , mm^{−2}) was calculated as the ratio of vessel number to xylem area. From all vessel counts, a mean vessel diameter (d_{mean} , μ m) was calculated for each stem. The percentage transverse area of vessel lumen (A_v , %) was also estimated for each stem. To take into account the disproportionate contribution of large vessels to total flow, a hydraulic vessel diameter (d_h , μ m) was derived from the formula $d_h = (\sum d^5)/(\sum d^4)$ (Sperry *et al.* 1994). The theoretical xylem specific hydraulic conductivity ($K_{S(t)}$, kg s^{−1} m^{−1} MPa^{−1}) was calculated based on the sampled vessels using Hagen–Poiseuille law for ideal capillaries and assuming laminar flow as $K_{S(t)} = (\pi\rho/128\eta A_{image}) \times \sum d^4$ where ρ is the density of water at 20 °C

6 R. Fichot et al.

(998.2 kg m^{-3}), η is the viscosity of water at 20°C ($1.002 \times 10^{-9} \text{ MPa s}$) and A_{image} is the area of the images analysed for vessel counts (m^2) (Santiago *et al.* 2004). Experiments have shown that the xylem specific hydraulic conductivity is accurately modelled by the Hagen–Poiseuille equation, although overestimated (Santiago *et al.* 2004; Choat *et al.* 2007).

Xylem mechanical properties

Measurements of xylem mechanical properties were performed on the same stem segments as those used for cavitation measurements ($n = 5$ per genotype per plot). Xylem density was measured following an adapted protocol from Hacke *et al.* (2000). Samples 4-cm-long were taken from the base of each stem segment, placed in a vial of deionized water and allowed to equilibrate at room temperature for c. 48 h. The samples were split longitudinally, and the pith, phloem and epidermis were removed with a razor blade. Fresh volume of the sample was determined by Archimedes' principle. The samples were submerged, displacement weight was recorded on an analytical balance and was converted to stem fresh volume, correcting for the density of water at 20°C (0.998 g cm^{-3}). The samples were then oven-dried at 70°C until constant mass (typically 48 h), and wood density (ρ_{wood} , g cm^{-3}) was calculated as the ratio of dry mass to fresh volume. The vessel 'thickness to span ratio' $(t/b)_h^2$, was used as anatomical proxy for vessel wall reinforcement against collapse (Hacke *et al.* 2001). Estimates of $(t/b)_h^2$ were obtained from images taken at $200\times$ magnification from the cross sections used for xylem anatomy. The $(t/b)_h^2$ was determined for vessels pairs in which at least one of the vessels fell within $\pm 8 \mu\text{m}$ of the calculated d_h ($n = 10\text{--}30$ per stem); we chose a margin of $\pm 8 \mu\text{m}$ rather than the commonly used margin of $\pm 3 \mu\text{m}$ (Hacke *et al.* 2001) because of the low number of vessel pairs that fell within $\pm 3 \mu\text{m}$ of the d_h . The t represented the double wall thickness of the vessel pair (μm) and was measured directly on the images; the b represented the width of the conduit (μm) and was taken as the diameter of the vessel obtained from the equivalent area. Please note that t is thereafter indexed t_h as it refers to measurements made on vessel pairs falling in the range of d_h .

Statistical analyses

Data management and statistical analyses were carried out with the statistical software SPSS 11.0 (SPSS, Chicago, IL, USA). Data were found to meet the assumptions of homoscedasticity and normality distribution of residuals. Statistical tests were considered significant at $P < 0.05$. Means are expressed with their standard error.

For the analysis of block effects, the following model of analysis of variance was used: $Y_{ij} = \mu + B_i + \varepsilon_{ij}$ where μ is the general mean, B_i is the effect of block i considered as fixed and ε_{ij} is the residual. For each trait, B_i was calculated as the difference between the mean of each block and the general mean over the eight genotypes (Marron *et al.* 2006). Global

genetic variations and effect of water deficit were then evaluated using the following full-factorial model: $Y_{ijk} = \mu + G_i + T_j + (G_i \times T_j) + \varepsilon_{ijk}$ where Y_{ijk} refers to individual values adjusted to the block effects, μ is the general mean, G_i is the effect of genotype i considered as random, T_j is the effect of treatment j considered as fixed, $(G_i \times T_j)$ is the interaction between the two factors and ε_{ijk} is the residual.

Linear regression analysis and Pearson's correlation coefficients were used to characterize relationships between pairs of continuous variables. Correlations were computed at the genotype level and under the two separate irrigation regimes to investigate the effect of water deficit on trait relationships.

RESULTS

Time course of the drought experiment

From mid-June to mid-August, Ψ_{pd} remained above -0.20 MPa on the control plot, while a progressive drop was recorded on the non-irrigated plot with a peak reaching -0.75 MPa on 24 July (Fig. 1a). The rainfall precipitations that occurred by the end of July should have been responsible for the increase in Ψ_{pd} within non-irrigated plants. The comparison of Ψ_{pd} values between blocks of each plot revealed no significant spatial differences for each date of measurement. From these observations, we concluded that the water deficit was moderate, long-lasting (several weeks) and homogeneous.

Seasonal growth kinetics in terms of dry mass for the main shoot (Fig. 1b,c) were established for each genotype and each irrigation condition by combining seasonal height kinetics (data not shown) and allometric relationships between shoot height and shoot dry mass established at the end of the growing season (data not shown). The main shoots of all genotypes on the well-irrigated plot underwent a phase of approximately linear growth between 4 July and 14 August (Fig. 1b); growth was progressively slowed down on the not-irrigated plot (Fig. 1c).

Xylem resistance to cavitation, Ψ_{xmin} and safety margins

Regardless of the irrigation regime, the VCs established using the Cavitron technique were well fitted to the logistic equation ($r > 0.99$) with the exception of 'I45-51' ($r > 0.96$; Fig. 2). Under well-watered conditions, Ψ_{12} , Ψ_{50} and Ψ_{88} differed significantly among the eight genotypes ($P < 0.001$). The xylem tension corresponding to 50% loss in hydraulic conductance (Ψ_{50}) varied from -1.6 MPa to -2.4 MPa for 'Robusta' and 'Eco28', respectively (Fig. 2). The slope value exhibited less genotypic variations ($P = 0.045$) than did Ψ_{12} , Ψ_{50} and Ψ_{88} ; variations were mainly driven by 'I45-51' which exhibited a steadier increase in PLC than the other genotypes (Fig. 2). There was no trend for more negative Ψ_{50} to be associated with lower slopes ($r = -0.35$, $P = 0.396$). A significant 'genotype by treatment' interaction was recorded for Ψ_{12} , Ψ_{50} and Ψ_{88} ($P < 0.010$): 'Agathe_F',

Xylem resistance to cavitation and water relations in poplar 7

'Pannonia' and 'Robusta' were found to exhibit more negative Ψ_{50} values in response to drought ($P < 0.01$), while the other five genotypes did not respond significantly (Fig. 2). Water deficit did not affect significantly the slopes of the VCs regardless of the genotype (Fig. 2).

The minimum xylem water potential ($\Psi_{\min}$) varied from -0.8 to -1.0 MPa for well-irrigated trees and from -1.2 to -1.3 MPa for drought-exposed trees, so that the differences between genotypes were not significant within each irrigation regime ($P = 0.757$ and 0.975 , respectively, Fig. 3). As a consequence, variations observed in safety margins were essentially driven by differences in Ψ_{12} ($r > 0.97$, $P < 0.001$ in both water regimes). Under well-watered conditions, the safety margins ranged from 0.98 MPa for 'Eco28' to -0.02 MPa for 'I45-51'. Under water deficit, the safety margins were significantly reduced for 'Eco28' and 'Luisa_Avanzo' only, and ranged from 0.66 MPa for 'Cima' to -0.05 MPa for 'I45-51'.

Growth performances, leaf gas exchange and carbon isotope discrimination

Under well-watered conditions, the main shoot RGR, the main shoot annual dry mass and the annual total above-ground coppice dry mass varied significantly among the eight genotypes from 0.016 to 0.034 g g⁻¹ day⁻¹, from 60 to 282 g and from 211 to 670 g, respectively ($P < 0.001$; Figs 1b & 4). Noticeably, 'Eco28' displayed higher RGR and main shoot dry mass than its counterparts (Fig. 4a,b). A significant 'genotype by treatment' interaction was recorded for RGR only ($P < 0.001$). Except for 'Robusta', genotypes exhibited a drought-induced decrease in RGR ($P < 0.050$) that ranged from 22% for 'Luisa_Avanzo' to 68% for 'Flevo' (Figs 1c & 4a). Although most of the genotypes exhibited a reduced RGR and a reduced main shoot annual dry mass in response to water deficit, the annual total above-ground coppice dry mass was not significantly affected. A significant and positive correlation was detected between the RGR and the main shoot annual dry mass under well-watered conditions ($r = 0.76$, $P = 0.028$), but this relationship did not hold anymore under water deficit ($r = 0.17$, $P = 0.693$). RGR tended to scale positively with annual above-ground coppice dry mass under well-watered conditions ($r = 0.65$, $P = 0.081$), but the relationship broke down under water deficit ($r = 0.50$, $P = 0.211$). In both water regimes, the main shoot annual dry mass did not correlate with the annual total above-ground coppice dry mass ($r \leq 0.32$, $P > 0.400$). Regardless of the irrigation regime, the number of shoots per individual correlated negatively with the main shoot annual dry mass ($r > -0.94$, $P < 0.050$) but not with the RGR or the annual total above-ground coppice dry mass ($r \leq 0.18$, $P > 0.650$).

For well-irrigated trees, g_s and net CO₂ assimilation rate (A) ranged from 359 to 690 mmol m⁻² s⁻¹ and from 13.5 to 18.1 μ mol m⁻² s⁻¹, respectively (Fig. 5a,b). In response to summer water deficit, no significant 'genotype by treatment' interactions were detected for g_s and A , which were reduced on average by 87 and 56% , respectively ($P < 0.001$). g_s and

A were not significantly correlated under well-watered conditions ($r = 0.45$, $P = 0.259$), while they scaled positively under water deficit conditions ($r = 0.86$, $P = 0.006$). Bulk leaf carbon isotope discrimination (Δ) spanned from 19.8 to 21.3‰ for well-watered plants (Fig. 5c). Values of Δ were lower under water deficit but the extent of the decrease was genotype dependent as attested by the significant 'genotype by treatment' interaction ($P = 0.003$); for instance, Δ was reduced by 1.3‰ in 'Luisa_Avanzo' and by 3.3‰ in 'Cima'. Regardless of the irrigation regime, genotypic variations in Δ were mainly driven by genotypic variations in g_s ($r = 0.62$, $P = 0.103$ under well-watered regime and $r = 0.73$, $P = 0.039$ under water deficit) rather than by variations in A ($r = -0.08$, $P = 0.860$ under well-watered regime and $r = 0.51$, $P = 0.195$ under water deficit). Whatever the irrigation regime, no significant correlation could be observed between growth variables and either leaf gas exchange rates or Δ , as already reported by Monclus *et al.* (2006) on the same set of genotypes under comparable environment.

Xylem anatomy and mechanical properties

Significant differences between the eight genotypes were found under well-watered conditions for all anatomical and mechanical traits ($P < 0.020$). For instance, d_{mean} and $K_{S-(t)}$ varied from 34 to 42 μ m and from 14.0 to 21.1 kg s⁻¹ m⁻¹ MPa⁻¹ (Fig. 6). Wood density (ρ_{wood}) and $(t/b)_h^2$ varied in narrow range from 0.33 to 0.41 g cm⁻³ and from 0.005 to 0.008 , respectively (Fig. 6d,e). A significant 'genotype by treatment' interaction was recorded for all variables ($P < 0.050$). When genotypes were found to respond significantly, the expected adjustments occurred, that is, traits related to hydraulic capacity (d_{mean} , d_h and $K_{S-(t)}$) were decreased, while vessel density (n_v) and traits related to mechanical reinforcement (ρ_{wood} , t_h and $(t/b)_h^2$) were increased (Fig. 6). Vessel lumen area (A_v) was not significantly affected by drought regardless of the genotype (Fig. 6). In both water regimes, d_{mean} and n_v varied negatively with each other ($r = -0.97$ and -0.88 , $P < 0.001$ and $P = 0.004$, respectively). Under well-watered conditions only, ρ_{wood} increased with decreasing d_h and $K_{S-(t)}$ ($r = -0.80$ and -0.86 , $P = 0.017$ and 0.004 , respectively). In both water regimes, variations in $(t/b)_h^2$ were mainly driven by differences in d_h ($r = -0.64$ and -0.93 , $P = 0.086$ and 0.001 , respectively) rather than in t_h ($r = 0.37$ and -0.47 , $P = 0.362$ and 0.240 , respectively). Regardless of the irrigation regime, ρ_{wood} correlated neither with t_h nor with $(t/b)_h^2$.

Relationships between xylem cavitation resistance, structural and functional traits

At the tissue level, no significant correlation could be detected between Ψ_{50} and vessel traits related to hydraulic efficiency ($K_{S-(t)}$, d_{mean} , A_v), regardless of the irrigation regime (Fig. 6a–c). A negative correlation was detected between Ψ_{50} and t_h under well-watered condition, while no correlation could be observed with other traits related to

8 R. Fichot et al.

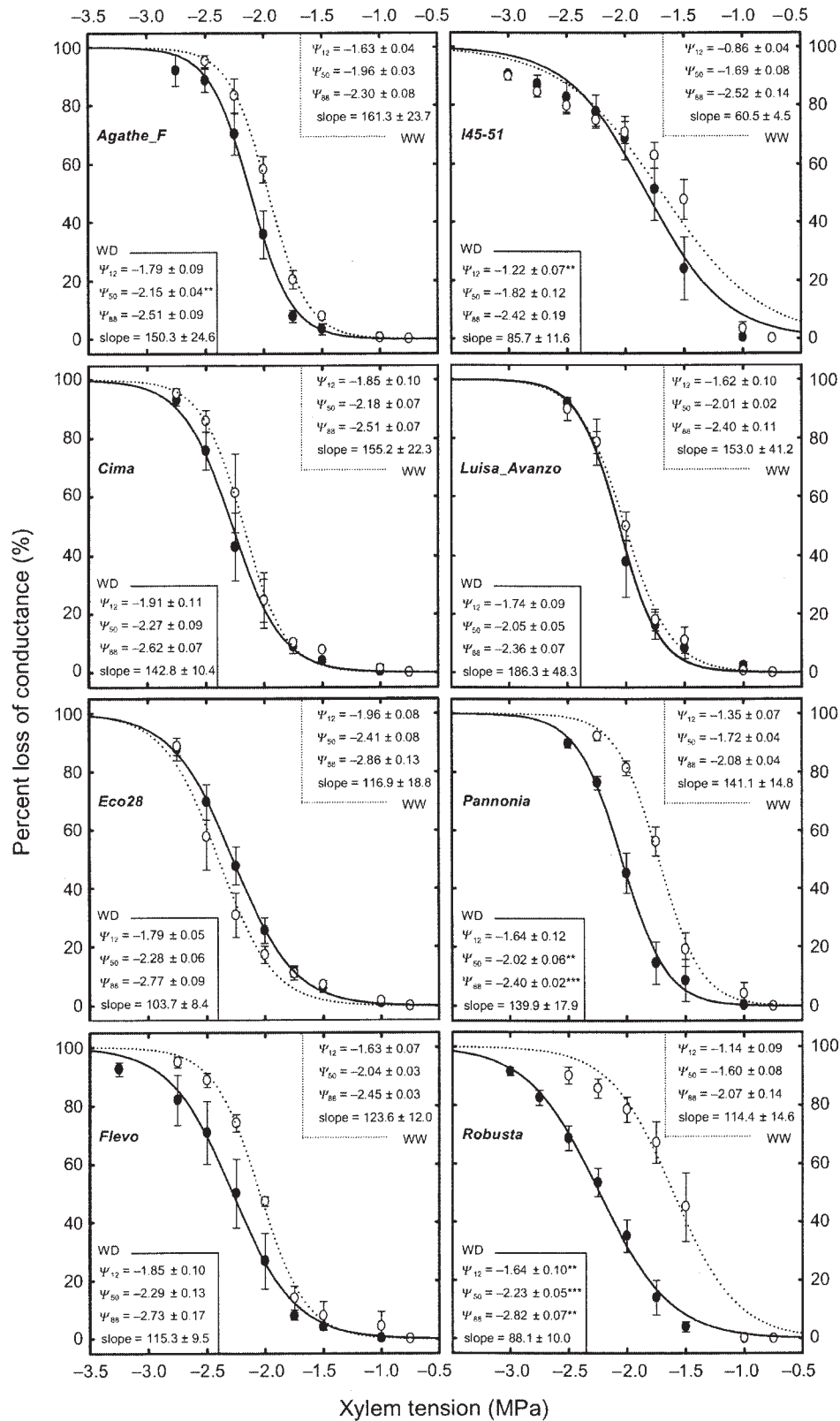


Figure 2. Stem xylem vulnerability curves (percent loss of hydraulic conductance versus xylem tension) for well-watered trees (WW, dotted lines, open circles) and drought-exposed trees (WD, solid line, closed circles) of the eight *Populus deltoides* × *Populus nigra* genotypes. Lines are logistic fits to the data and error bars correspond to SE ($n = 3$ to 5). Values of Ψ_{12} , Ψ_{50} , Ψ_{88} (xylem tension at 12, 50 and 88% loss of hydraulic conductance, respectively) and slope are means $\pm$ SE for each irrigation regime. Asterisks indicate significant differences between well-watered and water deficit conditions. Levels of significance are: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

xylem biomechanics (ρ_{wood} and $(t/b)_h^2$, Fig. 6d–f). At the leaf level, Ψ_{50} scaled significantly and positively with g_s under well-watered regime; the relationship broke down under water deficit (Fig. 5a). No relationship could be found between Ψ_{50} and A whatever the irrigation condition (Fig. 5b). Similarly, no significant correlation could be detected between Ψ_{50} and Δ , except under water deficit conditions where Ψ_{50} tended to scaled positively with Δ ($P = 0.062$, Fig. 5c). At the whole-plant level, Ψ_{50} varied negatively with the main shoot RGR and the main shoot annual dry mass under optimal irrigation, but no significant correlation was observed between Ψ_{50} and annual total above-ground coppice dry mass (Fig. 7). Under water deficit, Ψ_{50} did not correlate with any of the three traits related to growth performance (Fig. 7).

DISCUSSION

Genotypic variation and drought-induced plasticity in xylem resistance to cavitation

Poplar species are known to be extremely vulnerable to drought-induced cavitation, a trend consistent with their

pioneer behaviour and their tight requirements upon water availability. None of the eight *P. deltoides* × *P. nigra* genotypes appeared to be an exception to this paradigm since all genotypes had a fully embolized xylem as soon as xylem tension approached -3 MPa. This is in line with data already published for pure poplar species (Sperry *et al.* 1991; Hacke & Sauter 1996; Tognetti *et al.* 1999; Hukin *et al.* 2005) and various hybrids (Cochard *et al.* 1996; Harvey & Van Den Driessche 1997, 1999; Cochard *et al.* 2007; Coleman *et al.* 2008). However, Ψ_{50} (a proxy of cavitation resistance) varied significantly among the eight genotypes from -1.60 MPa for the least resistant ('Robusta') to -2.40 MPa for the most resistant one ('Eco28'). It may be worth mentioning that this consistent range of variation cannot be attributed to intraspecific variation strictly speaking since the eight genotypes resulted from unrelated interspecific hybridization.

We found direct evidence for drought-induced acclimation of xylem resistance to cavitation, trees grown under limited water availability exhibiting a lower Ψ_{50} and thus a safer xylem. This is consistent with other very few reports (Holste *et al.* 2006; Beikircher & Mayr 2009; Brodrick & Cochard 2009). This is also consistent with interspecific comparisons showing that taxa growing in drier habitats tend to exhibit a safer xylem (Hacke *et al.* 2000; Pockman & Sperry 2000), although such studies may confound both genetic variations and phenotypic plasticity. However, it must be noted that acclimation was clearly apparent for only three genotypes, suggesting the extent of phenotypic plasticity is largely genotype dependent. Among the genotypes that were found to respond significantly, Ψ_{50} was decreased by as much as 0.60 MPa in the genotype 'Robusta'. Interestingly, this range of variation was almost as high as that observed when comparing genotypes under adequate water supply.

Xylem resistance to cavitation and structural properties

The xylem tension corresponding to the onset of embolism (the Ψ_{12} in our study) is primarily dictated by the frequency of rare, leaky pits in the pit membrane (Christman, Sperry & Adler 2009), while the distribution of cavitation events across a range of xylem tensions (estimated through the slope parameter) may be more determined by the range of pore sizes. Except for 'I45-51', the genotypes differed more in Ψ_{12} than in the slope of their VC's, so that we can hypothesize that differences in xylem resistance to cavitation must originate mainly from size differences in these rare big pores at inter-vessel junctions. In addition, drought-acclimated plants tended to be more resistant to cavitation

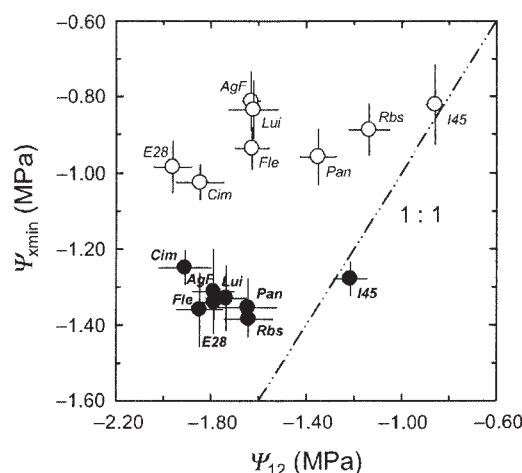


Figure 3. Relationship between minimum xylem water potential experienced in the field (Ψ_{min}) and water potential at 12% loss of hydraulic conductance (Ψ_{12}) for well-watered trees (open circles) and drought-exposed trees (close circles) of *Populus deltoides* × *Populus nigra*. Values are means $\pm$ SE ($n = 3$ to 5). The difference between Ψ_{12} and Ψ_{min} was taken as a safety margin against drought-induced xylem embolism. The dashed line indicates the 1:1 relationship. Genotype abbreviations (well-watered, not bold; water deficit, bold): AgF, 'Agathe_F'; Cim, 'Cima'; E28, 'Eco28'; Fle, 'Flevo'; I45, 'I45-51'; Lui, 'Luisa_Avanzo'; Pan, 'Pannonia'; Rbs, 'Robusta'.

10 R. Fichot et al.

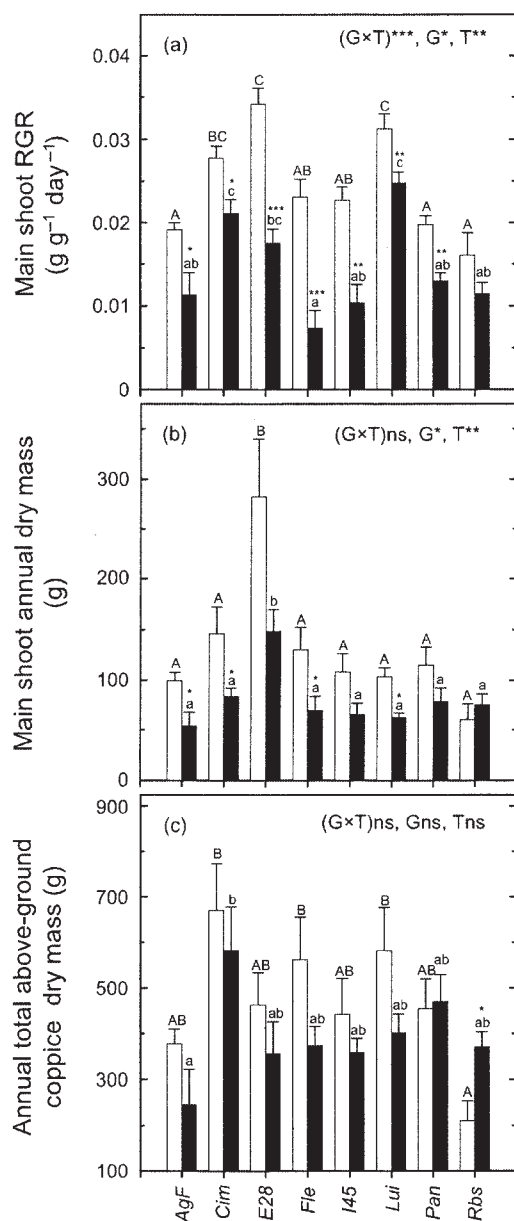


Figure 4. Growth characteristics for the eight *Populus deltoides* × *Populus nigra* genotypes grown under well-watered (open bars) or water deficit (close bars) conditions. Values are shown for the main shoot relative growth rate (RGR) (a), the main shoot annual dry mass (b) and the annual total above-ground coppice biomass (c). Values are means ± SE ($n = 5$). Significance of the main effects of the two-way analysis of variance is given (G, genotype effect; T, treatment effect; G × T, genotype by treatment interaction). Different letters indicate significant differences (Tukey's post hoc test); upper case letters are for well-watered trees, lower case letters are for drought-exposed trees. Levels of significance are: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. ns, non significant. Genotype abbreviations are as in Fig. 3.

(more negative Ψ_{12} and Ψ_{50}), but the slopes of the VCs were not significantly affected. The exact mechanism by which xylem resistance to cavitation acclimates to soil water deficit remains to be explained, but it is likely that water deficit exerts primarily its control through the alteration of the developmental pattern of the primary cell wall deposition during vessel ontogeny. Investigating pit membrane characteristics of a limited number of genotypes with

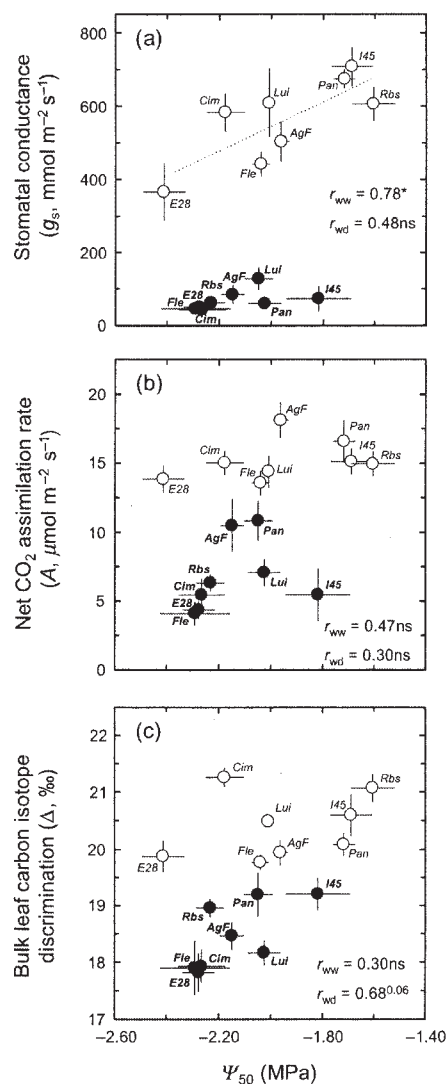


Figure 5. Relationships between xylem resistance to drought-induced embolism estimated as the tension causing 50% loss in hydraulic conductance (Ψ_{50}) and leaf functional traits for well-watered trees (open circles, dashed lines) and drought-exposed trees (close circles, solid lines). (a) Relationships with stomatal conductance; (b) relationships with net CO₂ assimilation rate; (c) relationships with bulk leaf carbon isotope discrimination. Values are means ± SE ($n = 3$ to 5). Pearson's coefficients are given for each irrigation regime (r_w , well-watered; r_d , water deficit). Levels of significance are: * $P < 0.05$, ns, non significant. Pearson's coefficients with P -value comprised between 0.05 and 0.1 are given in exponent. Genotype abbreviations are as in Fig. 3.

Xylem resistance to cavitation and water relations in poplar 11

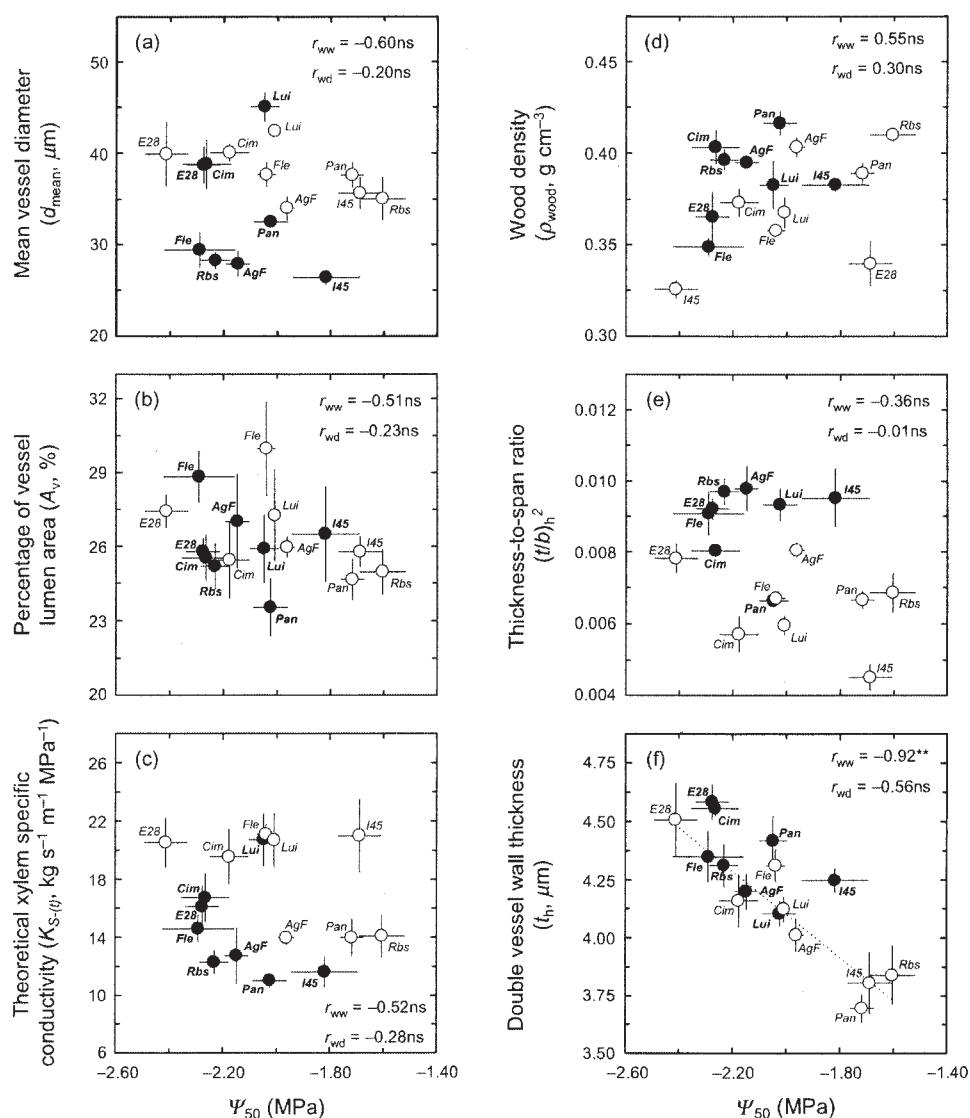


Figure 6. Relationships between xylem resistance to drought-induced embolism estimated as the tension causing 50% loss in hydraulic conductivity (Ψ_{50}) and xylem structural traits related to water transport capacity (a to c) or mechanical reinforcement (d to f) for well-watered trees (open circles, dashed lines) and drought-exposed trees (close circles, solid lines). Values are means $\pm$ SE ($n = 3$ to 5). Pearson's coefficients are given for each irrigation regime (r_{ww} , well-watered; r_{wd} , water deficit). Levels of significance are: $^{**}P < 0.01$, ns, non-significant. Genotype abbreviations are as in Fig. 3.

contrasting response to drought would be valuable to yield insights into the anatomical basis of drought-induced plasticity of cavitation resistance.

There did not appear to be a trade-off between xylem safety and xylem transport efficiency (estimated through d_{mean} , d_h , A_v and $K_{S(t)}$) across the eight genotypes. The absence of a safety versus efficiency trade-off is consistent with the air-seeding hypothesis which relates drought-induced embolism to pit membrane properties and contact area between vessels rather than directly to the diameter of the xylem conduits (Choat *et al.* 2003; Wheeler *et al.* 2005; Jansen, Choat & Pletsers 2009). However, we estimated xylem transport efficiency by measuring vessel features

from xylem cross sections so that possible hydraulic limitations resulting from pit membrane resistance were not accounted for, possibly masking a trade-off between hydraulic safety and efficiency.

In addition to transporting water efficiently while avoiding cavitation, the xylem conduit network must also bear mechanical stresses imposed by negative sap pressures. Values of ρ_{wood} and $(t/b)_h^2$ were in the range of those already found for poplars and willows (Cochard *et al.* 2007). As expected from theory, ρ_{wood} should be a function of $(t/b)_h^2$ (Hacke *et al.* 2001), but the two parameters were not found to correlate in our data set which may be partly explained by the rather low range of variations found for these traits.

12 R. Fichot et al.

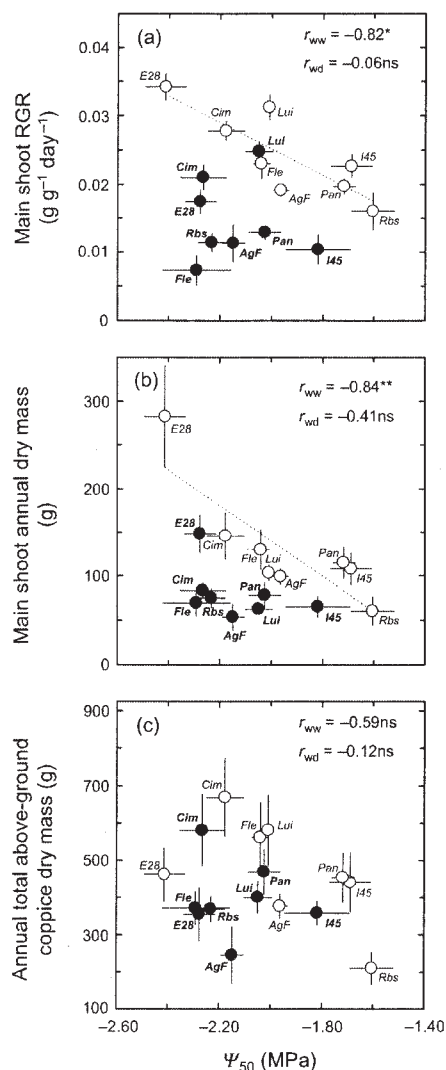


Figure 7. Relationships between xylem resistance to drought-induced embolism estimated as the tension causing 50% loss in hydraulic conductance (Ψ_{50}) and growth determinants for well-watered trees (open circles, dashed lines) and drought-exposed trees (close circles, solid lines). (a) Relationships with the main shoot relative growth rate (RGR); (b) relationships with the main shoot annual dry mass; (c) relationships with the annual total above-ground coppice biomass. Values are means $\pm$ SE ($n = 3$ to 5). Pearson's coefficients are given for each irrigation regime (r_{ww} , well-watered; r_{wd} , water deficit). Levels of significance are: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, ns, non-significant. Genotype abbreviations are as in Fig. 3.

There was no clear evidence for increased cavitation resistance to be related to a greater degree of mechanical strength at the tissue level (as inferred from ρ_{wood}); this finding contrasts with the trade-off frequently observed at the interspecific level between cavitation resistance and bulk xylem density (Hacke *et al.* 2001; Jacobsen *et al.* 2005, 2007; Pratt *et al.* 2007; Jacobsen *et al.* 2009). There was no more clear evidence for increased cavitation resistance to

be related to a greater degree of mechanical strength at the cellular level (as inferred from $(t/b)_h^2$). Thus, although xylem resistance to cavitation and $(t/b)_h^2$ have been found to co-vary both across gymnosperm and angiosperm species (Hacke *et al.* 2001), our results suggest that the two parameters can be at least partially uncoupled at narrower scales. Actually, the two parameters are not functionally related since air seeding of cavitation and collapsing stresses relate to different wall regions. Because vessel collapse is a threshold-type response, vessels should be safe from implosion as long as $(t/b)_h^2$ remains above the implosion threshold. Therefore, the maintenance of a constant safety factor from implosion may not be required among all genotypes. The additional role of the fibre matrix for supporting vessel walls against implosion should further complicate the analysis (Jacobsen *et al.* 2005). For instance, increased fibre wall thickness has been shown to correlate with cavitation resistance across distantly related taxa (Jacobsen *et al.* 2005, 2007) as well as across willow and poplar clones (Cochard *et al.* 2007).

We found a strong relationship between the double vessel wall thickness (t_h) and resistance to cavitation, genotypes exhibiting a thicker double wall being more resistant. This relationship tended to be conserved under water deficit. A recent study across *Prunus* species reported similar results (Cochard *et al.* 2008). The reason for such a relationship may relate to co-variation between pit membrane properties and wall thickness. For instance, recent anatomical observations using electron microscopy indicated that reduced porosity (and possibly increased resistance to cavitation) may be achieved through greater pit membrane thickness, which in turn is correlated with greater wall thickness (Jansen *et al.* 2009).

Xylem resistance to cavitation, minimum xylem water potential and leaf function

Within each separate water regime, Ψ_{xmin} varied in a narrower range compared to Ψ_{l2} so that predicted safety margins varied considerably among genotypes. Thus, the genotypes did not systematically exploit the gain in xylem safety by operating at more negative Ψ_{xmin} . The more general comparison of minimum Ψ_{l2} along with Ψ_{xmin} showed that Ψ_{xmin} was always constrained to values close to or less negative than predicted cavitation thresholds. This was true regardless of the water regime, although values of minimum Ψ_{xmin} were more negative under water deficit. These results are consistent with the general view that when soil water availability is not excessively low, adequate stomatal regulation along with the intrinsic properties of the soil-to-leaf hydraulic pathway contributes to the maintenance of Ψ_{xmin} within a range of functional water potentials (Sparks & Black 1999; Brodribb *et al.* 2003; Meinzer *et al.* 2009). A tight control of Ψ_{xmin} in order to prevent the risk of catastrophic runaway embolism must be particularly relevant for the genotypes studied since most of them exhibited VCs with steep slopes. It is noteworthy that the only

one genotype that was found to operate at xylem water potentials close to cavitation thresholds ('145-51') was the one that exhibited the least steep increase in PLC. In this case, loss of a proportion of the conducting tissue may be less catastrophic and may even be beneficial in terms of maximizing total plant water flux and short-term carbon uptake (Jones & Sutherland 1991; Pammenter & Vander Willigen 1998; Sparks & Black 1999).

Our results revealed that g_s increased with decreasing xylem safety under well-watered conditions, consistently with what was observed across 14 temperate species (Maherali *et al.* 2006). However, there is *a priori* no functional reason for cavitation resistance to directly impose limits to gas exchange when water is not limiting, unless increased cavitation resistance co-varies with other plant hydraulic parameters that constrain gas exchange. Considering the well-supported Ohm's law analogy for water flow in plants, the maximum g_s that plants can achieve is ultimately constrained by the leaf area-specific whole-plant hydraulic conductance (k_{plant}) (Tyree & Ewers 1991; Meinzer 2002; Tyree & Zimmermann 2002). Therefore, a more general trade-off between vulnerability to cavitation and water transport efficiency at the whole-plant level, rather than just within specific organs, could explain the relationship observed between xylem resistance to cavitation and g_s (Maherali *et al.* 2006).

Provided that photosynthetic capacity is determined by stomatal limits to CO_2 diffusion (Wong, Cowan & Farquhar 1979), a relationship between Ψ_{50} and photosynthetic rate would be expected under well-watered conditions as a consequence of an indirect g_s -mediated effect. However, A and g_s did not correlate significantly in our data set so that variations in Ψ_{50} were not perfectly mirrored by variations in A . This merely resulted from the fact that, under optimal irrigation, A was close to A_{max} and was no longer constrained by g_s . Nevertheless, the lack of relationship between cavitation resistance and photosynthetic capacity was further confirmed by the fact that other leaf traits associated with carbon uptake such as specific leaf area and nitrogen content did not correlate with Ψ_{50} (data not shown).

There was no clear relationship between Ψ_{50} and Δ , although variations in Δ were clearly driven by g_s rather than by A . Martínez-Vilalta *et al.* (2009) reported a weak positive relationship between Ψ_{50} and Δ across populations of Scots pine, while Maherali *et al.* (2006) found no significant correlation across 14 temperate species. In contrast, Ducrey *et al.* (2008) reported a strong and negative relationship between Ψ_{50} and Δ . Irrespective of the study scale (interspecific versus intraspecific), it seems therefore that the functional coordination between cavitation resistance and the economics of leaf gas exchange is unclear. In fact, the direction and the strength of the correlation between the two parameters are likely to depend on (1) which of photosynthetic capacity versus g_s drives the variations in Δ and (2) to what extent and in which way cavitation resistance can be related to other aspects of whole-plant hydraulics that constrain leaf water fluxes.

Xylem resistance to cavitation and growth performances

Increased xylem cavitation resistance is often thought to come at the expense of reduced plant growth. Such a trade-off is expected if increased cavitation resistance lies in the necessity to build a denser wood with thicker cell walls, a feature supposed to be costly in terms of carbon allocation (Enquist *et al.* 1999). Several recent studies have provided evidence in support to this hypothesis across willow and poplar hybrids (Wikberg & Ögren 2004; Cochard *et al.* 2007). However, our results do not fit at all with this concept since the more cavitation-resistant genotypes grew faster, as attested by the negative correlation between Ψ_{50} and the main shoot growth potential (as estimated by the RGR and the annual dry mass). This finding highlights the importance of considering species and genetic background before general conclusions are to be drawn. Actually, the reason(s) for such a relationship remain(s) only hypothetical. We know from other studies that in poplar species and related hybrids, including *P. deltoides* × *P. nigra*, the most important factor promoting juvenile growth is the total canopy area (Marron *et al.* 2005; Monclus *et al.* 2005, 2006; Marron & Ceulemans 2006). If cavitation resistance somehow comes at the cost of reduced k_{plant} as suggested above, and assuming that decreased k_{plant} is mainly achieved by increasing total canopy area, then a higher cavitation resistance should be associated with a greater shoot growth potential.

It is interesting to note that although cavitation resistance scaled with the main shoot growth potential, no relationship could be found with annual total above-ground dry mass, suggesting that the relationship cannot be extrapolated to the whole genotype potential yield. This may be easily explained by the fact that variations in RGR and annual dry mass of the main shoot on which measurements were performed were only partially matched by variations in annual total above-ground dry mass. This merely resulted from differences between genotypes in the number of shoots per stool and their individual vigour. Therefore, there is good theoretical background for Ψ_{50} to be better related to the growth potential of individual shoots on which measurements are performed rather than to a whole potential yield which might be biased by genotypic differences in terms of coppice allocation strategies.

The genotypes that performed better under water deficit conditions were not necessarily those exhibiting the safer xylem. Similar results have already been reported by Harvey & Van Den Driessche (1997) on four poplar genotypes issued from an interspecific cross between *P. trichocarpa* × *P. deltoides*. On a general ground, this finding suggests that cavitation resistance can be uncoupled from growth depending on the environmental conditions, but the reason why the two parameters became uncoupled remains unknown. Resistance to cavitation is expected to be crucial for plant growth in the context of drastic water deprivation (Sperry *et al.* 2002). However, the summer water deficit was really moderate in our study (Ψ_{pd} never dropped below -0.75 MPa), so that stem embolism was predicted to be

14 R. Fichot et al.

negligible based on Ψ_{min} measurements. Therefore, under such moderate droughts that do not pose a threat to tree survival, homeostasis of the plant water balance and growth maintenance is likely to rely on other hydraulic adjustments than cavitation resistance. These may include a combination of adequate short-term stomatal regulation and optimal allocation of resources between transpiring foliage, conductive sapwood area and absorbing roots (Magnani, Grace & Borghetti 2002; Addington *et al.* 2006).

CONCLUSION

Despite the overall vulnerability to drought-induced xylem cavitation found within the *Populus* genus, we evidenced substantial genotypic variation and phenotypic plasticity for Ψ_{50} and related traits among unrelated *P. deltoides* × *P. nigra* genotypes. It should be mentioned that some of the variation uncovered in this study was due to possible positive transgressive segregation (i.e. heterosis phenomenon). We were unable to find evidence of associations or trade-offs between xylem safety and other physiological traits that have been commonly reported across species. Some of the particular trends observed here may relate to the fact that the genotypes studied resulted from artificial interspecific hybridization, and were thus not subjected to natural selection process. It is, however, still unclear why such trade-offs tend to only manifest at broad scales, and additional work is needed in order to firmly establish whether common associations between xylem safety and other functional traits actually reflect true mechanistic trade-offs.

ACKNOWLEDGMENTS

R.F. and S.C. were junior researchers. R.F. was supported by a PhD grant from the French Ministry of Higher Education and Research. S.C. was supported by a PhD grant from the Conseil Régional, Région Centre, France. We are indebted to C. Depardieu, I. Le Jan and J.-M. Petit at Orleans University, to N. Chenault and M. Villar at INRA Orleans, and to B. Clerc at INRA Nancy for their help during the gas exchange measurements. We gratefully acknowledge the logistic support provided by L. Pasquier and P. Poursat at the INRA experimental station of Orleans during the field survey. We thank C. Brechet and C. Hossann at the technical platform of Functional Ecology (INRA Nancy) for passing $\delta^{13}\text{C}$ samples on the IRMS. Hardwood cuttings from the eight genotypes were kindly provided by O. Forestier from the State Forestry Nursery of Guéméné-Penfao (Loire Atlantique, France). The authors thank N.M. Holbrook and two anonymous reviewers for helpful comments on an earlier version of the manuscript.

REFERENCES

- Addington R.N., Donovan L.A., Mitchell R.J., Vose J.M., Pecot S.D., Jack S.B., Hacke U.G., Sperry J.S. & Oren R. (2006) Adjustments in hydraulic architecture of *Pinus palustris* maintain similar stomatal conductance in xeric and mesic habitats. *Plant, Cell & Environment* **29**, 535–545.
- Alder N.N., Sperry J.S. & Pockman W.T. (1996) Root and stem xylem embolism, stomatal conductance and leaf turgor in *Acer grandidentatum* populations along a soil moisture gradient. *Oecologia* **105**, 293–301.
- Barigah T.S., Tharwat I., Bogard A., Faivre-Vuillin B., Lagneau L.A., Montpied P. & Dreyer E. (2006) Irradiance-induced plasticity in the hydraulic properties of saplings of different temperate broad-leaved forest tree species. *Tree Physiology* **26**, 1505–1516.
- Beikircher B. & Mayr S. (2009) Intraspecific differences in drought tolerance and acclimation in hydraulics of *Ligustrum vulgare* and *Viburnum lantana*. *Tree Physiology* **29**, 765–775.
- Braatne J.H., Hinckley T.M. & Stettler R.F. (1992) Influence of soil water on the physiological and morphological components of plant water balance in *Populus trichocarpa*, *Populus deltoides* and their F_1 hybrids. *Tree Physiology* **11**, 325–339.
- Brodribb T.J. & Cochard H. (2009) Hydraulic failure defines the recovery and point of death in water-stressed conifers. *Plant Physiology* **149**, 575–584.
- Brodribb T.J., Holbrook N.M., Edwards E.J. & Gutierrez M.V. (2003) Relations between stomatal closure, leaf turgor and xylem vulnerability in eight tropical dry forest trees. *Plant, Cell & Environment* **26**, 443–450.
- Caquet B., Barigah T.S., Cochard H., Montpied P., Collet C., Dreyer E. & Epron D. (2009) Hydraulic properties of naturally regenerated beech saplings respond to canopy opening. *Tree Physiology* **29**, 1395–1405.
- Cernusak L.A., Winter K. & Turner B.L. (2009) Physiological and isotopic ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$) responses of three tropical tree species to water and nutrient availability. *Plant, Cell & Environment* **32**, 1441–1455.
- Choat B., Ball M., Luly J. & Holtum J. (2003) Pit membrane porosity and water stress-induced cavitation in four co-existing dry rainforest tree species. *Plant Physiology* **131**, 41–48.
- Choat B., Sack L. & Holbrook N.M. (2007) Diversity of hydraulic traits in nine *Cordia* species growing in tropical forests with contrasting precipitation. *New Phytologist* **175**, 686–698.
- Christman M.A., Sperry J.S. & Adler F.R. (2009) Testing the 'rare pit' hypothesis for xylem cavitation resistance in three species of *Acer*. *New Phytologist* **182**, 664–674.
- Cochard H., Ridolfi M. & Dreyer E. (1996) Responses to water stress in an ABA-unresponsive hybrid poplar (*Populus koreana* × *trichocarpa* cv. Peace) II. Hydraulic properties and xylem embolism. *New Phytologist* **134**, 455–461.
- Cochard H., Lemoine D. & Dreyer E. (1999) The effects of acclimation to sunlight on the xylem vulnerability to embolism in *Fagus sylvatica* L. *Plant, Cell & Environment* **22**, 101–108.
- Cochard H., Damour G., Bodet C., Tharwat I., Poirier M. & Améglio T. (2005) Evaluation of a new centrifuge technique for rapid generation of xylem vulnerability curves. *Physiologia Plantarum* **124**, 410–418.
- Cochard H., Casella E. & Mencuccini M. (2007) Xylem vulnerability to cavitation varies among poplar and willow clones and correlates with yield. *Tree Physiology* **27**, 1761–1767.
- Cochard H., Barigah T.S., Kleinhenz M. & Eshel A. (2008) Is xylem cavitation resistance a relevant criterion for screening drought resistance among *Prunus* species? *Journal of Plant Physiology* **165**, 976–982.
- Coleman H.D., Samuels A.L., Guy R.D. & Mansfield S.D. (2008) Perturbed lignification impacts tree growth in hybrid poplar – A function of sink strength, vascular integrity, and photosynthetic assimilation. *Plant Physiology* **148**, 1229–1237.
- Domec J.C. & Gartner B.L. (2001) Cavitation and water storage capacity in bole xylem segments of mature and young Douglas-fir trees. *Trees* **15**, 204–214.

Xylem resistance to cavitation and water relations in poplar 15

- Ducrey M., Huc R., Ladjal M. & Guehl J.-M. (2008) Variability in growth, carbon isotope composition, leaf gas exchange and hydraulic traits in the eastern Mediterranean cedars *Cedrus libani* and *C. brevifolia*. *Tree Physiology* **28**, 689–701.
- Enquist B.J., West G.B., Chernov E.L. & Brown J.H. (1999) Allometric scaling of production and life history variation in vascular plants. *Nature* **401**, 907–911.
- Ewers B.E., Oren R. & Sperry J.S. (2000) Influence of nutrient versus water supply on hydraulic architecture and water balance in *Pinus taeda*. *Plant, Cell & Environment* **23**, 1055–1066.
- Farquhar G.D. & Richards R.A. (1984) Isotopic composition of plant carbon correlates with water-use efficiency of wheat genotypes. *Australian Journal of Plant Physiology* **11**, 539–552.
- Farquhar G.D., Ehleringer J.R. & Hubick K.T. (1989) Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **40**, 503–537.
- Fichot R., Laurans F., Monclus R., Moreau A., Pilate G. & Brignolas F. (2009) Xylem anatomy correlates with gas exchange, water-use efficiency and growth performance under contrasting water regimes: evidence from *Populus deltoides* × *Populus nigra* hybrids. *Tree Physiology* **29**, 1537–1549.
- Hacke U. & Sauter J.J. (1996) Drought-induced xylem dysfunction in petioles, branches and roots of *Populus balsamifera* L. and *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. *Plant Physiology* **111**, 413–417.
- Hacke U.G., Sperry J.S. & Pittermann J. (2000) Drought experience and cavitation resistance in six shrubs from the great basin, Utah. *Basic Applied Ecology* **1**, 31–41.
- Hacke U.G., Sperry J.S., Pockman W.T., Davis S.D. & McCulloh K.A. (2001) Trends in wood density and structure are linked to prevention of xylem implosion by negative pressures. *Oecologia* **126**, 457–461.
- Hacke U.G., Sperry J.S., Wheeler J.K. & Castro L. (2006) Scaling of angiosperm xylem structure with safety and efficiency. *Tree Physiology* **26**, 689–701.
- Hacke U.G., Jacobsen A.L. & Pratt R.B. (2009) Xylem function of arid-land shrubs from California, USA: an ecological and evolutionary analysis. *Plant, Cell & Environment* **32**, 1324–1333.
- Harvey H.P. & Van Den Driessche R. (1997) Nutrition, xylem cavitation and drought resistance in hybrid poplar. *Tree Physiology* **17**, 647–654.
- Harvey H.P. & Van Den Driessche R. (1999) Nitrogen and potassium effects on xylem cavitation and water-use efficiency in poplars. *Tree Physiology* **19**, 943–950.
- Heilman P.E., Hinckley T.M., Roberts D.A. & Ceulemans R. (1996) Production physiology. In *Biology of Populus and Its Implications for Management and Conservation* (eds R.F. Stettler, H.D. Bradshaw Jr, P.E. Heilman & T.M. Hinckley) 539 pp. NRC Research Press, Ottawa, ON, Canada.
- Holste E.K., Jerke M.J. & Matzner S.L. (2006) Long-term acclimatization of hydraulic properties, xylem conduit size, wall strength and cavitation resistance in *Phaseolus vulgaris* in response to different environmental effects. *Plant, Cell & Environment* **29**, 836–843.
- Hukin D., Cochard H., Dreyer E., Le Thiec D. & Borgeat-Triboulot M.B. (2005) Cavitation vulnerability in roots and shoots: does *Populus euphratica* Oliv., a poplar from arid areas of central Asia, differ from other poplar species? *Journal of Experimental Botany* **56**, 2003–2010.
- Jacobsen A.L., Ewers F.W., Pratt R.B., Paddock W.A. III & Davis S.D. (2005) Do xylem fibers affect vessel cavitation resistance? *Plant Physiology* **139**, 546–556.
- Jacobsen A.L., Pratt R.B., Ewers F.W. & Davis S.D. (2007) Cavitation resistance among 26 chaparral species of southern California. *Ecological Monographs* **77**, 99–115.
- Jacobsen A.L., Esler K.J., Pratt R.B. & Ewers F.W. (2009) Water stress tolerance of shrubs in Mediterranean-type climate regions: convergence of fynbos and succulent karoo communities with California shrub communities. *American Journal of Botany* **96**, 1445–1453.
- Jansen S., Choat B. & Pletsers A. (2009) Morphological variation of intervessel pit membranes and implications to xylem function in angiosperms. *American Journal of Botany* **96**, 409–419.
- Jones H.G. & Sutherland R.A. (1991) Stomatal control of xylem embolism. *Plant, Cell & Environment* **14**, 607–612.
- Kolb K.J. & Sperry J.S. (1999) Differences in drought adaptation between subspecies of sagebrush (*Artemisia tridentata*). *Ecology* **80**, 2373–2384.
- Lemoine D., Jacquemin S. & Granier A. (2002) Beech (*Fagus sylvatica* L.) branches show acclimation of xylem anatomy and hydraulic properties to increased light after thinning. *Annals of Forest Sciences* **59**, 761–766.
- Magnani F., Grace J. & Borghetti M. (2002) Adjustment of tree structure in response to the environment under hydraulic constraints. *Functional Ecology* **16**, 385–393.
- Maherali H., Pockman W.T. & Jackson R.B. (2004) Adaptive variation in the vulnerability of woody plants to xylem cavitation. *Ecology* **85**, 2184–2199.
- Maherali H., Moura C.F., Caldeira M.C., Willson C.J. & Jackson R.B. (2006) Functional coordination between leaf gas exchange and vulnerability to xylem cavitation in temperate forest trees. *Plant, Cell & Environment* **29**, 571–583.
- Marron N. & Ceulemans R. (2006) Genetic variation of leaf traits related to productivity in a *Populus deltoides* × *Populus nigra* family. *Canadian Journal of Forest Research* **36**, 390–400.
- Marron N., Villar M., Dreyer E., Delay D., Boudouresque E., Petit J.-M., Delmotte F.M., Guehl J.-M. & Brignolas F. (2005) Diversity of leaf traits related to productivity in 31 *Populus deltoides* × *Populus nigra* clones. *Tree Physiology* **25**, 425–435.
- Marron N., Bastien C., Sabatti M., Taylor G. & Ceulemans R. (2006) Plasticity of growth and sylleptic branchiness in two poplar families grown at three sites across Europe. *Tree Physiology* **26**, 935–946.
- Martínez-Vilalta J., Prat E., Oliveras I. & Piñol J. (2002) Xylem hydraulic properties of roots and stems of nine Mediterranean woody species. *Oecologia* **133**, 19–29.
- Martínez-Vilalta J., Cochard H., Mencuccini M., et al. (2009) Hydraulic adjustments of Scots pine across Europe. *New Phytologist* **184**, 353–364.
- Meinzer F.C. (2002) Co-ordination of vapour and liquid phase water transport properties in plants. *Plant, Cell & Environment* **25**, 265–274.
- Meinzer F.C., Johnson D.M., Lachenbruch B., McCulloh K.A. & Woodruff D.R. (2009) Xylem hydraulic safety margins in woody plants: coordination of stomatal control of xylem tension with hydraulic capacitance. *Functional Ecology* **23**, 922–930.
- Mencuccini M. & Comstock J. (1997) Vulnerability to cavitation in populations of two desert species, *Hymenoclea salsola* and *Ambrosia dumosa*, from different climatic regions. *Journal of Experimental Botany* **48**, 1323–1334.
- Monclus R., Dreyer E., Delmotte F.M., Villar M., Delay D., Boudouresque E., Petit J.M., Marron N., Bréchet C. & Brignolas F. (2005) Productivity, leaf traits and carbon isotope discrimination in 29 *Populus deltoides* × *P. nigra* clones. *New Phytologist* **167**, 53–62.
- Monclus R., Dreyer E., Villar M., Delmotte F.M., Delay D., Petit J.M., Barbaroux C., Le Thiec D., Bréchet C. & Brignolas F. (2006) Impact of drought on productivity and water-use efficiency in 29 genotypes of *Populus deltoides* × *Populus nigra*. *New Phytologist* **169**, 765–777.
- Neufeld H.S., Grantz D.A., Meinzer F.C., Goldstein G., Crisosto G.M. & Crisosto C. (1992) Genotypic variability in vulnerability

16 R. Fichot et al.

- of leaf xylem to cavitation in water-stressed and well-irrigated sugarcane. *Plant Physiology* **100**, 1020–1028.
- Pammenter N.W. & Vander Willigen C. (1998) A mathematical and statistical analysis of the curves illustrating vulnerability of xylem to cavitation. *Tree Physiology* **18**, 589–593.
- Pita P., Gascó A. & Pardos J.A. (2003) Xylem cavitation, leaf growth and leaf water potentials in *Eucalyptus globulus* clones under well-watered and drought conditions. *Functional Plant Biology* **30**, 891–899.
- Pockman W.T. & Sperry J.S. (2000) Vulnerability to xylem cavitation and the distribution of Sonoran desert vegetation. *American Journal of Botany* **87**, 1287–1299.
- Pratt R.B., Jacobsen A.L., Ewers F. & Davis S.D. (2007) Relationships among xylem transport, biomechanics and storage in stems and roots of nine *Rhamnaceae* species of the California chaparral. *New Phytologist* **174**, 787–798.
- Sangsing K., Kasemsap P., Thanisawanyangkura S., Sangkhasila K., Gohet E., Thaler P. & Cocharde H. (2004) Xylem embolism and stomatal regulation in two rubber clones (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). *Trees* **18**, 109–114.
- Santiago L.S., Goldstein G., Meinzer F.C., Fisher J.B., Machado K., Woodruff D. & Jones T. (2004) Leaf photosynthetic traits scale with hydraulic conductivity and wood density in Panamanian forest canopy trees. *Oecologia* **140**, 543–550.
- Sparks J.P. & Black R.A. (1999) Regulation of water loss in populations of *Populus trichocarpa*: the role of stomatal control in preventing xylem cavitation. *Tree Physiology* **19**, 453–459.
- Sperry J.S., Perry A.H. & Sullivan J.E.M. (1991) Pit membrane degradation and air-embolism formation in ageing xylem vessels of *Populus tremuloides* Michx. *Journal of Experimental Botany* **42**, 1399–1406.
- Sperry J.S., Nichols K.L., Sullivan J.L. & Eastlack S.E. (1994) Xylem embolism in ring-porous, diffuse-porous and coniferous trees of Northern Utah and interior Alaska. *Ecology* **75**, 1736–1752.
- Sperry J.S., Hacke U.G., Oren R. & Comstock J.P. (2002) Water deficits and hydraulic limits to leaf water supply. *Plant, Cell & Environment* **25**, 251–263.
- Tognetti R., Longobucco A. & Raschi A. (1999) Seasonal embolism and xylem vulnerability in deciduous and evergreen Mediterranean trees influenced by proximity to a carbon dioxide spring. *Tree Physiology* **19**, 271–277.
- Tschaplinski T.J., Tuskan G.A. & Gunderson C.A. (1994) Water-stress tolerance of black and eastern cottonwood clones and four hybrid progeny I. Growth, water relations, and gas exchange. *Canadian Journal of Forest Research* **24**, 364–371.
- Tyree M.T. & Ewers F.W. (1991) The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *New Phytologist* **119**, 345–360.
- Tyree M.T. & Sperry J.S. (1989) Vulnerability of xylem to cavitation and embolism. *Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology* **40**, 19–38.
- Tyree M.T. & Zimmermann M.H. (2002) *Xylem Structure and the Ascent of Sap*, 2nd edn. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Tyree M.T., Alexander J. & Machado J.L. (1992) Loss of hydraulic conductivity due to water stress in intact juveniles of *Quercus rubra* and *Populus deltoides*. *Tree Physiology* **10**, 411–415.
- Vander Willigen C. & Pammenter N.W. (1998) Relationship between growth and xylem hydraulic characteristics of clones of *Eucalyptus* spp. at contrasting sites. *Tree Physiology* **18**, 595–600.
- Wheeler J.K., Sperry J.S., Hacke U.G. & Hoang N. (2005) Inter-vessel pitting and cavitation in Rosaceae and other vesselless plants: a basis for a safety versus efficiency trade-off in xylem transport. *Plant, Cell & Environment* **28**, 800–812.
- Wikberg J. & Ögren E. (2004) Interrelationships between water use and growth traits in biomass-producing willows. *Trees* **18**, 70–76.
- Wong S.C., Cowan I.R. & Farquhar G.D. (1979) Stomatal conductance correlates with photosynthetic capacity. *Nature* **282**, 424–426.

Received 11 February 2010; received in revised form 1 April 2010; accepted for publication 2 April 2010

2. RESULTATS COMPLEMENTAIRES : Relation entre résistance à la cavitation et plasticité phénotypique

Nous avons cherché à savoir si l'amplitude de variation de Ψ_{50} en réponse à la sécheresse, et donc la plasticité phénotypique pour la résistance à la cavitation, dépendait de la valeur intrinsèque en témoin. Pour ce faire, nous avons mis en relation les valeurs de Ψ_{50} mesurées en condition hydrique optimale et la différence de Ψ_{50} entre les deux conditions hydriques. Les résultats mettent en évidence une relation linéaire significative, les génotypes les plus plastiques étant ceux qui présentent une plus faible résistance à la cavitation en condition hydrique optimale (**Fig. 2.8**). Ces données suggèrent qu'il pourrait exister une certaine limite, structurale ou/et fonctionnelle, à la plasticité de la résistance à la cavitation.

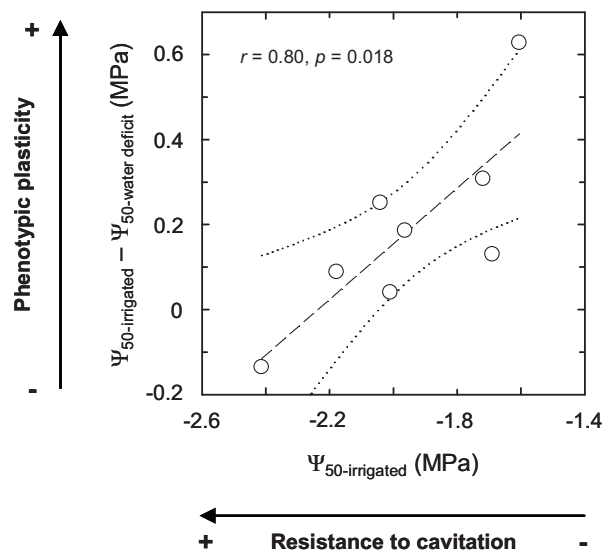


Figure 2.8 Relation entre résistance à la cavitation en condition hydrique optimale ($\Psi_{50\text{-irrigated}}$) et plasticité phénotypique en réponse à la sécheresse ($\Psi_{50\text{-irrigated}} - \Psi_{50\text{-water deficit}}$). La droite en pointillés correspond à la régression linéaire ; les pointillés de part et d'autre de la droite représentent l'intervalle de confiance à 95%. Le coefficient de corrélation linéaire de Pearson (r) ainsi que la probabilité associée (p) sont indiqués.

3. TRANSITION

Même si la résistance à la cavitation s'avère être coordonnée avec certains aspects du fonctionnement physiologique de l'arbre comme la conductance stomatique ou encore le potentiel de croissance, ces relations ne sont probablement pas directement causales. En effet, en condition optimale, il n'existe *a priori* aucune raison fonctionnelle pour que le niveau de résistance à la cavitation ne contraigne les échanges de gaz, à moins que la résistance à la cavitation ne soit coordonnée avec d'autres aspects du fonctionnement hydraulique potentiellement limitant, notamment l'efficacité hydraulique. Le chapitre suivant est donc consacré à la caractérisation de l'efficacité hydraulique de la partie aérienne et de la plante entière chez les hybrides *Populus deltoides* × *P. nigra*.

CHAPITRE 3

EFFICIENCES HYDRAULIQUES CHEZ *Populus deltoides* × *Populus nigra*

Efficience hydraulique et coordination avec la résistance à la cavitation, le fonctionnement foliaire et le potentiel de croissance chez les hybrides *Populus deltoides* × *Populus nigra*

REGIS FICHOT, SYLVAIN CHAMAILLARD, CLAIRE DEPARDIEU, DIDER LE THIEC, HERVE COCHARD
TETE S. BARIGAH & FRANCK BRIGNOLAS

Soumis pour publication à la revue Journal of Experimental Botany le 3 Juin 2010

1. PRESENTATION SYNTHETIQUE DE L'ARTICLE

• **Contexte.** L'analogie à la loi d'Ohm appliqué au flux de sève brute dans la plante fournit une base théorique utile à l'analyse du couplage entre le fonctionnement en phase liquide et le fonctionnement foliaire en phase vapeur. En théorie, plus l'efficience hydraulique (estimée par la conductance hydraulique spécifique foliaire) est grande, plus les échanges de gaz et donc potentiellement la croissance peuvent être importants. Après avoir analysé et caractérisé la résistance à la cavitation au sein des hybrides *Populus deltoides* × *P. nigra* dans le chapitre 2, nous nous sommes donc attachés dans ce troisième et dernier chapitre à décrire l'efficience hydraulique et ses relations avec le fonctionnement hydrique et carboné de l'arbre.

• **Objectifs.** L'objectif général de cette étude était de caractériser l'efficience hydraulique au sein des hybrides *Populus deltoides* × *Populus nigra* et ses relations avec d'une part la résistance à la cavitation et d'autre part des caractères fonctionnels indicateurs du fonctionnement physiologique de l'arbre. Les objectifs spécifiques étaient (i) d'évaluer la gamme de variabilité pour l'efficience hydraulique, (ii) tester l'existence d'un compromis entre efficience hydraulique et résistance à la cavitation, (iii) juger des liens entre d'une part l'efficience hydraulique, et d'autre part des caractères structuraux et fonctionnels indicateurs du fonctionnement hydrique et carboné foliaire, et (iv) juger des liens entre efficience hydraulique et potentiel de croissance.

• **Stratégie.** L'étude a porté sur huit génotypes *Populus deltoides* × *P. nigra* contrastés principalement pour leurs valeurs de discrimination isotopique vis-à-vis du ¹³C (Monclus *et al.* 2006) et déjà connus pour présenter d'importantes variations pour la structure du xylème (Fichot *et al.* 2009) et la résistance à la cavitation (Fichot *et al.* in press). Les travaux ont été réalisés en pépinière, en condition hydrique optimale, à partir de plançons non démariés et enracinés depuis deux ans. Les mesures de conductance hydraulique ont été réalisées en 2007 et 2008, sur un axe dominant de l'année à l'aide d'un fluxmètre à haute pression (HPFM) ; les

caractères associés à l'efficience hydraulique de la tige (conductance hydraulique spécifique du xylème; conductance hydraulique spécifique foliaire) ont ensuite été calculés. La conductance hydraulique spécifique foliaire de la plante entière a été estimée sur la base de la loi d'Ohm en combinant les mesures d'échanges de gaz et de potentiels hydriques foliaires. Ces paramètres ont ensuite été mis en relation avec les données de résistance à la cavitation, les caractères structuraux foliaires (densité et morphologie des stomates), les caractères fonctionnels foliaires (assimilation nette de CO₂; conductance stomatique; efficience intrinsèque d'utilisation de l'eau; discrimination isotopique vis-à-vis du ¹³C; index de surface stomatique) ainsi que le taux de croissance relatif du brin dominant de chaque céepe.

• **Résultats.** Nos résultats démontrent des variations significatives pour l'efficience hydraulique de la tige et de la plante entière au sein des hybrides *Populus deltoides* × *P. nigra*; de façon générale, les valeurs obtenues sont fortes comparées aux autres essences forestières de nos régions et sont à rattacher au fort potentiel de croissance et au comportement pionnier des espèces du genre *Populus*. Un compromis entre les paramètres descriptifs de l'efficience hydraulique de la tige ou de la plante entière et la résistance à la cavitation a été mis en évidence. Une forte corrélation positive a été observée entre la conductance hydraulique spécifique foliaire de la tige déduite des mesures à l'HPFM et la conductance hydraulique spécifique foliaire de la plante entière déduite des flux de transpiration et des potentiels hydriques foliaires sur la base de la loi d'Ohm. Aucune relation n'a en revanche pu être mise en évidence entre d'une part l'efficience hydraulique et d'autre part les caractères morphologiques des stomates, l'assimilation nette de CO₂, ou des traits plus intégrateurs comme l'efficience d'utilisation de l'eau. Une relation linéaire et négative a été observée entre les paramètres descriptifs de l'efficience hydraulique de la tige ou de la plante entière et le potentiel de croissance de la tige; cette relation contraste notamment avec les données issues de la littérature au niveau inter-spécifique. Par ailleurs, en marge des résultats liés aux aspects purement hydrauliques, nous avons validé la relation linéaire et négative entre l'efficience intrinsèque d'utilisation et la discrimination isotopique vis-à-vis du ¹³C proposée par le modèle de Farquhar. Nous avons également mis en évidence de fortes relations entre la densité stomatique ou l'index de surface stomatique (le SPI, un indicateur théorique de la conductance hydraulique de la feuille) et la conductance stomatique, l'efficience intrinsèque d'utilisation de l'eau ou la discrimination isotopique vis-à-vis du ¹³C, ce qui suggère que des caractères morphologiques simples pourraient être utilisés comme indicateurs de caractères fonctionnels plus complexes.

• **Conclusions.** L'ensemble des résultats acquis dans le cadre de ce travail a permis de mettre en évidence, en condition hydrique optimale, des variations de l'efficience hydraulique de la tige et de la plante entière au sein des hybrides *Populus deltoides* × *P. nigra*. En combinant des mesures à l'HPFM et des techniques plus classiques d'échanges de gaz, nous montrons que l'efficience hydraulique de la tige est indicatrice de l'efficience hydraulique de la plante entière, bien que le xylème de la tige ne représente qu'une infime part des résistances hydrauliques au sein de la plante. Ces résultats confortent par ailleurs la coordination entre le fonctionnement en phase liquide et le fonctionnement en phase vapeur. Nous avons également montré qu'il existe un compromis entre l'efficience hydraulique et la résistance à la cavitation ; l'une des raisons possible à un tel compromis réside dans le fait qu'à transpiration égale, une plus faible efficience hydraulique engendre des tensions xylémiennes plus fortes au sein de la tige et que par conséquent, la mise en place d'un xylème plus sûr est nécessaire. Nous avons également identifié un compromis entre l'efficience hydraulique et le potentiel de croissance intrinsèque de la tige ; les raisons fonctionnelles d'une relation négative entre l'efficience hydraulique et le potentiel de croissance n'ont toutefois pas pu être déterminées dans le cadre de cette étude. Les deux compromis observés, l'un entre l'efficience hydraulique et la résistance à la cavitation, et l'autre entre l'efficience hydraulique et le potentiel de croissance permettent de comprendre l'origine de la relation positive observée entre la résistance à la cavitation et le potentiel de croissance en condition hydrique non limitante (Chapitre 2).

Hydraulic efficiency and coordination with xylem resistance to cavitation, leaf function and growth performance in *Populus deltoides* × *Populus nigra*

REGIS FICHOT^{1,2,3}, SYLVAIN CHAMAILLARD^{1,2,3}, CLAIRE DEPARDIEU^{1,2,4,‡}, DIDER LE THIEC⁴, HERVE COCHARD⁵, TETE S. BARIGAH⁵ & FRANCK BRIGNOLAS^{1,2*}

¹ Université d'Orléans, UFR-Faculté des Sciences, UPRES EA 1207 Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures (LBLGC), BP 6759, F-45067, France, ² INRA, USC2030 Arbres et Réponses aux Contraintes Hydrique et Environnementales (ARCHE), BP 6759, F-45067, France, ³ INRA UR588 Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières (AGPF), Centre de Recherche d'Orléans, CS 40001 Ardon, F-45075, Orléans Cedex 2, France, ⁴ INRA, UMR1137 Ecologie et Ecophysiologie Forestières, Nancy Universités, IFR110 Génomique, Ecophysiologie, Ecologie Fonctionnelle, F-54280, Champenoux, France and ⁵ UMR547 Physiologie Intégrée de l'Arbre Fruitier (PIAF), INRA-Université Blaise Pascal, F-63100, Clermont-Ferrand, France

‡ *Present address:* Université de Franche-Comté, UMR UFC/CNRS 6249 USC INRA, Laboratoire Chrono-environnement, F-25030, Besançon, France

*Author to whom correspondence should be sent:

FRANCK BRIGNOLAS

Phone: +33 (0)2 38 49 48 02

Fax: +33 (0)2 38 49 49 11

Email: franck.brignolas@univ-orleans.fr

RUNNING HEAD: Hydraulic architecture and whole-plant function in poplar

RESEARCH AREA: Whole-Plant and ecophysiology

ABSTRACT

We tested whether variations in the hydraulic architecture of eight *Populus deltoides* × *Populus nigra* genotypes could be related to variations in leaf function and growth performance. Measurements were performed in a coppice plantation on 1-year old shoots under optimal irrigation. Hydraulic architecture was characterized through estimates of hydraulic efficiency (ratio of conducting sapwood area to leaf area, $A_X : A_L$; leaf- and xylem-specific hydraulic conductance of defoliated shoots, k_{SL} and k_{SS} , respectively; apparent whole-plant leaf-specific hydraulic conductance, k_{plant}) and xylem safety (water potential inducing 50% loss in hydraulic conductance). The eight genotypes spanned a significant range of k_{SL} from 2.63 to 4.18 kg s⁻¹ m⁻² MPa⁻¹, variations being mostly driven by k_{SS} rather than $A_X : A_L$. There was a strong trade-off between hydraulic efficiency and xylem safety. Values of k_{SL} correlated positively with k_{plant} indicating global coordination of liquid and vapour conductances. No clear relationship could be found between hydraulic efficiency and either net CO₂ assimilation rates, water use efficiency estimates (intrinsic water use efficiency and carbon isotope discrimination against ¹³C) or stomatal characteristics (stomatal density and stomatal pore area index). Estimates of hydraulic efficiency were negatively associated with relative growth rate. This unusual pattern, combined with the trade-off observed between hydraulic efficiency and xylem safety provides the rationale for the positive link previously reported between relative growth rate and xylem safety among the same eight *P. deltoides* × *P. nigra* genotypes.

Key-words: high pressure flow-meter (HPFM); hydraulic architecture; hydraulic conductance; relative growth rate; trade-offs; water-use efficiency; water relations; xylem vulnerability to cavitation

INTRODUCTION

In higher plants, leaf water relations and ultimately growth are theoretically linked to plant hydraulic properties. This comes about because water flow through higher plants at steady state when the soil is moist is generally well described by the Ohm's law analogue (Meinzer 2002)

$$E = g_s \times \text{VPD} = k_{\text{plant}} \times (\Psi_S - \Psi_L) \quad (1)$$

where E is the leaf transpiration rate, g_s is the leaf stomatal conductance to water vapour, VPD is the leaf to air vapour pressure difference, k_{plant} is the leaf-specific hydraulic conductance of the whole plant and Ψ_S and Ψ_L are the water potentials of the soil and the leaf, respectively. Experimental evidences suggest that the coordination between liquid and vapour phase actually manifests at different scales. Within a given plant, numerous studies have demonstrated the active response of g_s to artificial modifications of k_{plant} (Meinzer & Grantz 1991; Sperry, Alder & Eastlack 1993; Pataki, Oren & Phillips 1998; Hubbard *et al.* 2001; Cochard *et al.* 2002). Across species, there is evidence that more efficient water transport at stem or leaf level allows both higher g_s and photosynthetic capacities as estimated from electron transport rates (Brodribb & Feild 2000; Brodribb, Holbrook & Gutiérrez 2002; Brodribb *et al.* 2005) or net CO_2 assimilation rates (Santiago *et al.* 2004; Brodribb, Feild & Jordan 2007; Zhang & Cao 2009). Further, maximum leaf hydraulic conductance has been found to be coordinated across species with leaf structure and stomatal pore area index ($\text{SPI} = \text{stomatal density} \times \text{guard cell length}^2$) (Sack *et al.* 2003; Sack, Tyree & Holbrook 2005) both of them influencing CO_2 diffusion within leaves and photosynthesis *via* mesophyll structure and stomata morphology. However, even if between-species comparisons indicate that high hydraulic efficiency is coordinated with a spectrum of leaf traits involved in carbon and water

relations promoting faster growth, only a handful of studies have explicitly addressed the relationship between hydraulic efficiency, leaf traits and growth performance at the intra-specific scale (Vander Willigen & Pammenter 1998; Ducrey *et al.* 2008).

Given the tight link between hydraulic efficiency and gas exchange rates, a relationship with water-use efficiency (WUE), a composite trait reflecting the balance between carbon gain and water loss, might also be expected. However, results gathered from between-species comparisons are conflicting. Recent comparisons of C₃ and C₄ species with consistently large differences in WUE have indicated that more water-use efficient C₄ species displayed lower leaf-specific hydraulic conductivity (Kocacinar & Sage 2003, 2004; Kocacinar *et al.* 2008). Other studies covering a broad range of species have reported similar trends between hydraulic efficiency and WUE (Sobrado 2000; Drake & Franks 2003; Sobrado 2003; Santiago *et al.* 2004) although such relationship may be opposite (Campanello *et al.* 2008) or absent (Preston & Ackerly 2003; Edwards 2006), possibly reflecting species-specific water-use strategies in different habitats. Actually, the link between WUE and hydraulic efficiency remains poorly documented and unclear at the intra-specific scale (Panek 1996; Ducrey *et al.* 2008; Martínez-Vilalta *et al.* 2009).

Beside hydraulic efficiency, xylem resistance to drought-induced cavitation is another key parameter for understanding the role of hydraulic architecture in leaf and whole-plant function (Sperry *et al.* 2002). Functional coordination between xylem resistance to cavitation and leaf function may occur indirectly (Maherali *et al.* 2006; Fichot *et al.* in press) through the combined effect of E and k_{plant} in determining the water potential drop from the soil to the leaves ($\Delta\Psi$) [see Eq. (1)]. Indeed, large $\Delta\Psi$ generated by high E and/or low k_{plant} requires the construction of a safer xylem to prevent increased risks of embolism, and this generally translates into a trade-off between hydraulic efficiency and xylem resistance to cavitation. Therefore, the unique design of both k_{plant} and resistance to cavitation within a plant is

supposed to be optimized as to meet the conflicting balance between evaporative demand and safety from hydraulic failure (Tyree, Davis & Cochard 1994; Hacke & Sperry 2001).

Poplar species (*Populus* spp.) are widespread in the northern hemisphere and are known to be among the most superior angiosperm woody species in terms of growth rates under temperate latitudes (Heilman *et al.* 1996). Because of large and positive heterosis effects for growth, poplar cultivation relies largely on the selection and the deployment of inter-specific hybrids such as *Populus deltoides* Bartr. ex Marsh. × *Populus nigra* L. Previous experiments undertaken on *P. deltoides* × *P. nigra* genotypes have reported significant variation in juvenile growth potential and traits related to leaf water and carbon economy, including structural traits such as specific leaf area or stomatal density, as well as functional traits such as leaf gas exchange rates and WUE (Marron *et al.* 2005; Monclus *et al.* 2005, 2006). More recent work has demonstrated that this suite of traits correlated with differences in xylem vessel anatomy (Fichot *et al.* 2009), suggesting that one key to understanding the differences in growth behaviour and whole-plant water-use may be vascular physiology.

We tested the hypothesis that the hydraulic architecture is coordinated with leaf structural and functional traits as well as growth potential in *Populus deltoides* × *Populus nigra*. To answer this general objective, we selected eight genotypes already known for differing widely in water-use, growth behaviour and xylem hydraulics (Monclus *et al.* 2005, 2006; Fichot *et al.* 2009, in press). Measurements were performed on clonal copies of the eight genotypes grown in an open-field common garden under optimal irrigation, and included hydraulic traits (*e.g.* whole-stem and whole-plant hydraulic conductance, sapwood to leaf area ratio, xylem resistance to cavitation), leaf structural and functional traits (*e.g.* gas exchange, WUE estimates, SPI) and growth-related traits (relative growth rate). Specific objectives were to (1) examine the extent of genotypic variations in hydraulic efficiency, (2) test the occurrence of a trade-off between hydraulic efficiency and xylem resistance to

cavitation, (3) investigate the coordination of hydraulic efficiency with leaf gas exchange, WUE and stomatal traits, and (4) investigate the coordination between hydraulic efficiency and whole-plant growth performance.

MATERIALS AND METHODS

Plant material and experimental design

Experiments were performed in 2007 and 2008 on eight field-grown *Populus deltoides* Bartr. ex Marsh × *P. nigra* L. genotypes already known for differing in water-use, growth behaviour and xylem hydraulics ('Agathe_F', 'Cima', 'Eco28', 'Flevo', 'I45-51', 'Luisa_Avanzo', 'Pannonia' and 'Robusta') (Monclus *et al.* 2006; Fichot *et al.* 2009, in press). The plantation was located at Orléans (central France) within the INRA research station of Forest Genetics (47°46' N, 1°52' E, 110 m a.s.l.) and was set in June 2006 from 0.25 m-long hardwood cuttings, on a loamy sand soil (pH = 5.9) without fertilizer addition. The experimental design consisted in a 250-m² coppice plantation split into two twin plots established 15 m apart from each other and separated by a no man's land. Each plot was made of 8 north-south oriented rows and was divided into five complete randomized blocks with three individuals of each genotype per block. The initial spacing between individuals was 0.75 m within rows and 1.20 m between rows, accommodating an overall density of about 11 000 plants ha⁻¹. A border row of the cv. 'Mellone_Caro' was planted around each plot to minimize edge effects. All plants were cut back at the end of 2006 and 2007 to create a coppice system.

All experiments were carried out in 2007 and 2008; each year, bud-flush occurred synchronously within the first two weeks of April. Environmental conditions (cumulative precipitations, temperature and potential evapotranspiration) were recorded on an hourly basis during the two years using a meteorological station (Xaria, Degreane Horizon, Cuers, France) located in the field site. The mean annual temperature was 11.2 and 10.5°C in 2007 and 2008, respectively, the coldest month being December (3.8 and 2.1°C, respectively) and the warmest, July (17.7 and 18.5°C, respectively). The cumulative annual precipitation was 796 mm in 2007 and 532 mm in 2008, with approximately 50% occurring during the growing period (April-September). For both years, irrigation was performed using overhead sprinklers

and was designed to meet the evaporative demand (*i.e.*, 4.5 mm were sprinkled every time cumulative evapotranspiration reached 4 mm). However, in 2008, one of the two plots served as a water deficit experiment by withholding irrigation from 18 June to the end of the growing season, as described in details in Fichot *et al.* (in press). Therefore, all measurements performed in 2008 after 18 June were conducted on the irrigated plot only.

HPFM measurements

Measurements of shoot hydraulic conductance were performed the first two weeks of June in 2007 and 2008 to minimize genotypic differences in sample sizes. Dominant shoots were selected over the two plots and at least one shoot of each genotype per block was sampled. **Table 3.1** presents the cumulative number of shoots sampled per genotype over the two years. Shoots were collected by batches of 4-6 so that subsequent hydraulic measurements were completed within a maximum of 2.5 hrs after sampling. In the field, individual leafy shoots were cut at their base with pruning shears. To minimize xylem tension at the time of sampling, tap water was sprayed on transpiring leaves. The cut ends of the shoots were immediately immersed in water and shoots were transported to a nearby glasshouse. The cut ends of the shoots were refreshed under water with a fresh razor blade and connected to the hydraulic apparatus for measurement *via* a compression fitting.

Table 3.1 Cumulative number of samples per genotype used for HPFM measurements (*n*) and general characteristics (means ± SE; A_L , total shoot leaf area; A_x , basal cross-sectional area)

	<i>n</i>	Total plant dry mass (g)	Shoot length (cm)	A_L (m ²)	A_x (×10 ⁻⁵ m ²)
Agathe_F (<i>AgF</i>)	20	19.0 ± 1.0	104.7 ± 2.9	0.149 ± 0.007	3.55 ± 0.19
Cima (<i>Cim</i>)	15	18.7 ± 1.7	98.2 ± 3.7	0.179 ± 0.013	3.47 ± 0.23
Eco28 (<i>E28</i>)	19	24.9 ± 1.5	98.8 ± 2.5	0.229 ± 0.014	6.03 ± 0.33
Flevo (<i>Fle</i>)	20	20.6 ± 1.1	101.9 ± 2.7	0.170 ± 0.011	4.32 ± 0.29
I45-51 (<i>I45</i>)	22	23.9 ± 1.6	89.4 ± 2.5	0.222 ± 0.013	5.03 ± 0.26
Luisa_Avanzo (<i>Lui</i>)	20	12.3 ± 2.1	84.4 ± 5.1	0.115 ± 0.014	2.80 ± 0.35
Pannonia (<i>Pan</i>)	23	19.8 ± 1.0	110.1 ± 2.5	0.155 ± 0.007	3.30 ± 0.20
Robusta (<i>Rbs</i>)	27	20.9 ± 1.0	92.0 ± 2.8	0.204 ± 0.009	4.08 ± 0.20

Measurements of hydraulic conductance were performed using a home-made high pressure flow-meter (HPFM, see Tyree *et al.* 1995) under the glasshouse irradiance conditions. Measurements were performed in the quasi-steady state mode (*i.e.*, maintaining approximately constant the pressure applied). Shoots were perfused with degassed and filtered (0.1 μm) ultra-pure water at a pressure of 0.3 MPa (P) until water dripped from the stomata, which took typically 20-30 min. This was assumed to be sufficient to ensure zero water potential in the whole shoot and to dissolve air bubbles from potentially embolized xylem vessels. Water flow rate (F , kg s^{-1}) was recorded every 4 s until values stabilized (*i.e.* coefficient of variation $< 5\%$ within few minutes). The hydraulic resistance was then computed from quasi steady-state parameters as the ratio between P and F . Measurements were performed between 7.00 AM and 05.00 PM solar time. Since the hydraulic resistance of leaves is prone to rapid irradiance-induced variations (Tyree *et al.* 2005; Cochard *et al.* 2007a), only values of stem hydraulic resistance are reported in this study. The hydraulic resistance of the stem (r_s) was recorded after severing all leaves following the procedure described by Yang & Tyree (1994). The stem hydraulic conductance (k_s , $\text{kg s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$) was then computed as the inverse of the stem hydraulic resistance and standardized to 20°C as $k_s = \nu/\nu_0 \times (1/r_s)$ where ν and ν_0 are the kinematic viscosities of water at the measured temperature and 20°C, respectively.

Shoot total leaf area (A_L , m^2) and xylem cross-sectional area of the stem (A_X , m^2) were determined for each sampled shoot. A_L was determined using a Li-Cor 3000-A area meter (equipped with a Li-Cor Belt Conveyor 3050-A, Li-Cor Instruments, Lincoln, NE, USA) immediately after determination of hydraulic conductance. A_X was determined by analyzing digital images of 30- μm thick basal cross-sections and subtracting the pith area (VISILOG 6.3 software, NOESIS, St Aubain, France). The leaf specific hydraulic conductance of the stem (k_{SL} , $\text{kg s}^{-1} \text{m}^{-2} \text{MPa}^{-1}$) was calculated as k_s divided by A_L . The xylem specific hydraulic

conductance (k_{SS} , $\text{kg s}^{-1} \text{m}^{-2} \text{MPa}^{-1}$) was calculated by dividing k_S by A_X . The ratio $A_X : A_L$ was used as a morphological index of potential water transport capacity to transpirational demand; this ratio is the relational product linking k_{SS} to k_{SL} (Tyree & Ewers 1991).

Xylem resistance to cavitation

Data for xylem resistance to cavitation were obtained from a previous study performed on the same field trial Fichot *et al.* (in press). Briefly, five dominant shoots per genotype (one per block) were sampled on the well-watered plot at the end of the 2008 growing season and were processed as described in Fichot *et al.* (in press). We used the recently developed Cavitron technique (Cochard *et al.* 2005), an adapted method from the centrifuge technique (Alder *et al.* 1997), to generate vulnerability curves. The xylem tension causing 50% loss in hydraulic conductance (Ψ_{50}) was derived from these curves and used as an index of the resistance to xylem cavitation (Fichot *et al.* in press).

Leaf gas exchange, water potentials and whole-plant hydraulic conductance

Net CO_2 assimilation rate (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), stomatal conductance to water vapour (g_s , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and transpiration rate (E , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) were assessed with a portable gas exchange system (LI-6200, LI-COR, Lincoln, Neb., USA) between 11.00 and 13.00 local time in July 2008, as described in Fichot *et al.* (in press). Measurements were made on one fully illuminated mature leaf (foliar index between 15 and 16) on the main shoot of one individual per genotype per block ($n = 5$ per genotype). Leaf temperature (mean 27.6 ± 0.2 °C), vapour pressure deficit (mean 1.7 ± 0.1 kPa) and photosynthetic photon flux density ($1378 \pm 55 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$) matched ambient conditions. The leaves were allowed to equilibrate inside the chamber for 20 s before measurements were taken. Intrinsic water-use efficiency (WUE_i , mmol mol^{-1}) was then calculated as the ratio A/g_s .

Midday leaf water potential (Ψ_L , MPa) and predawn leaf water potential (Ψ_{pd} , MPa) were measured with a pressure chamber (PMS Instruments, Albany, Ore., USA) and used to estimate the apparent leaf area-specific whole-plant hydraulic conductance (k_{plant} , $\text{kg s}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ MPa}^{-1}$). Ψ_L was measured on the same leaves used for leaf gas exchange and was assumed to equate the minimum Ψ_L diurnal values. Ψ_{pd} was assessed over each block on a subset of 3 genotypes the day preceding and the day after measurements. Values of k_{plant} ($n = 5$, one per plot) were calculated on the basis of the Ohm's law analogy as $k_{plant} = E / (\Psi_{pd} - \Psi_L)$ using individual Ψ_L values and mean block Ψ_{pd} values over the two days of measurements.

Stomatal density, guard cell length and stomatal pore area index

Three discs of leaf lamina (1 cm^2 each) from the leaves used for gas exchange and Ψ_L were punched centrally, midway between midrib and margin, and stored at -20°C until they were processed. Samples were then stuck to aluminium stubs on a Peltier stage (-50°C) before being examined under a controlled pressure scanning electron microscope (model 1450VP, Leo, Cambridge, UK, 20-30 Pa inside the chamber, accelerating voltage 15kV, working distance 12 mm). Microphotographs were then taken and processed using image analysis software (Visilog, Noesis, St Aubain, France). Because poplar leaves are amphistomatous, each disc was split in half for the separate analysis of leaf ad- and abaxial sides, respectively. Stomatal density and stomatal pore length were measured on each half disc from one digital image taken at $\times 400$ and $\times 1200$ magnifications, respectively. Counts and measurements were then averaged for the three discs so that 18 stomata per leaf were used for estimating stomatal pore length. The total stomatal density was calculated as the sum between adaxial and abaxial stomatal densities. The total stomatal pore area index (SPI, a theoretical index of maximum stomatal conductance) was calculated as mean total stomatal density $\times$ mean stomatal pore length² (Sack *et al.* 2003).

Specific leaf area, nitrogen content and carbon isotope discrimination against ^{13}C

Specific leaf area (SLA, $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$), nitrogen content (N_M , g g^{-1}) and carbon isotope discrimination against ^{13}C (Δ , ‰) were first assessed in June 2008 from one fully expanded mature leaf of each shoot sampled for HPFM measurements. The same traits were assessed once again during July 2008 from the leaves used to measure gas exchange parameters, in order to validate the functional relationship between Δ and WUE_i .

At each date, six calibrated discs of leaf lamina (2 cm^2 each) were punched from each leaf and oven-dried at 60°C until constant mass (24 h); this allowed for the calculation of SLA. The six discs of leaf lamina were then ground to a fine powder and used for the determination of bulk leaf ^{13}C isotope composition ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen content. Analyses were performed at the technical platform of functional ecology at the INRA research station of Nancy (France). One milligram sub-samples of ground material were enclosed in tin capsules and combusted. The CO_2 produced by combustion was purified and its $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ ratio was analysed with a Finnigan MAT Delta S isotope ratio mass spectrometer (IRMS) (Bremen, Germany). Carbon isotope composition was expressed relative to the Pee Dee Belemnite (PDB) standard and was calculated as:

$$\delta^{13}\text{C} = [(R_{\text{sa}} - R_{\text{sd}}) / R_{\text{sd}}] \times 1000 (\text{‰}) \quad (2)$$

where R_{sa} and R_{sd} are the $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ ratios of the sample and the standard, respectively (Farquhar, Ehleringer & Hubick 1989). The accuracy of $\delta^{13}\text{C}$ measurements during the time samples were passed on the IRMS was $\pm 0.15\text{‰}$ (standard deviation). The carbon isotope discrimination (Δ) between atmospheric CO_2 (δ_{air}) and plant material (δ_{plant}) was then calculated as:

$$\Delta = (\delta_{\text{air}} - \delta_{\text{plant}}) / (1 + (\delta_{\text{plant}} / 1000)), \quad (3)$$

assuming δ_{air} equals -8‰ (Farquhar *et al.* 1989). Nitrogen concentration of the same samples used for $\delta^{13}\text{C}$ analyses was obtained with a Carlo Erba NA1500 elemental analyser (Carlo Erba Instruments, Milan, Italy) coupled to the IRMS and was expressed on a dry mass basis (N_M , g g⁻¹).

Whole plant growth performances

Whole plant growth performance was characterized for each genotype by computing the relative growth rate (RGR, g g⁻¹ day⁻¹) of the main shoot of each stool during the 2008 growing season ($n = 15$ per genotype). This was realized by combining seasonal growth kinetics in terms of shoot height increment and allometric relationships established between shoot height and shoot dry mass for each genotype, as described in details in Fichot *et al.* (in press). The RGR was calculated for a time period of linear growth common to the eight genotypes as $\text{RGR} = [\ln(m_2) - \ln(m_1)] / (t_2 - t_1)$, where m_1 and m_2 are the estimated shoot dry mass at t_1 (04 July) and t_2 (14 August), respectively (Fichot *et al.* in press).

Statistical analyses

Data management and statistical analyses were carried out using the SPSS 11.0 statistical software (SPSS, Chicago, IL., USA). Differences among genotypes were analyzed by analysis of variance with a general linear model. Relationships between pairs of continuous variables were analyzed at the genotype level by linear regression analysis and Pearson's correlation coefficients (r). All tests were considered significant at $P < 0.05$. Means are expressed with their standard errors (SE).

RESULTS

Hydraulic variables

A_X and A_L , expressed in m^2 , scaled positively [$A_X = 2 \times 10^{-4} A_L - 2 \times 10^{-6}$; $r = 0.89$, $P = 0.003$] but $A_X : A_L$ varied significantly between genotypes ($P < 0.001$, **Table 3.2**). Variables derived from HPFM measurements (k_{SL} and k_{SS}) differed significantly among genotypes ($P < 0.001$, **Table 3.2**); k_{SL} and k_{SS} were highly correlated while no significant correlation could be found between k_{SL} and $A_X : A_L$ (**Fig. 3.1A** and **3.1B**). The calculated k_{plant} varied significantly among genotypes ($P < 0.001$, **Table 3.2**) and scaled positively with k_{SL} (**Fig. 3.1C**). As expected, k_{plant} was about two orders of magnitude lower than k_{SL} since k_{plant} integrates the hydraulic resistance of both roots and leaves.

Vulnerability curves for the eight genotypes grown under non-limiting conditions were already available from a previous experiment (Fichot *et al.* in press); the analysis revealed that values of Ψ_{50} varied significantly ($P < 0.001$) among genotypes from -1.60 MPa for ‘*Robusta*’ to -2.41 MPa for ‘*Eco28*’. $|\Psi_{50}|$ scaled negatively with k_{SL} , k_{SS} and k_{plant} , *i.e.* the more resistant to cavitation, the less efficient water transport (**Fig. 3.2**).

Table 3.2 Summary of hydraulic characteristics for the eight genotypes

	Genotypes							
	AgF	Cim	E28	Fle	I45	Lui	Pan	Rbs
$A_x : A_L$ ($\times 10^{-4}$)	2.42 ± 0.12	1.98 ± 0.09	2.70 ± 0.11	2.61 ± 0.16	2.33 ± 0.11	2.57 ± 0.16	2.13 ± 0.09	2.04 ± 0.10
k_{ss} ($\text{kg s}^{-1} \text{m}^{-2} \text{MPa}^{-1}$)	16.28 ± 0.84	15.15 ± 1.44	9.88 ± 0.61	16.76 ± 1.03	17.76 ± 1.07	14.51 ± 2.21	18.66 ± 1.04	20.96 ± 1.64
k_{SL} ($\times 10^{-3} \text{kg s}^{-1} \text{m}^{-2} \text{MPa}^{-1}$)	3.82 ± 0.16	2.95 ± 0.27	2.63 ± 0.17	4.18 ± 0.19	4.06 ± 0.25	3.51 ± 0.53	3.85 ± 0.15	3.99 ± 0.18
k_{plant} ($\times 10^{-5} \text{kg s}^{-1} \text{m}^{-2} \text{MPa}^{-1}$)	7.76 ± 0.44	5.67 ± 0.57	4.76 ± 0.22	6.24 ± 0.24	7.77 ± 0.66	6.27 ± 0.47	6.69 ± 0.63	6.98 ± 1.14
Ψ_{50} (MPa) *	-1.96 ± 0.03	-2.18 ± 0.07	-2.41 ± 0.08	-2.04 ± 0.03	-1.69 ± 0.08	-2.01 ± 0.02	-1.72 ± 0.04	-1.60 ± 0.08

Values are means ± SE ($n = 5$ for k_{plant} and Ψ_{50} ; see Table 1 for the number of replicates for $A_x : A_L$, k_{ss} and k_{SL}). Traits marked with an asterisk indicate that data have previously been reported (Fichot *et al.* in press). See Table 1 for genotype abbreviations.

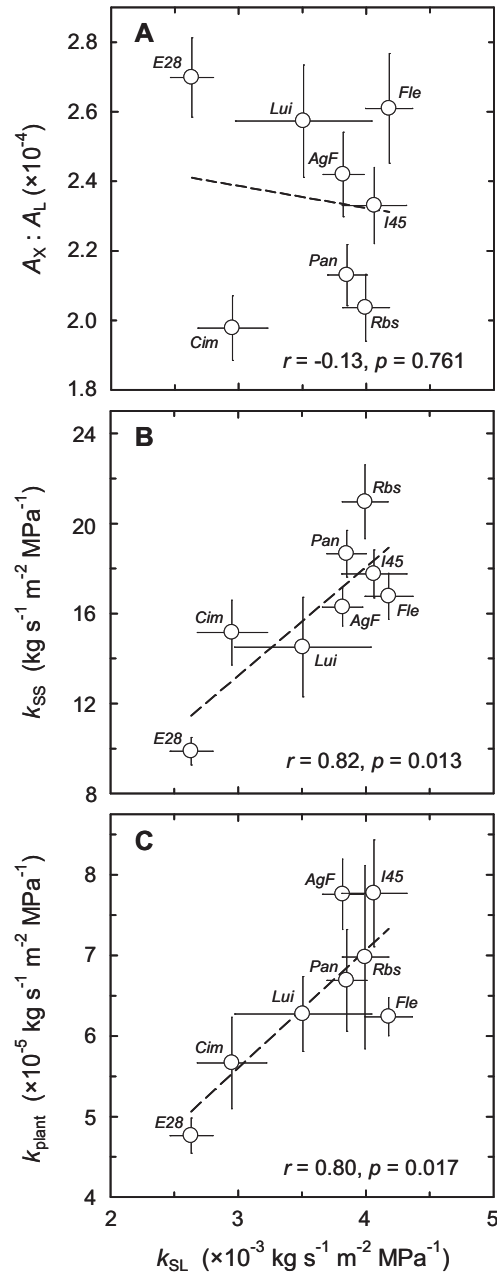


Figure 3.1 The relationship between leaf specific hydraulic conductance of the stem as measured with the HPFM (k_{SL}) and (A) sapwood to leaf area ratio ($A_x : A_L$), (B) xylem specific hydraulic conductance (k_{ss}), and (C) apparent whole-plant leaf specific hydraulic conductance as calculated from the Ohm's law analogy (k_{plant}). Values are genotypic means ± SE ($n = 5$ for k_{plant} ; see Table 1 for the number of replicates for k_{SL}). The dashed line is a linear regression fitted to the data (Pearson's correlation coefficients, r). See Table 1 for genotype abbreviations. 'Robusta'.

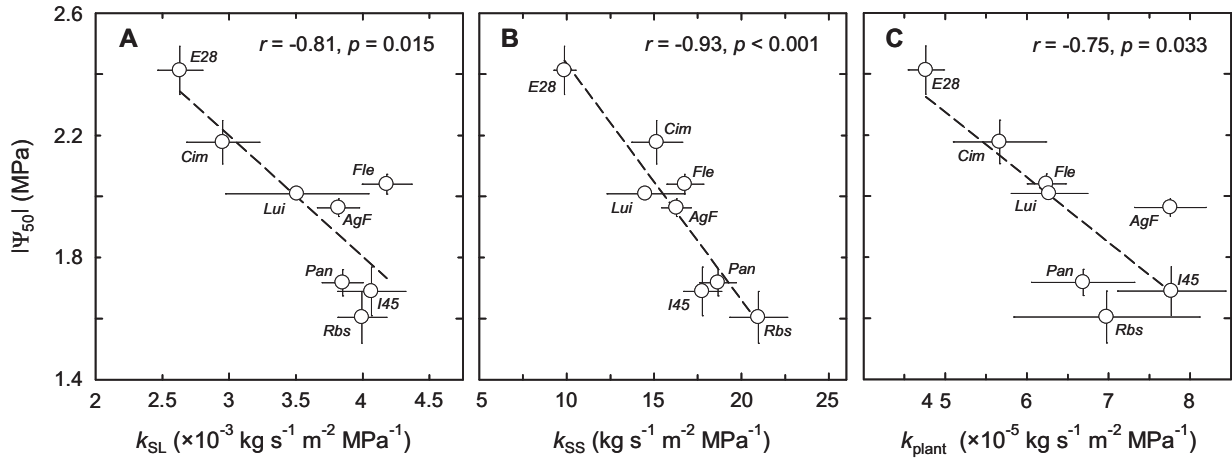


Figure 3.2 The xylem tension causing 50% loss in stem hydraulic conductance (Ψ_{50}) as a function of (A) leaf specific hydraulic conductance (k_{SL}), (B) xylem specific hydraulic conductance (k_{SS}), and (C) apparent whole-plant leaf specific hydraulic conductance (k_{plant}). Note that negative Ψ_{50} data were converted to absolute values. Values are genotypic means $\pm$ SE ($n = 5$ for Ψ_{50} ; $n = 5$ for k_{plant} ; see Table 1 for the number of replicates for k_{SL} and k_{SS}). The dashed lines are linear regressions fitted to the data (Pearson's correlation coefficients, r).

Leaf characteristics and relationships with hydraulic architecture

Significant variations ($P < 0.05$) were found among genotypes for all leaf structural and functional traits (**Table 3.3**). For traits assessed both in June and July 2008 (SLA, N_M and Δ), values were globally higher in June than in July (**Table 3.3**). However, the magnitude of variations between June and July was genotype-dependant so that values could not be pooled over the two sampling dates (**Table 3.3**). Values of Ψ_L were constrained in a narrow range (-1.48 to -1.92 MPa; **Table 3.3**) and did not correlate significantly with gas exchange rates ($P > 0.927$). A did not correlate significantly either with g_s ($r = 0.45$, $P = 0.259$), SLA ($r = 0.22$, $P = 0.605$) or N_M ($r = 0.43$, $P = 0.282$). Variations in WUE_i were mostly driven by g_s ($r = -0.94$, $P < 0.001$) rather than by A ($r = -0.15$, $P = 0.723$); similar trends were observed for the correlations between Δ and g_s ($r = 0.62$, $P = 0.103$) and between Δ and A ($r = -0.08$, $P = 0.860$). A significant linear and negative relationship was found between Δ and WUE_i , as expected from theory (**Fig. 3.3**). No significant relationship could be found between Δ and SLA ($r = 0.66$, $P = 0.074$ in June; $r = 0.61$, $P = 0.111$ in July).

Table 3.3 Summary of leaf structural, morphological and functional characteristics for the eight genotypes

	Genotypes							
	AgF	Cim	E28	Flc	l45	Lui	Pan	Rbs
SLA _{June} (cm ² g ⁻¹) *	150.4 ± 4.2	181.6 ± 8.2	156.9 ± 7.0	176.5 ± 6.7	158.2 ± 3.6	205.9 ± 16.3	165.6 ± 4.3	181.3 ± 4.6
SLA _{July} (cm ² g ⁻¹)	116.9 ± 2.4	119.2 ± 4.0	97.4 ± 2.5	112.2 ± 6.4	106.3 ± 2.6	120.4 ± 2.7	111.8 ± 2.0	114.7 ± 2.9
N _{mass-June} (g g ⁻¹) *	0.025 ± 0.002	0.032 ± 0.002	0.031 ± 0.001	0.035 ± 0.002	0.030 ± 0.002	0.038 ± 0.002	0.032 ± 0.001	0.030 ± 0.001
N _{mass-July} (g g ⁻¹)	0.020 ± 0.000	0.017 ± 0.001	0.017 ± 0.001	0.021 ± 0.001	0.017 ± 0.001	0.019 ± 0.001	0.023 ± 0.002	0.019 ± 0.002
Δ _{June} (%) *	20.66 ± 0.20	21.35 ± 0.12	20.58 ± 0.14	20.16 ± 0.11	20.03 ± 0.10	21.34 ± 0.19	20.54 ± 0.11	21.27 ± 0.10
Δ _{July} (%)	19.94 ± 0.22	21.26 ± 0.16	19.88 ± 0.27	19.77 ± 0.13	20.90 ± 0.16	20.49 ± 0.08	20.09 ± 0.20	21.07 ± 0.24
Ψ _L (MPa)	-1.57 ± 0.05	-1.92 ± 0.13	-1.69 ± 0.07	-1.51 ± 0.08	-1.48 ± 0.06	-1.51 ± 0.06	-1.72 ± 0.06	-1.84 ± 0.11
A _{area} (μmol s ⁻¹ m ⁻²)	18.1 ± 1.3	15.0 ± 0.8	13.8 ± 1.0	13.5 ± 0.9	15.9 ± 0.5	14.4 ± 1.1	17.9 ± 0.7	14.9 ± 0.9
g _s (mmol s ⁻¹ m ⁻²)	502 ± 54	582 ± 52	365 ± 77	441 ± 33	708 ± 52	609 ± 92	674 ± 25	605 ± 45
E (mmol s ⁻¹ m ⁻²)	6.5 ± 0.2	5.4 ± 0.6	4.0 ± 0.3	4.9 ± 0.4	5.8 ± 0.4	4.6 ± 0.3	5.7 ± 0.4	6.3 ± 0.9
WUE _i (mmol mol ⁻¹)	0.037 ± 0.002	0.027 ± 0.001	0.043 ± 0.006	0.034 ± 0.001	0.021 ± 0.003	0.025 ± 0.004	0.026 ± 0.002	0.025 ± 0.003
Total stomatal density (mm ⁻²)	310 ± 10	260 ± 13	333 ± 7	270 ± 17	151 ± 6	276 ± 14	279 ± 10	230 ± 8
Stomatal pore length (μm)	19.3 ± 0.2	18.5 ± 0.7	19.9 ± 0.6	21.0 ± 0.4	24.9 ± 0.7	19.4 ± 0.8	19.6 ± 0.3	19.8 ± 0.7
Total SPI	0.116 ± 0.006	0.089 ± 0.007	0.132 ± 0.007	0.119 ± 0.010	0.094 ± 0.002	0.104 ± 0.008	0.107 ± 0.006	0.090 ± 0.005

Values are means ± SE (*n* = 5, except traits marked with an asterisks for which number of replicates are indicated in Table 1). Abbreviations are: SLA, specific leaf area; N_{mass}, mass-based nitrogen content; Δ, bulk leaf carbon isotope discrimination; Ψ_L, midday leaf water potential; A, net CO₂ assimilation rate; g_s, stomatal conductance to water vapour; E, leaf transpiration rate; WUE_i, intrinsic water-use efficiency; SPI, stomatal pore area index. See Table 1 for genotype abbreviations.

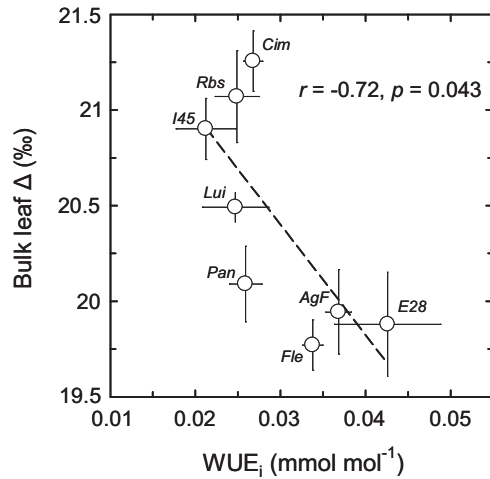


Figure 3.3 The bulk leaf carbon isotope discrimination (Δ) as a function of intrinsic water-use efficiency (WUE_i). Values are genotypic means $\pm$ SE ($n = 5$). The dashed line is linear regression fitted to the data (Pearson's correlation coefficients, r). See Table 1 for genotype abbreviations.

Stomatal density varied approximately 2-fold, from 151 per mm^2 in 'I45-51' to 333 per mm^2 in 'Eco28' ($P < 0.001$), and stomatal pore length varied from $18.5 \mu\text{m}$ in 'Cima' to $24.9 \mu\text{m}$ in 'I45-51' ($P < 0.001$) (**Table 3.3**). Stomatal density decreased with increasing stomatal pore length ($r = -0.76$, $P = 0.027$) but no more when 'I45-51' was discarded from the analysis ($r = 0.035$, $P = 0.941$), suggesting this genotype was the main driver for the relationship. Additionally, the relationship between stomatal density and stomatal pore length was not sufficiently compensatory as to equalize SPI (the product of stomatal density and stomatal pore length²) so that SPI varied significantly among the eight genotypes ($P < 0.001$) from 8.9×10^{-2} in 'Cima' to 13.2×10^{-2} in 'Eco28' (**Table 3.3**). Variations in stomatal density were the main driver for those observed in SPI ($r = 0.73$, $P = 0.039$) while variations in stomatal pore length contributed poorly ($r = -0.13$, $P = 0.757$). Stomatal density correlated significantly and negatively with g_s and Δ while positively with WUE_i (**Fig. 3.4A, 4B and 4C**); the same trends were observed with SPI though the relationships were stronger (**Fig. 3.4D, 4E and 4F**). There were no significant correlations between stomatal pore length and either g_s , Δ or WUE_i ($P > 0.410$).

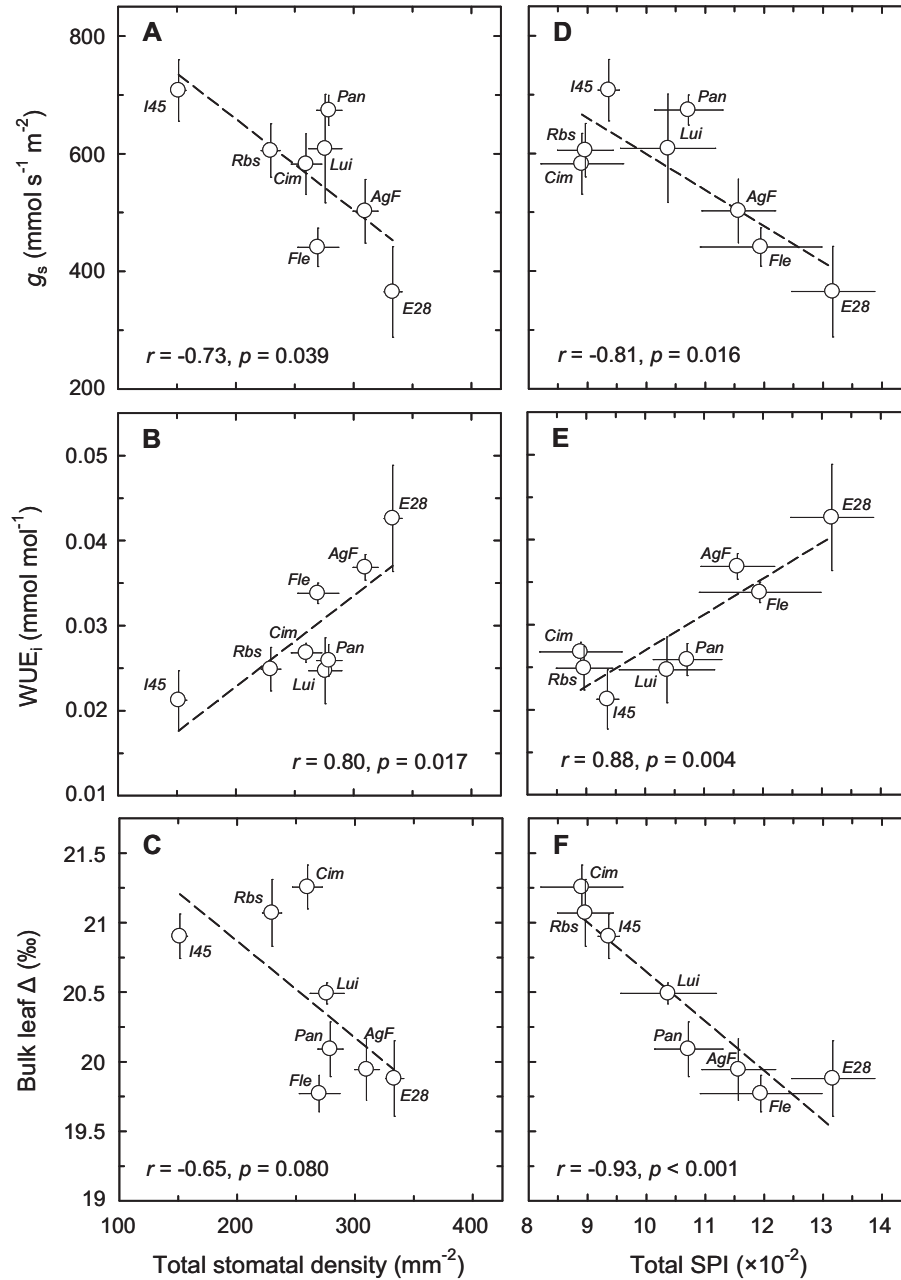


Figure 3.4 Stomatal conductance (g_s), intrinsic water-use efficiency (WUE_i) and bulk leaf carbon isotope discrimination (Δ) as a function of total stomatal density [(A) to (C)] or total stomatal pore area index (SPI) [(D) to (F)]. Values are genotypic means $\pm$ SE ($n = 5$). The dashed lines are linear regressions fitted to the data (Pearson's correlation coefficients, r). See Table 1 for genotype abbreviations.

There was no significant relationship between Ψ_L and either k_{SL} or $|\Psi_{50}|$ ($P > 0.270$). Neither g_s nor A were significantly related to k_{SL} (**Fig. 3.5**), although g_s and $|\Psi_{50}|$ were significantly and negatively related ($r = 0.78$, $P = 0.021$; Fichot *et al.* in press). WUE estimates were not significantly related to k_{SL} , even when considering Δ data from both June

and July (**Fig. 3.5**). Similarly, stomatal characteristics (stomatal density, stomatal pore length and SPI) did not scale significantly with estimates of hydraulic efficiency ($P > 0.150$).

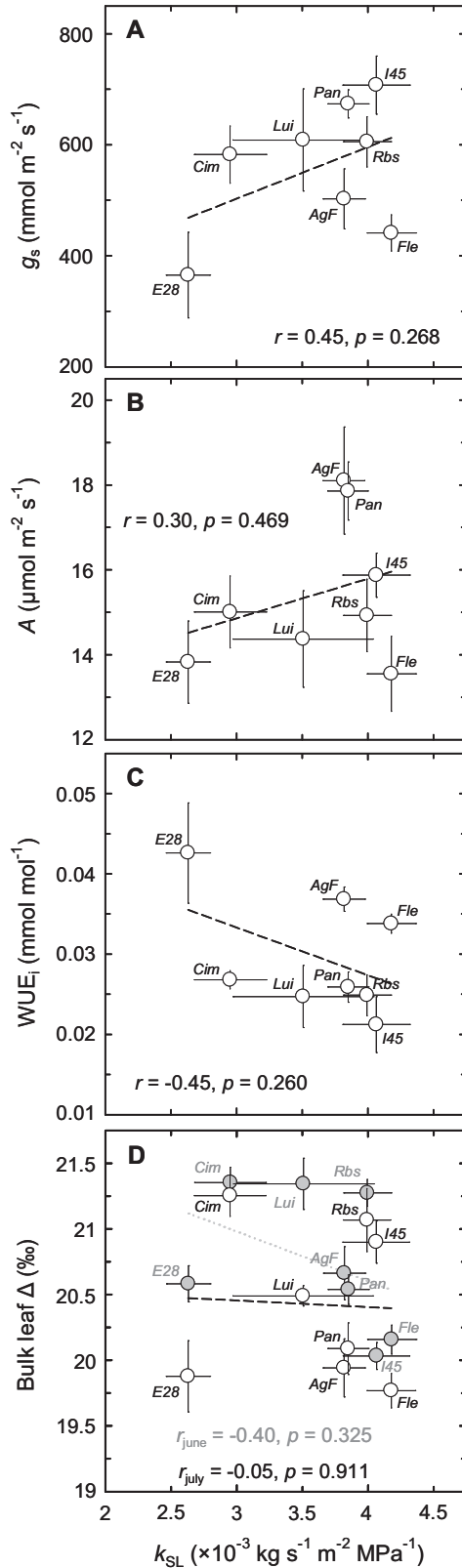


Figure 3.5 Stomatal conductance [g_s , (A)], net CO_2 assimilation rate [A , (B)]; intrinsic water-use efficiency [WUE_i , (C)] and bulk leaf carbon isotope discrimination [Δ , (D)] as a function of leaf specific hydraulic conductance (k_{SL}). For the graph (D), Δ was assessed at two distinct dates (June and July); grey symbols are for June data, open symbols are for July data. Values are genotypic means $\pm$ SE ($n = 5$ for leaf traits except Δ_{june} ; see Table 1 for the number of replicates for k_{SL} and Δ_{june}). The dashed lines are linear regressions fitted to the data (Pearson's correlation coefficients, r). See Table 1 for genotype abbreviations.

Relative growth rate and relationships with hydraulic architecture

Growth potential as inferred from the RGR varied markedly among the eight genotypes, from $0.013 \text{ g g}^{-1} \text{ day}^{-1}$ for ‘*Robusta*’ to $0.035 \text{ g g}^{-1} \text{ day}^{-1}$ for ‘*Eco28*’ ($P < 0.001$; **Fig. 3.6**). There were no significant relationships between the RGR and water-use efficiency as inferred from WUE_i or Δ ($P > 0.365$). The RGR scaled negatively with k_{SL} , k_{SS} and k_{plant} , *i.e.* the more growth performing the less efficient water transport (**Fig. 3.6**). As k_{SL} , k_{SS} and k_{plant} varied negatively with $|\Psi_{50}|$, the RGR scaled significantly and positively with $|\Psi_{50}|$, *i.e.* the more growth performing, the more resistant to cavitation ($r = 0.82$, $P = 0.009$; Fichot *et al.* in press).

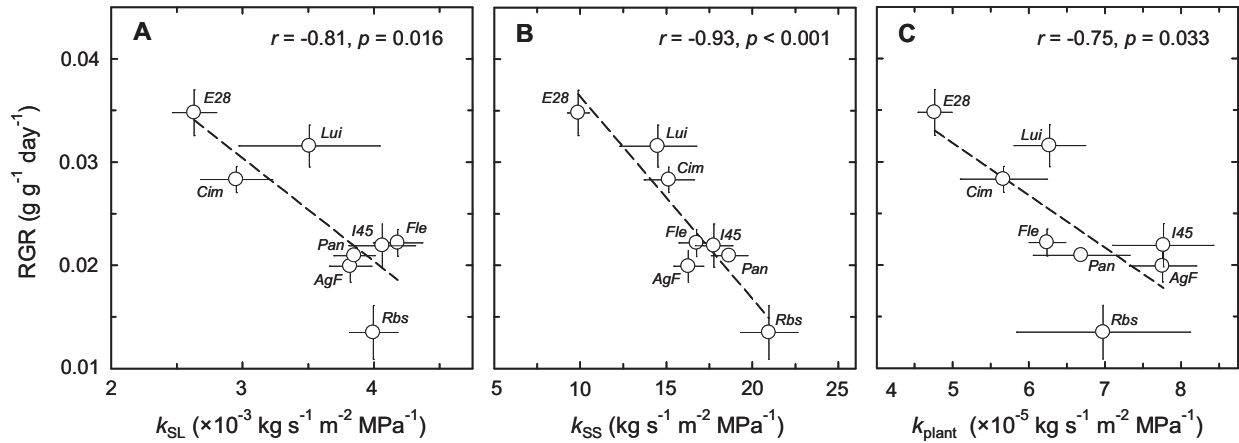


Figure 3.6 The relative growth rate (RGR) as a function of (A) leaf specific hydraulic conductance (k_{SL}), (B) xylem specific hydraulic conductance (k_{SS}), and (C) apparent whole-plant leaf specific hydraulic conductance (k_{plant}). Values are genotypic means $\pm$ SE ($n = 15$ for RGR; $n = 5$ for k_{plant} ; see Table 1 for the number of replicates for k_{SL} and k_{SS}). The dashed lines are linear regressions fitted to the data (Pearson's correlation coefficients, r). See Table 1 for genotype abbreviations.

DISCUSSION

Hydraulic architecture

Significant variations in hydraulic efficiency were found among the eight *P. deltoides* × *P. nigra* genotypes. Values recorded for k_{SL} and k_{SS} were generally at least one order of magnitude higher than those reported in other deciduous and evergreen forest tree species (Nardini & Tyree 1999; Nardini & Salleo 2000; Nardini 2001; Caquet *et al.* 2009), but they were quite comparable to those found among four closely related willow clones (Wikberg & Ögren 2004). High hydraulic efficiency combined with high rates of water loss and net carbon fixation are characteristic of pioneer tree species (Tyree, Velez & Dalling 1998; Becker, Tyree & Tsuda 1999; Sobrado 2003). Thus, the high values of k_{SL} and k_{SS} recorded in the present study, combined with an overall high vulnerability to drought-induced embolism (see Fichot *et al.* in press), are to be related to the pioneering and opportunistic behaviour of poplar.

Measurements of k_{SL} reported in this paper only account for the stem hydraulic resistance, and are actually maximal values since the positive pressures used by the HPFM are likely to refill embolized vessels and to eliminate effects of water capacitance (Tyree *et al.* 1995). In contrast, field measurements of k_{plant} integrate by definition all soil-to-leaf hydraulic resistances, potential emboli as well as possible non-steady-state water flow. In spite of inherent differences between the two types of measurements, the tight relationship between k_{SL} and k_{plant} indicated that HPFM measurements of stem hydraulic efficiency accurately reflected whole-plant water transport efficiency of field-grown plants at maximum transpiration rate. This pattern is however to be expected only if the water transport pathway is coordinated at different points in the entire transport pathway from roots to leaves, *i.e.* only if higher stem hydraulic efficiency scales to some extent to higher root and leaf hydraulic efficiency (see discussion in Sack *et al.* 2005; Pratt *et al.* 2010).

By definition, k_{SL} is the product of k_{SS} and $A_X : A_L$ (Tyree & Ewers 1991). In this study, k_{SL} was mainly driven by k_{SS} , indicating that differences in stem xylem anatomy were mainly responsible for the variability observed in leaf-specific hydraulic efficiency rather than differences in carbon-allocation patterns. However, the exact structural basis for increased k_{SS} in genotypes with higher k_{SL} was not directly addressed in this study. The axial xylem hydraulic conductance is intrinsically dependent on the number of conduits in parallel, their diameter and their length (Tyree & Zimmermann 2002). A previous study demonstrated significant variations in stem vessel diameter and vessel frequency among six out of the eight study genotypes (Fichot *et al.* 2009) but vessel attributes from this study did not correlate significantly with HPFM estimates of hydraulic efficiency (data not shown). A probable explanation may relate to the fact that estimating xylem hydraulic efficiency using cross-sectional vessel characteristics ignores some key aspects of water flow efficiency contrary to HPFM measurements, such as (i) vessel lengths and contribution of end-walls to hydraulic resistance (Sperry, Hacke & Wheeler 2005; Wheeler *et al.* 2005), and (ii) spatial patterns of conduit ramification and tapering from the base to the top of the stem (McCulloh *et al.* 2010).

There was evidence for a trade-off between water transport efficiency and xylem safety, consistently with other numerous studies reporting such trade-off at the organ or at the whole-plant level (*e.g.* Hacke, Sperry & Pittermann 2000; Martínez-Vilalta *et al.* 2002; Bucci *et al.* 2006; Maherali *et al.* 2006; Pratt *et al.* 2007; see also Hacke *et al.* 2006). At the whole-plant level, common explanation for this trade-off relates to the fact that a lower k_{SL} or k_{plant} at any given transpiration rate is expected to result in a larger potential drop ($\Delta\Psi$) along the soil-to-leaf hydraulic continuum and thus requires the construction of a safer xylem to circumvent the greater risks of embolism. However, field measurements of Ψ_L revealed that variations in the soil-to-leaf $\Delta\Psi$ were not sufficient to account entirely for the large variations observed in Ψ_{50} . Accordingly, safety margins varied significantly among the eight genotypes (from 0.98

to -0.02 MPa; see Fichot *et al.* in press), which contrasts with the common observation that similar and low safety margins tend to be conserved across a broad range of species and habitats (Hacke *et al.* 2000; Pratt *et al.* 2007; Jacobsen *et al.* 2007). The functional significance of such variable safety margins within *P. deltoides* × *P. nigra* remains therefore unclear under non-limiting conditions, but this trend is likely to translate into different growth and water use strategies during short water shortages.

Coordination between hydraulic architecture and leaf function

One objective of this study was to test whether the coordination between liquid and vapour phase predicted from the Ohm's law analogue and supported by a large body of inter-specific studies (Brodribb & Feild 2000; Brodribb *et al.* 2002; Santiago *et al.* 2004; Brodribb *et al.* 2005; Zhang & Cao 2009) was valid across the eight *P. deltoides* × *P. nigra* genotypes. Our results were at first inconsistent with this hypothesis as neither g_s nor A were found to correlate directly with k_{SL} . However, the close link evidenced between k_{SL} and k_{plant} (which integrates both whole-leaf water loss and Ψ_L) better supports the coordination between liquid and vapour phase conductances. A tight positive relationship between k_{SL} and g_s is to be expected only if $\Delta\Psi$ (and thus Ψ_L) is held constant, an assumption that was actually not met across the eight genotypes as Ψ_L was found to vary along a 0.45 MPa range.

We did not find evidence for a relationship between hydraulic efficiency and WUE, as inferred from WUE_i and Δ . It should be stressed that, although not significant, the relationships between estimates of hydraulic efficiency and WUE_i tended to be stronger than with Δ . This trend may be easily explained considering that HPFM and WUE_i estimates are based on steady-state measurements ignoring the dynamic responses of liquid and vapour phase conductance (Tsuda & Tyree 2000; Meinzer 2002; Mencuccini 2003), contrary to Δ that integrates diurnal gas exchange dynamics over the leaf ontogeny. The bulk of the literature points to a lack of consensus about the relationship between hydraulic efficiency

and WUE, since positive (Sobrado 2000; Drake & Franks 2003; Sobrado 2003; Kocacinar & Sage 2003, 2004; Santiago *et al.* 2004; Kocacinar *et al.* 2008), negative (Panek 1996; Campanello *et al.* 2008; Ducrey *et al.* 2008; Martínez-Vilalta *et al.* 2009) or no relationships (Preston & Ackerly 2003; Edwards 2006) may occur depending on life history of species or populations. Other issues that are likely to influence the direction and the strength of the relationship include the way g_s can be related to hydraulic function (Ducrey *et al.* 2008); how g_s and photosynthetic capacity are related to each other and to which extent each drives the variations in WUE under a particular environment; the relative range of variation in WUE as compared to other features influencing xylem hydraulics such as variations in depth and architecture of roots, root to shoot allocation and water storage (Preston & Ackerly 2003; Bhaskar, Valiente-Banuet & Ackerly 2007; Sperry, Meinzer & McCulloh 2008).

None of the stomatal characters appeared to be significantly related to hydraulic function. However, the genotypic variations in stomatal density concurred with the genotypic variations observed in g_s and thus in WUE estimates, *i.e.* genotypes with less stomata per unit leaf area displayed higher g_s and lower WUE, thereby indicating the coupling of leaf water loss to stomatal characteristics. These results are in line with the recent report of Dillen *et al.* (2008) on a *P. deltoides* × *P. trichocarpa* family but contrasts severely with the model of Nobel (1999) and most experimental evidence from other studies (Pearce *et al.* 2005; Xu & Zhou 2008; Franks, Drake & Beerling 2009) suggesting that high stomatal density allows the realization of high g_s . Other stomatal characteristics such as pore depth, effective pore width and actual percentage of functional stomata are likely to influence g_s (Aasamaa, Söber & Rahi 2001; Franks *et al.* 2009) and should be considered to address the real significance of a negative relationship between g_s and stomatal density. Further, the SPI has proved to be a strong and predictive indicator of maximum leaf hydraulic conductance (k_{leaf}) across a broad range of species with contrasting ecological function (Sack *et al.* 2003, 2005). Values of SPI

recorded for the eight genotypes were in the range of others previously reported for temperate and tropical woody species (Sack *et al.* 2003, 2005) and were strongly related to g_s and WUE estimates, suggesting a possible coordination between k_{leaf} and leaf water fluxes. However, as variations in SPI were mostly driven by stomatal density, this resulted in an apparently uncommon scenario of coordination, high SPI being coordinated with low g_s and thus high WUE.

Coordination of hydraulic architecture with whole-plant growth performance

Our results suggest that hydraulic architecture and growth performance are intimately linked in poplar. This was manifested by the negative relationship between water transport efficiency and RGR. This pattern contrasts with expectations from the Ohm's law analogue and other results indicating that height increment rates or biomass production increase with increasing leaf specific hydraulic efficiency across a broad range of tree species (Vander Willigen & Pammenter 1998; Campanello *et al.* 2008; Ducrey *et al.* 2008). In addition, the cross-comparison of species with different life history types indicates that early successional colonizing species are characterized by greater hydraulic efficiency as compared to slow-growing later-successional species (Tyree *et al.* 1998; Pratt *et al.* 2010). The fact that gas exchange rates were apparently decoupled from growth performance, as already observed in poplar including *P. deltoides* × *P. nigra* (Barigah *et al.* 1994; Monclus *et al.* 2006) may explain why k_{plant} and k_{SL} did not scale positively with RGR, but does not give the rationale for an opposite relationship. Alternatively, one may hypothesize that a large canopy area, which is the most important factor promoting biomass production in poplar species and related hybrids (Marron *et al.* 2005; Monclus *et al.* 2005; Marron & Ceulemans 2006), would have resulted in a low k_{SL} (Comstock 2000); however our results do not support this hypothesis since most of the variations in k_{SL} originated from variations in k_{SS} rather than A_X : A_L .

Somewhat unexpected was the positive relationship previously reported between xylem safety and growth potential (Fichot *et al.* in press), since increased xylem resistance to cavitation is often thought to be costly for plant growth (Wikberg & Ögren 2004; Cochard, Casella & Mencuccini 2007b). Actually, this pattern can be simply explained through the series of trade-offs occurring on the one hand between hydraulic efficiency and xylem safety and on the other hand between hydraulic efficiency and growth potential. Taken together, these results suggest that the supposed cost for increased safety was more than counterbalanced by the competitive advantage of displaying a lower hydraulic efficiency.

CONCLUSION

This study illustrates significant variations in hydraulic architecture among *P. deltoides* × *P. nigra* genotypes and provides insights into the possible role of hydraulic architecture in mediating some key aspects of whole-plant function in poplar. The strong but uncommon opposite relationship linking hydraulic efficiency to growth performance combined with the trade-off evidenced between hydraulic efficiency and xylem resistance to cavitation provide the rationale for the unexpected positive link previously observed between xylem resistance to cavitation and growth performance (Fichot *et al.* in press). More work is now needed to disentangle the functional basis for low hydraulic efficiency to be associated with high growth performance, and to investigate whether these relationships are specific to *P. deltoides* × *P. nigra* or can be extended to other species.

ACKNOWLEDGMENTS

Isabelle Le Jan, Jean-Michel Petit and Didier Delay at Orleans University, Marc Villar at INRA Orleans, and Bernard Clerc at INRA Nancy are thanked for their help during field experiments. We also thank Françoise Laurans for her help in the histological lab. We gratefully acknowledge the logistic support provided by Ludovic Pasquier and Patrick Poursat at the INRA experimental station of Orleans during the field survey. Claude Brechet and Christian Hossann at the technical platform of Functional Ecology (INRA Nancy) are thanked for analysing $\delta^{13}\text{C}$ samples on the IRMS. Hardwood cuttings from the eight genotypes were kindly provided by Olivier Forestier from the State Forestry Nursery of Guéméné-Penfao (Loire Atlantique, France). R.F., S.C. and C.D. were Junior Researchers. R.F. was supported by a Ph.D. grant from the '*French Ministry of Higher Education and Research*'.

REFERENCES

- Aasamaa K., Söber A. & Rahi M. (2001) Leaf anatomical characteristics associated with shoot hydraulic conductance, stomatal conductance and stomatal sensitivity to changes of leaf water status in temperate deciduous trees. *Australian Journal of Plant Physiology* **28**, 765–774.
- Alder N.N., Pockman W.T., Sperry J.S. & Nuismer S. (1997) Use of centrifugal force in the study of xylem cavitation. *Journal of Experimental Botany* **48**, 665–674.
- Barigah T.S., Saugier B., Mousseau M., Guittet J. & Ceulemans R. (1994) Photosynthesis, leaf area and productivity of 5 poplar clones during their establishment year. *Annals of Forest Science* **51**, 613–625.
- Becker P., Tyree M.T. & Tsuda M. (1999) Hydraulic conductances of angiosperms versus conifers: similar transport sufficiency at the whole-plant level. *Tree Physiology* **19**, 445–452.
- Bhaskar R., Valiente-Banuet A. & Ackerly D.D. (2007) Evolution of hydraulic traits in closely related species pairs from Mediterranean and non-Mediterranean environments of North America. *New Phytologist* **176**, 718–726.
- Brodribb T.J. & Feild T.S. (2000) Stem hydraulic supply is linked to leaf photosynthetic capacity: evidence from New Caledonian and Tasmanian rainforests. *Plant, Cell & Environment* **23**, 1381–1388.
- Brodribb T.J., Holbrook N.M. & Gutiérrez M.V. (2002) Hydraulic and photosynthetic coordination in seasonally dry tropical forest trees. *Plant, Cell & Environment* **25**, 1435–1444.
- Brodribb T.J., Holbrook N.M., Zwieniecki M.A. & Palma B. (2005) Leaf hydraulic capacity in ferns, conifers and angiosperms: impacts on photosynthetic maxima. *New Phytologist* **165**, 839–846.
- Brodribb T.J., Feild T.S. & Jordan G.J. (2007) Leaf maximum photosynthetic rate and venation are linked by hydraulics. *Plant Physiology* **144**, 1890–1898.
- Bucci S.J., Scholz F.G., Goldstein G., Meinzer F.C., Franco A.C., Campanello P.I., Villalobos-Vega R., Bustamante M. & Miralles-Wilhelm F. (2006) Nutrient availability

- constrains the hydraulic architecture and water relations of savannah trees. *Plant, Cell & Environment* **29**, 2153-2167.
- Campanello P.I., Gatti M.G. & Goldstein G. (2008) Coordination between water-transport efficiency and photosynthetic capacity in canopy tree species at different growth irradiances. *Tree Physiology* **28**, 85-94.
- Caquet B., Barigah T.S., Cochard H., Montpied P., Collet C., Dreyer E. & Epron D. (2009) Hydraulic properties of naturally regenerated beech saplings respond to canopy opening. *Tree Physiology* **29**, 1395-1405.
- Cochard H., Coll L., Le Roux X. & Ameglio T. (2002) Unravelling the effects of plant hydraulics on stomatal closure during water stress in walnut. *Plant Physiology* **128**, 282-290.
- Cochard H., Damour G., Bodet C., Ibrahim T., Poirier M. & Ameglio T. (2005) Evaluation of a new centrifuge technique for rapid generation of xylem vulnerability curves. *Physiologia Plantarum* **124**, 410-418.
- Cochard H., Venisse J.S., Barigah T.S., Brunel N., Herbette S., Guilliot A., Tyree M.T. & Sakr S. (2007a) Putative role of aquaporins in variable hydraulic conductance of leaves in response to light. *Plant Physiology* **143**, 122-133.
- Cochard H., Casella E. & Mencuccini M. (2007b) Xylem vulnerability to cavitation varies among poplar and willow clones and correlates with yield. *Tree Physiology* **27**, 1761-1767.
- Comstock J.P. (2000) Variation in hydraulic architecture and gas-exchange in two desert shrubs, *Hymenoclea salsola* (T. & G.) and *Ambrosia dumosa* (Payne). *Oecologia* **125**, 1-10.
- Dillen S.Y., Marron N., Koch B. & Ceulemans R. (2008) Genetic variation of stomatal traits and carbon isotope discrimination in two hybrid poplar families (*Populus deltoides* 'S9-2' × *P. nigra* 'Ghoy' and *P. deltoides* 'S9-2' × *P. trichocarpa* 'V24'). *Annals of Botany* **102**, 399-407.
- Drake P.L. & Franks P.J. (2003) Water resource partitioning, stem xylem hydraulic properties, and plant water use strategies in a seasonally dry riparian tropical rainforest. *Oecologia* **137**, 321-329.
- Ducrey M., Huc R., Ladjal M. & Guehl J.M. (2008) Variability in growth, carbon isotope composition, leaf gas exchange and hydraulic traits in the eastern Mediterranean cedars *Cedrus libani* and *C. brevifolia*. *Tree Physiology* **28**, 689-701.

- Edwards E.J. (2006) Correlated evolution of stem and leaf hydraulic traits in *Pereskia* (Cactaceae). *New Phytologist* **172**, 479-489.
- Farquhar G.D., Ehleringer J.R. & Hubick K.T. (1989) Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **40**, 503-537.
- Fichot R., Laurans F., Monclus R., Moreau A., Pilate G. & Brignolas F. (2009) Xylem anatomy correlates with gas exchange, water-use efficiency and growth performance under contrasting water regimes: evidence from *Populus deltoides* × *Populus nigra* hybrids. *Tree Physiology* **29**, 1537-1549.
- Fichot R., Barigah T.S., Chamaillard S., Le Thiec D., Laurans F., Cochard H. & Brignolas F. (in press) Common trade-offs between xylem resistance to cavitation and other physiological traits do not hold among unrelated *Populus deltoides* × *Populus nigra* genotypes. *Plant, Cell & Environment* doi: 10.1111/j.1365-3040.2010.02164.x.
- Franks P.J., Drake P.L. & Beerling D.J. (2009) Plasticity in maximum stomatal conductance constrained by negative correlations between stomatal size and density: an analysis using *Eucalyptus globulus*. *Plant, Cell & Environment* **32**, 1737-1748.
- Hacke U.G., Sperry J.S. & Pittermann J. (2000) Drought experience and cavitation resistance in six shrubs from the great basin, Utah. *Basic Applied Ecology* **1**, 31-41.
- Hacke U.G. & Sperry J.S. (2001) Functional and ecological xylem anatomy. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **4**, 97-115.
- Hacke U.G., Sperry J.S., Wheeler J.K. & Castro L. (2006) Scaling of Angiosperm xylem structure with safety and efficiency. *Tree Physiology* **26**, 689-701.
- Heilman P.E., Hinckley T.M., Roberts D.A. & Ceulemans R. (1996) Production Physiology. *In: Biology of Populus and its implications for management and conservation*. Eds. Stettler R.F., Bradshaw H.D. Jr., Heilman P.E. & Hinckley T.M. NRC Research Press, Ottawa, Ontario, Canada. 539 p.
- Hubbard R.M., Ryan M.G., Stiller V. & Sperry J.S. (2001) Stomatal conductance and photosynthesis vary linearly with plant hydraulic conductance in ponderosa pine. *Plant, Cell & Environment* **24**, 113-121.
- Jacobsen A.L., Pratt R.B., Ewers F.W. & Davis S.D. (2007) Cavitation resistance among 26 chaparral species of southern California. *Ecological Monographs* **77**, 99-115.

- Kocacinar F. & Sage R.F. (2003) Photosynthetic pathway alters xylem structure and hydraulic function in herbaceous plants. *Plant, Cell & Environment* **26**, 2015-2026.
- Kocacinar F. & Sage R.F. (2004) Photosynthetic pathway alters hydraulic structure and function in woody plants. *Oecologia* **139**, 214-223.
- Kocacinar F., McKown A.D., Sage T.L. & Sage R.F. (2008) Photosynthetic pathway influences xylem structure and function in *Flaveria* (Asteraceae). *Plant, Cell & Environment* **31**, 1363-1376.
- Maherali H., Moura C.F., Caldeira M.C., Willson C.J. & Jackson R.B. (2006) Functional coordination between leaf gas exchange and vulnerability to xylem cavitation in temperate forest trees. *Plant, Cell & Environment* **29**, 571-583.
- Marron N., Villar M., Dreyer E., Delay D., Boudouresque E., Petit J.M., Delmotte F.M., Guehl J.M. & Brignolas F. (2005) Diversity of leaf traits related to productivity in 31 *Populus deltoides* × *Populus nigra* clones. *Tree Physiology* **25**, 425-435.
- Marron N. & Ceulemans R. (2006) Genetic variation of leaf traits related to productivity in a *Populus deltoides* × *Populus nigra* family. *Canadian Journal of Forest Research* **36**, 390-400.
- Martínez-Vilalta J., Prat E., Oliveras I. & Piñol J. (2002) Xylem hydraulic properties of roots and stems of nine Mediterranean woody species. *Oecologia* **133**, 19-29.
- Martínez-Vilalta J., Cochard H., Mencuccini M., Sterck F., Herrero A., Korhonen J.F.J., Llorens P., Nikinmaa E., Nolé A., Poyatos R., Ripullone F., Sas-Klaassen U. & Zweifel R. (2009) Hydraulic adjustments of scots pine across Europe. *New Phytologist* **184**, 353-364.
- McCulloh K., Sperry J.S., Lachenbruch B., Meinzer F.C., Reich P.B. & Voelker S. (2010) Moving water well: comparing hydraulic efficiency in twigs and trunks of coniferous, ring-porous, and diffuse-porous saplings from temperate and boreal forests. *New Phytologist* doi: 10.1111/j.1469-8137.2010.03181.x
- Meinzer F.C. & Grantz D.A. (1991) Coordination of stomatal, hydraulic, and canopy boundary layer properties: do stomata balance conductances by measuring transpiration? *Physiologia Plantarum* **83**, 324-329.
- Meinzer F.C. (2002) Co-ordination of vapour and liquid phase water transport properties in plants. *Plant, Cell & Environment* **25**, 265-274.

- Mencuccini M. (2003) The ecological significance of long-distance water transport: short-term regulation, long-term acclimation and the hydraulic costs of stature across plant life forms. *Plant, Cell & Environment* **26**, 163-182.
- Monclus R., Dreyer E., Delmotte F.M., Villar M., Delay D., Boudouresque E., Petit J.M., Marron N., Bréchet C. & Brignolas F. (2005) Productivity, leaf traits and carbon isotope discrimination in 29 *Populus deltoides* × *P. nigra* clones. *New Phytologist* **167**, 53-62.
- Monclus R., Dreyer E., Villar M., Delmotte F.M., Delay D., Petit J.M., Barbaroux C., Le Thiec D., Bréchet C. & Brignolas F. (2006) Impact of drought on productivity and water-use efficiency in 29 genotypes of *Populus deltoides* × *Populus nigra*. *New Phytologist* **169**, 765-777.
- Nardini A. & Tyree M.T. (1999) Root and shoot hydraulic conductance of seven *Quercus* species. *Annals of Forest Science* **56**, 371-377.
- Nardini A. & Salleo S. (2000) Limitation of stomatal conductance by hydraulic traits: sensing or preventing xylem cavitation? *Trees* **15**, 14-24.
- Nardini A. (2001) Are sclerophylls and mallacophylls hydraulically different? *Biologia Plantarum* **44**, 239-245.
- Nobel P.S. (1999) Resistances and conductances - Transpiration. *In*: Physicochemical and environmental plant physiology. 2nd ed. Academic Press, San Diego, 635: pp. 301–303.
- Panek J.A. (1996) Correlations between stable carbon-isotope abundance and hydraulic conductivity in Douglas-fir across a climate gradient in Oregon, USA. *Tree Physiology* **16**, 747-755.
- Pearce D.W., Millard S., Bray D.F. & Rood S.B. (2005) Stomatal characteristics of riparian poplar species in a semi-arid environment. *Tree Physiology* **26**, 211–218.
- Pataki D.E., Oren R. & Phillips N. (1998) Responses of sap flux and stomatal conductance of *Pinus taeda* L. trees to stepwise reductions in leaf area. *Journal of Experimental Botany* **49**, 871-878.
- Pratt R.B., Jacobsen A.L., Ewers F.W. & Davis S.D. (2007) Relationships among xylem transport, biomechanics and storage in stems and roots of nine *Rhamnaceae* species of the California chaparral. *New Phytologist* **174**, 787-798.

- Pratt R.B., North G.B., Jacobsen A.L., Ewers F.E. & Davis S.D. (2010) Xylem root and shoot hydraulics is linked to life history type in chaparral seedlings. *Functional Ecology* **24**, 70-81.
- Preston K.A. & Ackerly D.D. (2003) Hydraulic architecture and the evolution of shoot allometry in contrasting climates. *American Journal of Botany* **90**, 1502-1512.
- Sack L., Cowan P.D., Jaikumar N. & Holbrook N.M. (2003) The 'hydrology' of leaves: co-ordination of structure and function in temperate woody species. *Plant, Cell & Environment* **26**, 1343-1356.
- Sack L., Tyree M.T. & Holbrook N.M. (2005) Leaf hydraulic architecture correlates with regeneration irradiance in tropical rainforest trees. *New Phytologist* **167**, 403-413.
- Santiago L.S., Goldstein G., Meinzer F.C., Fisher J.B., Machado K., Woodruff D. & Jones T. (2004) Leaf photosynthetic traits scale with hydraulic conductivity and wood density in Panamanian forest canopy trees. *Oecologia* **140**, 543-550.
- Sperry J.S., Alder N.N. & Eastlack S.E. (1993) The effect of reduced hydraulic conductance on stomatal conductance and xylem cavitation. *Journal of Experimental Botany* **44**, 1075-1082.
- Sperry J.S., Hacke U.G., Oren R. & Comstock J.P. (2002) Water deficits and hydraulic limits to leaf water supply. *Plant, Cell & Environment* **25**, 251-263.
- Sperry J.S., Hacke U.G. & Wheeler J.K. (2005) Comparative analysis of end wall resistivity in xylem conduits. *Plant, Cell & Environment* **28**, 456-465.
- Sperry J.S., Meinzer F.C. & McCulloh K.A. (2008) Safety and efficiency conflicts in hydraulic architecture: scaling from tissues to trees. *Plant, Cell & Environment* **31**, 632-645.
- Sobrado M.A. (2000) Relation of water transport to leaf gas exchange properties in three mangrove species. *Trees* **14**, 258-252.
- Sobrado M.A. (2003) Hydraulic characteristics and leaf water use efficiency in trees from tropical montane habitats. *Trees* **17**, 400-406.
- Tsuda M. & Tyree M.T. (2000) Plant hydraulic conductance measured by the high pressure flow meter in crop plants. *Journal of Experimental Botany* **51**, 823-828.
- Tyree M.T. & Ewers F.W. (1991) The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *Tansley Review, New Phytologist* **119**, 345-360.

- Tyree M.T., Davis S.D. & Cochard H. (1994) Biophysical perspectives of xylem evolution: is there a trade-off of hydraulic efficiency for vulnerability to dysfunction? *IAWA Journal* **15**, 335-360.
- Tyree M.T., Patiño S., Bennink J. & Alexander J. (1995) Dynamic measurements of root hydraulic conductance using a high-pressure flowmeter in the laboratory and field. *Journal of Experimental Botany* **46**, 83-94.
- Tyree M.T., Velez V. & Dalling J.W. (1998) Growth dynamics of root and shoot hydraulic conductance in seedlings of five neotropical tree species: scaling to show possible adaptation to differing light regimes. *Oecologia* **114**, 293-298.
- Tyree M.T. & Zimmermann M.H. (2002) *Xylem structure and the ascent of sap*. 2nd ed. Springer-Verlag, Berlin.
- Tyree M.T., Nardini A., Salleo S., Sack L. & El Omari B. (2005) The dependence of leaf hydraulic conductance on irradiance during HPFM measurements: any role for stomatal response? *Journal of Experimental Botany* **56**, 737-744.
- Vander Willigen C. & Pammenter N.W. (1998) Relationship between growth and xylem hydraulic characteristics of clones of *Eucalyptus spp.* at contrasting sites. *Tree Physiology* **18**, 595-600.
- Wheeler J.K., Sperry J.S., Hacke U.G. & Hoang N. (2005) Inter-vessel pitting and cavitation in Rosaceae and other vesselled plants: a basis for a safety versus efficiency trade-off in xylem transport. *Plant, Cell & Environment* **28**, 800-812.
- Wikberg J. & Ögren E. (2004) Interrelationships between water use and growth traits in biomass-producing willows. *Trees* **18**, 70-76.
- Xu Z. & Zhou G. (2008) Responses of leaf stomatal density to water status and its relationship with photosynthesis in a grass. *Journal of Experimental Botany* **59**, 3317-3325.
- Yang S. & Tyree M.T. (1994) Hydraulic architecture of *Acer saccharum* and *Acer rubrum*: comparisons of branches to whole trees and the contribution of leaves to hydraulic resistance. *Journal of Experimental Botany* **45**, 179-186.
- Zhang J.L. & Cao K.F. (2009) Stem hydraulics mediates leaf water status, carbon gain, nutrient-use efficiencies and plant growth rates across dipterocarp species. *Functional Ecology* **23**, 658-667.

2. RESULTATS COMPLEMENTAIRES

2.1. Partitionnement des résistances hydrauliques entre organes

Le manuscrit no.3 n'a présenté que les données de conductance hydraulique associées à la tige non feuillée (mesures HPFM) ou à la plante entière (mesures d'après le flux de transpiration et les potentiels hydriques foliaires sur la base de la loi d'Ohm). L'une des raisons de ne pas inclure les données de conductance hydraulique foliaire résidait dans le fait que les mesures à l'HPFM ont été réalisées dans des conditions d'irradiance moyenne et non contrôlées ; par conséquent, ces données peuvent être sujettes à caution puisque la conductance hydraulique des feuilles répond de façon dynamique à l'intensité lumineuse (Tyree *et al.* 2005 ; Cochard *et al.* 2007a ; Scoffoni *et al.* 2008), probablement via des modifications des taux de transcrits d'aquaporines (Nardini, Salleo & Andri 2005 ; Cochard *et al.* 2007a ; Kim & Steudle 2007).

Néanmoins, à partir des données collectées dans le cadre de ce chapitre, nous avons tenté d'estimer à titre indicatif la part de résistance hydraulique associée à chaque organe (racines, tige, feuilles). Il est important de noter que ces données ne sont que des estimations combinant deux méthodes de mesure différentes (HPFM pour les feuilles et la tige / flux de transpiration pour la plante entière). Le pourcentage de résistance associé aux racines est en fait déduit par la négative à partir des valeurs de conductance hydraulique de la plante entière. Ces données sont présentées ci-dessous dans la **Table 3.4**.

Table 3.4 Répartition des résistances hydrauliques entre organes pour les huit géotypes *Populus deltoides* × *P. nigra*

	% R _{roots}	% R _{leaves}	% R _{stem}
Agathe_F	67.54	30.43	2.03
Cima	73.35	24.73	1.92
Eco28	73.31	24.88	1.81
Flevo	80.26	18.25	1.49
I45-51	68.83	29.26	1.91
Luisa_Avanzo	76.11	22.10	1.79
Pannonia	69.41	28.85	1.74
Robusta	66.32	31.93	1.75

Les résultats montrent qu'à l'échelle de la plante entière, les résistances au flux sont majoritairement localisées dans les racines (entre 66 et 80%), alors que les feuilles représentent en moyenne entre 18 et 32% des résistances. La tige, quant à elle, ne représente qu'un très faible pourcentage (entre 1.5 et 2%). Ces résultats sont globalement en accord avec

les données obtenues sur d'autres espèces des régions tempérées (Nardini 2001 ; Sack *et al.* 2003 ; Barigah *et al.* 2006) et soulignent l'importance des trajets extravasculaires dans le partitionnement des résistances hydrauliques au sein de la plante.

2.2. Relation entre morphologie des stomates et caractères fonctionnels foliaires

Les relations entre les caractères morphologiques des stomates (densité stomatique et SPI) et les autres caractères fonctionnels foliaires (conductance stomatique, efficience intrinsèque d'utilisation de l'eau et discrimination vis-à-vis du ^{13}C) n'ont été présentées qu'en condition hydrique optimale dans le manuscrit no.3. Ces relations sont ici étendues aux conditions hydriques limitantes (**Fig. 3.7**).

Aucune relation significative n'a pu être observée en condition hydrique limitante, suggérant ainsi que les relations mises en évidence en condition hydrique optimale ne sont plus applicables en condition de sécheresse. Ceci s'explique du fait que les caractères fonctionnels mesurés intègrent la réponse dynamique des stomates durant la sécheresse alors que les caractères morphologiques des stomates sont indicateurs du fonctionnement maximal.

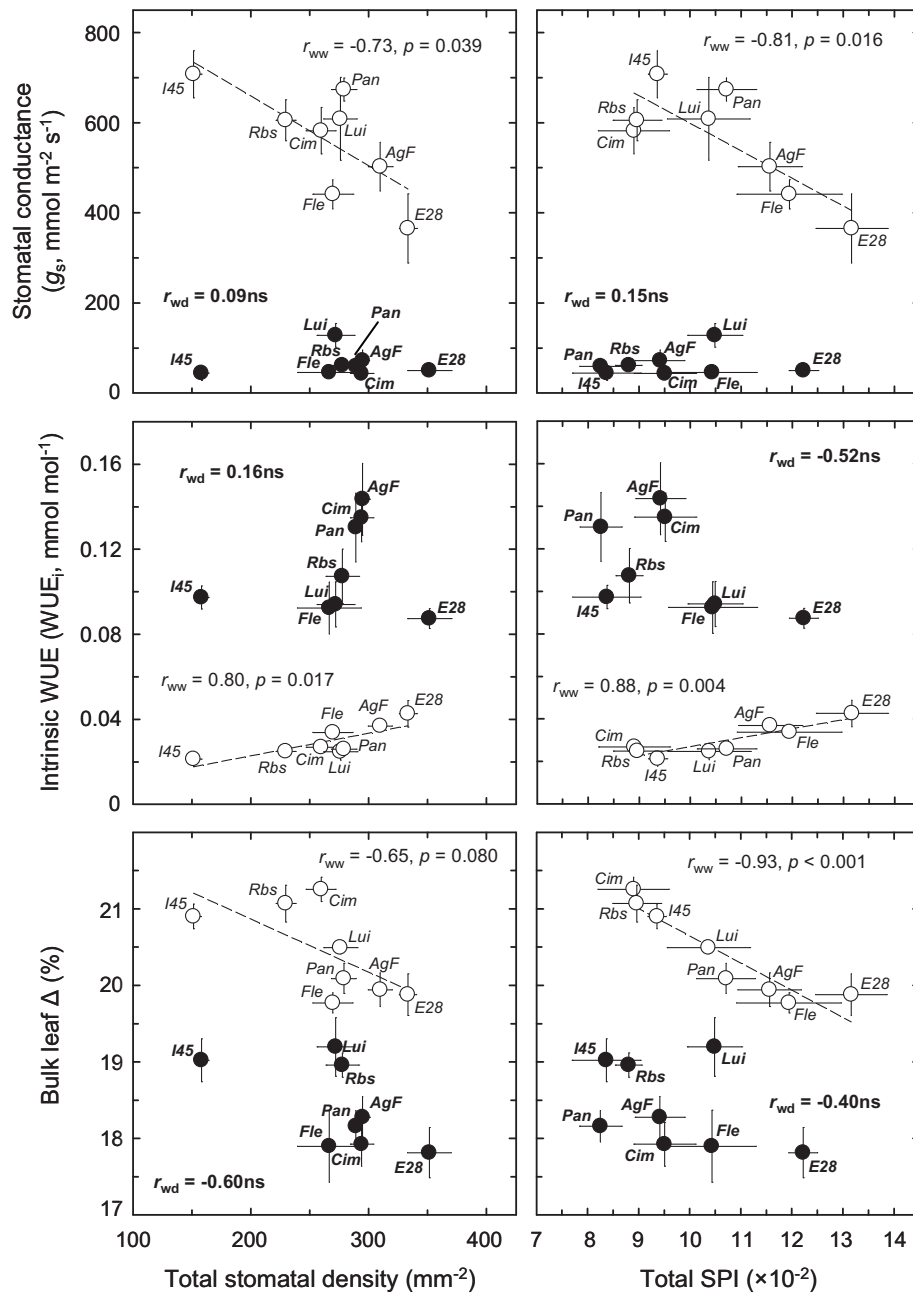


Figure 3.7 Relations entre les caractères morphologiques des stomates (densité stomatique; SPI) et les caractères fonctionnels foliaires (conductance stomatique, g_s ; efficacité intrinsèque d'utilisation de l'eau, WUE_i; discrimination isotopique vis à vis du carbone 13, Δ) dans les deux conditions d'irrigation (cercles blancs = individus irrigués ; cercles noirs = individus non irrigués). Les valeurs représentent les moyennes génotypiques ($\pm$ erreur standard, $n = 5$). Les lignes en pointillés représentent les régressions linéaires pour les données en condition hydrique non limitante. Les coefficients de corrélation (coefficients de Pearson, r) sont indiqués. Voir la Table 1 pour les abréviations correspondant aux génotypes.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Les travaux réalisés dans le cadre de cette thèse s'inscrivent dans la continuité de ceux déjà entrepris au cours des 10 dernières années en écophysiologie sur les principaux cultivars *Populus deltoides* × *Populus nigra* au sein du Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures de l'Université d'Orléans. Compte tenu de l'importance des propriétés hydrauliques du xylème dans la régulation des flux hydriques, il était légitime de supposer l'existence d'une coordination globale entre d'une part la variabilité structurale et fonctionnelle du xylème, et d'autre part la variabilité déjà observée pour des caractères plus complexes comme le potentiel de croissance, l'efficacité d'utilisation de l'eau ou la tolérance à la sécheresse chez les hybrides *Populus deltoides* × *P. nigra*. En se plaçant dans cette problématique générale, les objectifs spécifiques de mon travail étaient (i) de caractériser la gamme de variation génotypique pour les propriétés structurales et fonctionnelles du xylème, (ii) d'évaluer la plasticité à la fois structurale et fonctionnelle du xylème en réponse à la sécheresse, et (iii) de juger des liens entre la structure et la fonction du xylème avec d'autres caractères intégrés indicateurs du fonctionnement hydrique et carboné de l'arbre. Les expériences ont été réalisées en plantation comparative, en conditions d'irrigations contrastées, sur des génotypes se distinguant principalement pour leurs valeurs de discrimination isotopique vis-à-vis du ^{13}C . Dans cette section finale, les principaux résultats sont d'abord restitués de façon synthétique au regard des objectifs initiaux. Certaines limites à l'étude sont ensuite évoquées. Enfin, la dernière partie est consacrée aux perspectives ouvertes par le travail de thèse et envisageables à court, moyen ou long termes.

1. SYNTHÈSE DES TRAVAUX

1.1. Variabilité structurale et fonctionnelle du xylème chez *Populus deltoides* × *Populus nigra* – Relations structure - fonction

En tant que telle, la mise en évidence de variations entre génotypes ne constituait pas *in fine* un objectif essentiel, mais représentait plutôt un pré-requis indispensable afin de rendre pertinent notre hypothèse de départ. Quelle que soit l'échelle d'étude, nous avons systématiquement démontré que chaque génotype pouvait être caractérisé par une combinaison unique de caractères structuraux (*i.e.* caractéristiques anatomiques des vaisseaux et des fibres, résistance au collapsus pariétal, densité du bois) et fonctionnels (*i.e.* résistance à la cavitation et efficacité hydraulique).

Outre la caractérisation de la gamme de variation au sein des hybrides *Populus deltoides* × *P. nigra*, nos travaux ont également permis de préciser certaines des relations entre la

structure et la fonction du xylème. Bien qu'aucune relation causale n'existe *a priori* entre d'une part les propriétés mécaniques du xylème (résistance au collapsus pariétal et densité) et d'autre part la résistance à la cavitation, un certain nombre d'études conduites au niveau inter-spécifique au cours des 10 dernières années ont démontré qu'une plus forte résistance à l'implosion des vaisseaux et donc un renforcement pariétal plus important étaient généralement caractéristique des espèces fonctionnant à des tensions xylémiennes plus fortes (Hacke *et al.* 2001). Dans notre étude, nous n'avons pas pu mettre en évidence de telles relations (**Chapitre 2**). Une étude récente conduite au niveau intra-spécifique sur des populations européennes de pin sylvestre a apporté des conclusions similaires (Martínez-Vilalta *et al.* 2009), bien que dans ce cas particulier il était impossible de distinguer les effets purement génétiques des effets phénotypiques. Par conséquent, bien qu'il soit conceptuellement impossible de démontrer qu'une relation n'existe pas, nos résultats combinés aux données publiées récemment, suggèrent que certaines des relations couramment observées au niveau inter-spécifique ne sont pas universelles et applicables à des échelles d'étude plus réduites. L'une des explications possibles quant à la disparition de ces relations à des échelles infra-spécifiques pourrait résider dans le fait que raisonner dans des gammes de variation plus faibles limite inévitablement la puissance statistique lors de l'analyse des relations entre caractères. L'explication alternative réside dans le fait que les relations jusqu'à présent observées résultent simplement de phénomènes de co-sélection spécifiques aux espèces ou aux communautés considérées.

Dans le cadre de nos travaux, nous avons également pu préciser les relations entre l'efficacité de conduction et la résistance à la cavitation à différentes échelles. L'existence d'un compromis entre efficacité de conduction et résistance à la cavitation a parfois été observée au niveau tissulaire (Martínez-Vilalta *et al.* 2002; Hacke *et al.* 2006; Pratt *et al.* 2007a ; Hacke, Jacobsen & Pratt 2009 ; Jacobsen *et al.* 2009), bien qu'aucune relation causale directe n'existe entre ces deux propriétés. Dans notre étude, nous n'avons pas pu mettre en évidence de relations entre les caractéristiques des vaisseaux associés à une plus forte capacité de conduction (diamètre des vaisseaux, pourcentage de surface allouée à la conduction, conductivité spécifique théorique) et le niveau de résistance à la cavitation (**Chapitre 2**) ; ces mesures anatomiques, bien que très utiles, possèdent toutefois des limites puisqu'elles n'intègrent pas la conductivité des ponctuations au niveau des jonctions vaisseaux-vaisseaux. En revanche, à une échelle d'étude plus intégrée, nous avons mis en évidence l'existence d'un fort compromis entre d'une part l'efficacité hydraulique de la tige ou de la

plante entière (estimée *via* la conductance hydraulique spécifique du xylème ou la conductance hydraulique spécifique foliaire) et d'autre part la résistance à l'embolie (**Chapitre 3**). Par conséquent, ces résultats suggèrent que le compromis entre efficacité de conduction et résistance à la cavitation peut se manifester différemment à différentes échelles d'étude (Maherali *et al.* 2006). Afin d'effectuer le lien entre nos deux échelles d'étude, des mesures de conductivité hydraulique de segments de xylème sont à envisager.

L'épaisseur de la double paroi des vaisseaux adjacents (t_h) dont le diamètre est proche du diamètre hydraulique moyen s'est avérée être le seul caractère structural indicateur du niveau de résistance à la cavitation, particulièrement en condition hydrique optimale (**Chapitre 2**). Des résultats similaires ont été observés sur diverses espèces de *Prunus* (Cochard *et al.* 2008), ainsi que sur un génotype de peuplier soumis à différentes intensités de contrainte hydrique (Awad *et al.* 2010). Cette relation est très probablement indirecte. L'épaisseur de la paroi cellulaire mesurée comme telle intègre à la fois la paroi primaire et secondaire. Par conséquent, une paroi plus épaisse peut être indicatrice d'une paroi primaire au niveau des ponctuations plus épaisse (Jansen, Choat & Pletsers 2009) ; en retour, plus la paroi primaire au niveau des ponctuations est épaisse, moins il est probable de rencontrer des pores de grandes, et donc plus les risques d'entrée d'air dans le vaisseau sont faibles (Jansen, Choat & Pletsers 2009). Si cette relation s'avère générique et robuste, l'épaisseur de la double paroi des vaisseaux pourrait s'avérer fort utile d'un point de vue appliqué pour le screening indirect de génotypes résistants, comme suggéré par Cochard *et al.* (2008). Néanmoins, il convient de noter que les valeurs de t_h en tant que telles ne peuvent être obtenues qu'après comptage et analyse de l'ensemble des vaisseaux puisque par définition t_h est calculé pour une population spécifique de couples vaisseaux, *i.e.* ceux dont le diamètre est proche du diamètre hydraulique. D'un point de vue pratique, il conviendrait donc de vérifier si la relation entre la double épaisseur de la paroi et la résistance à la cavitation est valide pour des couples de vaisseaux rapidement et facilement identifiables, par exemple ceux présentant la plus grande taille. A partir de là, l'analyse d'image pourrait être automatisée et du phénotypage moyen-voire haut-débit pourrait alors être envisagé.

1.2. Plasticité structurale et fonctionnelle du xylème en réponse à la sécheresse chez *Populus deltoides* × *Populus nigra*

Les espèces ligneuses étant longévives, la plasticité phénotypique joue un rôle fondamental dans la capacité d'acclimatation des individus à l'environnement (Ackerly *et al.* 2000 ;

Valladares *et al.* 2007). Contrairement aux études réalisées *in situ* (e.g. Maherali & De Lucia 2000 ; Choat, Sack & Holbrook 2007), l'utilisation de matériel végétal en plantation comparative dans notre étude a permis de dissocier sans équivoque les effets génétiques des effets purement phénotypiques. Nos travaux démontrent que la sécheresse entraîne une acclimatation des propriétés à la fois structurales et fonctionnelles du xylème (**Chapitres 1 & 2**). Par conséquent, le xylème possède un caractère intégrateur des conditions environnementales. En gardant à l'esprit que l'intensité de la sécheresse dans nos travaux était somme toute modérée (les valeurs de potentiels hydriques foliaires de base n'ont jamais été inférieurs à -0.8 MPa, et seulement de façon ponctuelle), l'ensemble de nos résultats confirme que le peuplier est extrêmement sensible à la diminution de la disponibilité en eau du sol. Néanmoins, l'amplitude des variations observées étant la plupart du temps génotype-dépendante, nos travaux ont également contribué à mettre en évidence l'existence d'une variabilité génétique de la plasticité phénotypique.

Nos résultats ont permis de démontrer que la sécheresse modifiait profondément les caractéristiques anatomiques du xylème (**Chapitres 1 & 2**) : de façon générale, la taille des vaisseaux ainsi que celle des fibres est réduite tandis que la proportion de vaisseaux est fortement augmentée. Ceci suggère donc que la contrainte hydrique impacte non seulement la phase d'expansion cellulaire, mais aussi la phase de différenciation des initiales cambiales lors des étapes précoces de la xylogénèse. Des résultats similaires ont déjà été observés sur peuplier comme chez *Populus nigra* L. × *P. maximowiczii* Henry cv. 'Kamabuchi' (Arend & Fromm 2007) ou chez *P. euphratica* Oliv. (Bogeat-Triboulot *et al.* 2007), tout comme sur d'autres espèces ligneuses comme chez la vigne (Lovisolo & Schubert 1998) ou l'eucalyptus (Searson *et al.* 2004). Ces modifications structurales semblent également être communes en réponse au stress salin (Junghans *et al.* 2006 ; Escalante-Pérez *et al.* 2008). Désormais, les bases physiologiques et moléculaires à l'origine de ces modifications structurales restent à établir.

Nous avons également démontré que la résistance à la cavitation était un trait plastique en réponse à la sécheresse, les individus acclimatés présentant une résistance accrue (**Chapitre 2**). La résistance à la cavitation étant entièrement contrôlée par l'ultrastructure des ponctuations, il est raisonnable de supposer que les vaisseaux formés lors de la contrainte hydrique présentent des modifications structurales de la paroi primaire à l'origine de la modulation du niveau de résistance ; néanmoins, tout comme pour les modifications structurales évoquées dans le paragraphe précédent, les bases physiologiques précises à

l'origine de la plasticité restent à établir. Bien que suspecté depuis longtemps (Alder, Sperry & Pockman 1996), l'aspect plastique de la résistance à la cavitation en réponse à une diminution de la disponibilité de la ressource en eau du sol n'avait été jusqu'à présent que très peu documenté, encore moins à une échelle aussi importante que dans le cadre de cette thèse. Par exemple, Beikircher & Mayr (2009) ont rapporté des variations de Ψ_{50} chez *Ligustrum vulgare* L. et chez *Viburnum lantana* L. de l'ordre de 1.5 MPa. Plus récemment, Awad *et al.* (2010) ont démontré des variations significatives de Ψ_{50} en réponse à différentes intensités de sécheresse chez un génotype de peuplier grisard (*Populus tremula* × *P. alba*, génotype 717-1B4). Il est notamment intéressant de noter que dans cette étude, l'amplitude maximale de variation pour Ψ_{50} était d'environ 0.65 MPa, une valeur très proche de l'amplitude de variation maximale observée pour l'un des génotypes de notre étude (0.63 MPa pour le génotype 'Robusta'). Les résultats évoqués ci-dessus suggèrent donc que la gamme de variation phénotypique pour la résistance à la cavitation est finalement limitée, et qu'elle est à la fois espèce-dépendante mais aussi génotype-dépendante, donc sous contrôle génétique. La perspective nouvelle ouverte par nos travaux selon laquelle les génotypes les plus plastiques seraient ceux qui présentent le plus faible niveau intrinsèque de résistance à la cavitation (**Chapitre 2**) supporte également bien ces conclusions ; en condition limitante, les individus tendent vers un optimum qui correspond probablement à une limite structurale et/ou fonctionnelle. Savoir pourquoi certains individus fonctionnent déjà proche de cette limite en condition normale alors que d'autres non, ainsi que l'origine des limites à la plasticité (coûts métaboliques et/ou limites génétiques ?) restent néanmoins des questions essentielles auxquelles il conviendra de répondre à l'avenir.

1.3. Coordination entre propriétés hydrauliques du xylème et fonctionnement hydrique et carboné chez *Populus deltoides* × *Populus nigra* – Modulation des relations par la sécheresse

Le dernier objectif de ce travail de thèse était d'évaluer dans quelle mesure la variabilité des propriétés hydrauliques du xylème au sein des hybrides *Populus deltoides* × *P. nigra* pouvait être reliée à des différences en termes de fonctionnement hydrique et carboné, et ce en conditions d'irrigation contrastées. Le fonctionnement hydrique et carboné de l'arbre a été appréhendé à deux niveaux. Tout d'abord à l'échelle de la feuille, qui constitue un niveau d'étude privilégié puisqu'elle est le site des flux à la fois entrants de CO₂ et sortants d'H₂O ; ensuite, à l'échelle de la plante entière *via* l'estimation des performances de croissance de la

tige principale et de l'ensemble de la cépée. Il convient de préciser que même si nos travaux ont mis en évidence des relations parfois robustes, notre analyse ne reste que corrélative et les relations doivent donc être analysées dans le cadre d'une coordination globale entre les différents aspects du fonctionnement physiologique de l'arbre.

De façon générale, l'ensemble de nos résultats confirme la coordination entre le fonctionnement hydraulique en phase liquide et le fonctionnement foliaire en phase vapeur. Nos travaux ont démontré que la résistance à la cavitation était coordonnée avec la conductance stomatique en condition hydrique optimale, les géotypes les plus résistants présentant une plus faible transpiration (**Chapitre 2**). Nous avons également démontré que même si la tige ne représentait qu'une infime fraction de l'ensemble des résistances hydrauliques, l'efficacité hydraulique de la tige était un indicateur robuste de l'efficacité hydraulique de la plante entière (**Chapitre 3**).

Nos travaux n'ont pas permis de mettre en évidence de lien direct entre le fonctionnement hydraulique et l'assimilation nette de CO₂ (la résultante de la photosynthèse brute déduite des taux de photorespiration et de respiration cellulaire). Cette coordination couramment observée au niveau inter-spécifique (Santiago *et al.* 2004; Brodribb, Feild & Jordan 2007; Zhang & Cao 2009) n'est en fait qu'indirecte et provient du fait que de plus fortes valeurs de conductance stomatique sont généralement associées à de plus fortes valeurs d'assimilation nette (Wong, Cowan & Farquhar 1979 ; Katul, Leuning & Oren 2003). A une échelle d'étude plus réduite comme la nôtre, la mise en évidence d'un tel lien s'avère plus délicat.

Bien que l'étude structurale suggérait des liens entre le fonctionnement hydraulique et les caractères foliaires indicateurs de WUE (WUE_i et Δ) (**Chapitre 1**), les travaux entrepris à l'échelle fonctionnelle n'ont pas permis de confirmer cette hypothèse (**Chapitres 2 et 3**). En combinant l'analogie Ohmique [eq. (15)] aux équations de von Caemmerer & Farquhar (1981) et de Farquhar, O'Leary & Beary (1982), Panek (1996) fut le premier auteur à proposer un cadre conceptuel permettant de relier de façon théorique le fonctionnement hydraulique et WUE. Toutefois, les relations variables rapportées par d'autres études que ce soit à l'échelle inter- ou intra-spécifique ont illustré le fait qu'aucune relation simple ne peut être attendue entre ces deux aspects du fonctionnement de l'arbre (Sobrado 2000 ; Drake & Franks 2003 ; Preston & Ackerly 2003 ; Sobrado 2003 ; Santiago *et al.* 2004 ; Campanello *et al.* 2008 ; Ducrey *et al.* 2008 ; Kocacinar *et al.* 2008 ; Martínez-Vilalta *et al.* 2009). Nos résultats vont dans ce sens. Par définition, WUE_i et Δ sont des traits intégrateurs de deux

composantes foliaires, *i.e.* la conductance stomatique et l'assimilation nette de CO₂, à des échelles de temps toutefois différentes. Par conséquent, les relations entre les aspects du fonctionnement hydraulique et les estimateurs de WUE dépendent foncièrement (i) des relations entre les caractéristiques du fonctionnement hydraulique et les deux composantes foliaires prises individuellement, et (ii) de quelle composante foliaire est à l'origine de la variabilité observée pour WUE_i et Δ. Par ailleurs, les relations mises en évidence entre l'index de surface stomatique (SPI, un indicateur théorique de la conductance hydraulique de la feuille) et Δ (**Chapitre 3**) nous encouragent à recentrer l'analyse du couplage entre efficacité hydraulique et WUE à une échelle d'étude plus fine, celle de la feuille.

Enfin, nos travaux ont mis en évidence un compromis entre l'efficacité hydraulique de la tige ou de la plante entière et le potentiel de croissance de la tige principale en condition hydrique optimale (**Chapitre 3**), et ce bien que la raison d'un tel lien n'ait pu être clairement identifiée dans le cadre de ces expériences. L'explication la plus probable reste celle selon laquelle les géotypes les plus performants seraient ceux présentant la plus forte surface foliaire totale (Marron *et al.* 2005; Monclus *et al.* 2005; Marron & Ceulemans 2006), donc les plus faibles valeurs d'efficacité hydraulique lorsque l'on raisonne en termes de surface foliaire alimentée en eau. Par ailleurs, nos travaux ont également mis en évidence une relation positive entre la résistance à l'embolie et les performances de croissance de la tige principale en condition hydrique optimale (**Chapitre 2**). Cette relation, tout à fait inattendue en comparaison des données issues de la littérature, suggère que la mise en place d'un xylème plus sûr ne représente pas nécessairement un coût de construction chez les hybrides *P. deltoides* × *P. nigra*, bien au contraire. Cette relation est en fait indirecte et trouve sa source dans les deux compromis auparavant identifiés, à savoir (i) le compromis entre efficacité hydraulique et potentiel de croissance, et (ii) le compromis entre efficacité hydraulique et résistance à l'embolie. Par ailleurs, nos résultats démontrent que la relation entre la résistance à l'embolie et les performances de croissance ne peut pas être directement extrapolée à la capacité de production totale (biomasse de l'ensemble de la cépée), du fait de stratégies différentes entre géotypes en termes d'allocation de ressources. Enfin, lorsque nous avons étendu l'analyse des relations entre la résistance à l'embolie et le potentiel de croissance en condition hydrique limitante, aucune relation significative n'a pu être notée (**Chapitre 2**). Ces résultats suggèrent d'une part que les relations entre la résistance à l'embolie et le potentiel de croissance sont fortement dépendantes de l'environnement, et d'autre part qu'une plus forte

résistance à l'embolie n'est pas un critère déterminant des performances de croissance en condition de sécheresse modérée.

1.4. Apports complémentaires

En marge des résultats présentés ci-dessus, certains aspects de ce travail de thèse viennent compléter ou renforcer les connaissances déjà acquises en écophysiologie au laboratoire sur le modèle d'étude *Populus deltoides* × *P. nigra*. Tout d'abord, nous avons une nouvelle fois validé la relation théorique linéaire et négative entre Δ et WUE_i prédite par le modèle de Farquhar (Farquhar, Ehleringer & Hubick 1989), faisant de Δ un indicateur fiable de WUE_i (Monclus *et al.* 2006) (**Chapitre 3**). Par ailleurs, nous avons une nouvelle fois démontré que la variabilité observée pour Δ entre génotypes était en grande partie expliquée par les variations de conductance stomatique, et ce quelles que soient les conditions hydriques (**Chapitre 2**) (Monclus *et al.* 2006). Nous n'avons également pas pu mettre en évidence de relation entre d'une part les caractères foliaires descripteurs de WUE , et d'autre part les caractères descripteurs du potentiel de croissance (**Chapitres 2 & 3**), confirmant ainsi que WUE et productivité sont des traits complexes au moins en partie dissociés au sein de cette formule hybride (Monclus *et al.* 2006). Enfin, nous avons identifié certains caractères morphologiques simples comme la densité stomatique ou l'index de surface stomatique (SPI) comme potentiellement indicateurs de caractères foliaires fonctionnels plus complexes comme la conductance stomatique, l'efficacité intrinsèque d'utilisation de l'eau ou la discrimination isotopique vis-à-vis du ^{13}C , les génotypes possédant une plus forte densité stomatique et un plus fort SPI possédant une plus faible conductance stomatique et une plus forte efficacité d'utilisation de l'eau (**Chapitre 3**). Il convient toutefois de noter que l'utilisation de ces caractères ne semble envisageable qu'en condition hydrique non limitante. Par ailleurs, il convient également de noter que ces relations contrastent avec celles déjà observées sur un panel plus large de *Populus deltoides* × *P. nigra* (Monclus *et al.* 2006), ce qui laisse supposer un fort effet de l'environnement sur ces relations qu'il conviendra d'éclaircir à terme.

1.5. Bilan final des apports scientifiques et applications

La compréhension des relations entre le fonctionnement hydraulique de la plante et d'autres processus physiologiques comme le fonctionnement foliaire et la croissance représente un enjeu scientifique majeur faisant intervenir une multitude de facteurs et de processus à

différentes échelles spatio-temporelles. Ce travail de thèse contribue à l'amélioration de nos connaissances dans cette problématique chez les hybrides *Populus deltoides* × *P. nigra*. Il a ainsi permis de démontrer que deux des principaux aspects du fonctionnement hydraulique, l'efficacité hydraulique et la résistance à l'embolie, étaient reliés au potentiel de croissance mais *a priori* pas à l'efficacité d'utilisation de l'eau. Ce travail de thèse a également permis de préciser certaines relations entre la structure et la fonction du xylème à une échelle 'infra-spécifique' (mais pas intra-spécifique au sens strict du terme), et de montrer que certaines relations couramment observées à l'échelle inter-spécifique ne sont pas nécessairement valides à des échelles d'étude plus restreinte. Enfin, nos travaux démontrent que le xylème présente une grande plasticité en réponse à la sécheresse, tant au niveau structural que fonctionnel.

Les applications concrètes de ce travail restent à l'heure actuelle encore limitées. Nos travaux représentent une première étape nécessaire mais le faible nombre d'unités génétiques caractérisées (huit) ne permet pas de tirer de conclusions ayant une portée plus générale. A terme, il est envisageable d'intégrer nos données dans des modèles de prédiction de la transpiration et de fonctionnement hydrique à l'échelle de l'arbre, et de façon plus générale à l'échelle du couvert. Par ailleurs, les génotypes que nous avons étudiés étant des cultivars commercialisés, nos travaux suggèrent que ceux-ci sont capables de s'acclimater, dans une certaine mesure, aux variations de disponibilité en eau du sol. L'existence de variations génotypiques pour la résistance à l'embolie et la relation positive observée avec le potentiel de croissance juvénile pourraient également trouver des applications en termes de sélection. En effet, dans un contexte de changement global avec des modifications des régimes de distribution des précipitations, des événements extrêmes et des sécheresses de plus en plus fréquents (Meehl & Tebaldi 2004 ; IPCC 2007), la sélection d'arbres plus résistants à l'embolie pourrait s'avérer être une alternative dans les zones à risques. Sur la base de nos résultats, il semble même qu'il soit possible de sélectionner des génotypes résistants sans pour autant compromettre le niveau de productivité global. Ces perspectives devront bien entendu être confirmées sur un pool génétique plus large avant de trouver une quelconque finalité.

2. LIMITES DE L'ETUDE

Nous présentons ici un certain nombre de limites à l'étude auxquelles il nous paraît essentiel de remédier pour conclure de façon définitive sur les questions posées, ou pour donner une portée plus générale à nos conclusions. Certains de ces aspects, déjà évoqués auparavant et constituant à mon sens des pistes de recherche à part entière, seront repris dans la partie perspectives.

La lourdeur associée aux mesures fonctionnelles et anatomiques dans les deux conditions d'irrigation n'a pas permis la caractérisation d'un grand nombre de géotypes. Comme déjà évoqué précédemment, il conviendrait d'étendre l'analyse des relations entre la résistance à l'embolie et la croissance à un pool génétique plus conséquent. Par ailleurs, l'extension de nos travaux à d'autres fonds génétiques présenterait un intérêt certain.

Pour des raisons essentiellement liées à des contraintes matérielles et temporelles, nous n'avons pas pu caractériser l'efficacité hydraulique de la tige sur les individus de la parcelle non irriguée. De fait, nous n'avons pas pu caractériser la plasticité en réponse à la sécheresse pour ce caractère. De toute évidence, une telle caractérisation aurait fourni une vision plus complète à notre étude en ce qui concerne les potentialités d'acclimatation.

L'analyse du potentiel de croissance des géotypes telle qu'elle a été conduite dans notre étude offre une vision en partie simplifiée et donc incomplète des performances géotypiques. Seule la partie aérienne a été prise en compte et estimée. Ces mesures peuvent par conséquent ne pas être en rapport direct avec l'allocation des ressources aux parties racinaires souterraines (Barigah *et al.* 1994), surtout en considérant que les plançons étaient installés depuis plusieurs années ; toutefois, la prise en compte de l'allocation aux parties racinaires est difficilement envisageable en plantation comparative. Par ailleurs, nos expériences ont systématiquement été conduites sur les pousses de l'année et il conviendrait d'étendre l'analyse à des individus plus âgés.

Les résultats acquis dans le cadre de cette thèse renvoient dans l'ensemble une image du fonctionnement hydraulique et hydrique de l'arbre à un instant t , en conditions stationnaires. Par exemple, les données de conductance hydraulique obtenues à l'aide de l'HPFM ont été réalisées à une seule période de l'année et sont représentatives du fonctionnement maximal. De même, les données d'échanges de gaz ont été réalisées à une seule période de l'année, et entre 11h00 et 13h00 heure locale, quand la transpiration est maximale. Par conséquent, la dimension temporelle que ce soit à l'échelle journalière ou

saisonnière n'a pas été prise en compte. Or, dans le cadre d'une analyse conjointe entre d'une part le fonctionnement hydraulique et hydrique de l'arbre, et d'autre la part la croissance ou l'efficacité d'utilisation, la prise en compte des régulations temporelles s'avère primordiale. On peut également souligner le fait que notre étude s'est attachée à caractériser les propriétés hydrauliques de la tige essentiellement. Une description plus précise pour les autres organes comme les racines mais surtout les feuilles s'avèrerait très complémentaire. Afin d'affiner notre compréhension des fonctionnements hydrauliques et hydriques de l'arbre, les études futures devront prendre en compte de façon plus explicite ces aspects d'ordre spatio-temporels.

3. PERSPECTIVES

Cette dernière partie présente un certain nombre de perspectives ouvertes par le travail de thèse qui peuvent être envisagées à court, moyen ou long termes. La première partie concernant l'identification des bases physiologiques et moléculaires impliquées dans l'acclimatation structurale du xylème est sciemment plus développée que les autres car elle a déjà été initiée dans le cadre de ma thèse.

3.1. Quelles sont les bases physiologiques et moléculaires à l'origine de l'acclimatation structurale et fonctionnelle du xylème ?

L'identification des mécanismes physiologiques et moléculaires contribuant à l'acclimatation structurale du xylème observée en réponse à la sécheresse constitue une perspective de travail intéressante sur le plan fondamental. Ces aspects sont notamment développés dans l'équipe Xylème (UR 588 AGPF) de l'INRA d'Orléans dans le cadre d'un programme ANR-Génoplande (*'Molecular basis of acclimation and adaptation to drought in poplar'*, Projet POPSEC – GPLA06028G) coordonné par l'UMR 1137 INRA-UHP EEF de Nancy et associant les centres INRA de Bordeaux et d'Orléans ainsi que le LBLGC. Le projet dans son ensemble combine des approches écophysiologique, transcriptomique, et protéomique sur plusieurs génotypes contrastés pour leur tolérance à la sécheresse, les analyses étant conduites à différentes intensités de sécheresse et simultanément dans les différents tissus de la plante. Dans le cadre de ma thèse, une approche originale et complémentaire a été initiée à l'échelle du transcriptome. Ces travaux sont actuellement en cours d'analyse ; j'ai donc choisi de les présenter comme perspectives.

Les expériences ont été réalisées sur le génotype INRA 717-1B4 (*Populus tremula* × *P. alba*), un génotype sur lequel la transformation génétique est maîtrisée au sein du laboratoire ce qui en fait un génotype de choix pour les études de génomique fonctionnelle. La démarche expérimentale a consisté à induire la formation de bois de tension et appliquer simultanément un cycle court de sécheresse-réarrosage. Trois modalités d'arrosage ont été retenues : 1/ irrigation optimale à la capacité au champ ; 2/ non-irrigué ; 3/ non-irrigué puis ré-irrigué à la capacité au champ ; un quatrième lot de plant a été utilisé pour la caractérisation écophysiologique et anatomique de l'expérience. La formation de bois de tension sur la face supérieure de la tige a été induite en inclinant et en maintenant les arbres à un angle de 30° par rapport à la verticale (**Fig. P1**). La sécheresse a été générée par arrêt d'arrosage durant six jours. L'état hydrique des plants et l'intensité de la sécheresse ont été suivis durant

l'expérience par des mesures de conductance stomatique (**Fig. P2**) et de potentiels hydriques foliaires de base. A l'issue des six jours, lorsque les valeurs de potentiels hydriques foliaires de base étaient de l'ordre de -0.8 MPa, une partie des individus non irrigués a été ré-irriguée à la capacité au champ pendant 14 heures. A l'issue des 14 heures, des échantillons de jeune xylème en différenciation ont alors été collectés dans les trois modalités sur les deux faces de la tige à des fins d'analyses moléculaires.



Figure P1 Dispositif expérimental d'inclinaison de la tige pour induire la formation de bois de tension. La tige, maintenue par un tuteur, est inclinée à 30° par rapport à la verticale.

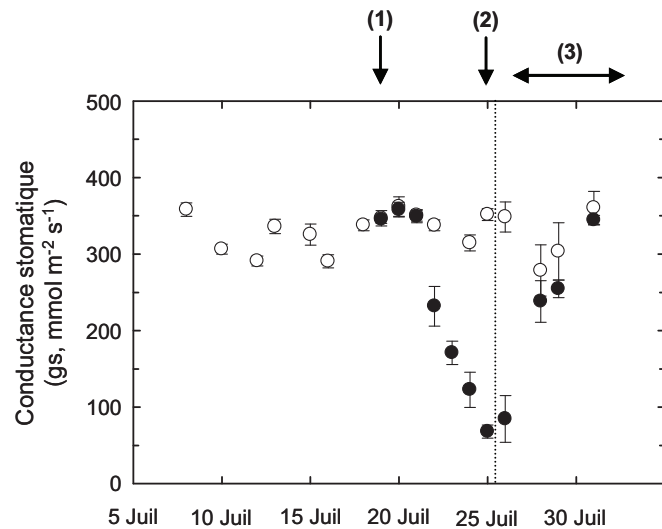


Figure P2 Evolution de la conductance stomatique au cours de l'expérience pour les individus irrigués (cercles blancs ; $n = 25$ jusqu'au 18 Juillet ; $n = 13$ à partir du 18 Juillet) et non irrigués (cercles noirs ; $n = 12$). L'arrêt d'arrosage a été initié le 18 Juillet (1) et a duré jusqu'au 25 Juillet (2). A cette date, un lot d'individus a été réarrosé et l'échantillonnage des arbres contrôles, non-irrigués, et réarrosés a été réalisé 14 heures après. La phase (3) illustre la période de recouvrement pour les individus réarrosés non échantillonnés ($n = 3$ pour les contrôles ; $n = 4$ pour les réarrosés).

En quoi un tel plan d'expérience constitue un bon modèle pour l'étude des mécanismes physiologiques à l'origine des modifications structurales du xylème ? La réponse à cette question est venue de la caractérisation anatomique des échantillons de tige inclinées et soumises au cycle de sécheresse – réarrosage (**Fig. P3**). Des modifications séquentielles de la structure du xylème ont pu être observées, que ce soit pour la face supérieure (bois de tension) ou inférieure (bois opposé) de la tige : (i) la lumière des fibres diminue progressivement suite à l'arrêt d'arrosage, et (ii) le nombre de vaisseaux formés augmente nettement en réponse au réarrosage, mais de façon transitoire. On peut toutefois noter que ces effets sont nettement plus marqués côté bois de tension (**Fig. P3**) ; ces résultats sont d'autant plus étonnants et

intéressants compte tenu du fait que le bois de tension est généralement caractérisé par une densité de vaisseaux plus faible d'un tiers que dans le bois normal (Jourez, Riboux & Leclercq 2001). De telles observations avaient déjà été faites lors d'expériences préliminaires. Ce système expérimental, répétable, constitue donc un modèle d'étude biologique original et pertinent pour l'étude d'une part des mécanismes de régulation du déterminisme cellulaire, et d'autre part des mécanismes impliqués dans les modifications structurales. La réorientation du déterminisme cellulaire étant probablement précoce en réponse au réarrosage, nous avons choisi d'échantillonner 14 heures après.

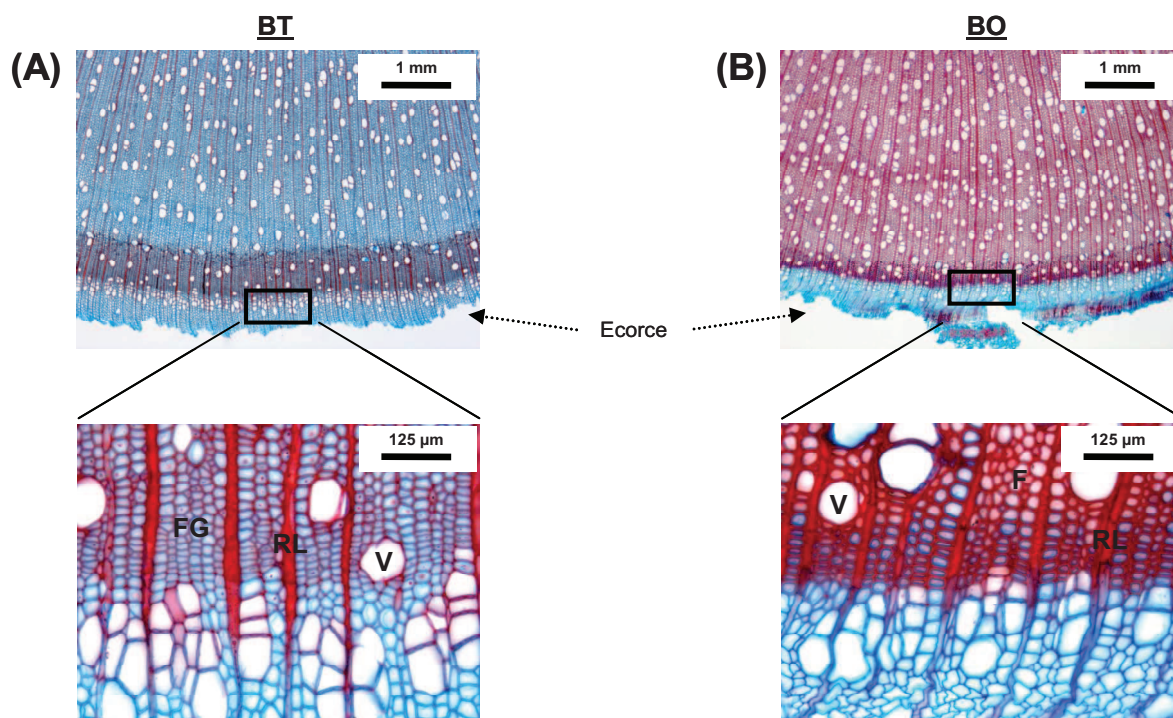


Figure P3 Observations en coupes transversales des effets combinés d'un cycle court de sécheresse – réarrosage et de l'inclinaison de la tige sur l'anatomie du xylème chez *Populus tremula* × *P. alba* (génotype INRA 717-1B4) : (A) observation sur la face supérieure de la tige inclinée (bois de tension, BT), et (B) observation sur la face inférieure de la tige inclinée (bois opposé, BO). La double coloration Safranine – Bleu Astra des coupes transversales permet la mise en évidence des composés lignifiés en rouge et les composés cellulodiques en bleu ; le bois de tension, riche en fibres gélatineuses, apparaît donc coloré en bleu. La couleur bleue observée côté opposé correspond au jeune xylème en cours de différenciation proche du cambium. A noter : (1) la diminution progressive de la taille des fibres en réponse à la sécheresse, (2) la formation transitoire d'un grand nombre de vaisseaux en réponse au réarrosage, particulièrement côté bois de tension. F, Fibres ; FG, Fibres Gélatineuses ; RL, Rayons Ligneux ; V, Vaisseau.

Les échantillons de xylème en différenciation collectés coté bois de tension dans le cadre de cette expérience sont actuellement le support d'une étude globale de l'expression des gènes à l'aide de puces à ADN génome entier (Affymetrix Genechip® Poplar Genome Array). Le plan de comparaison et le nombre de répétitions biologiques pour ces expériences de microarrays sont présentés dans la **Fig. P4** (6 lames au total ont été réalisées). L'ensemble des hybridations a été réalisé à la plateforme de recherche en génomique végétale d'Evry par Marie-Claude Lesage-Descauses. Un premier set de 4 lames (modalité non-irrigué vs. non-irrigué et ré-irrigué) avait été réalisé en mars 2008. Le plan de comparaison a été complété en janvier 2010 par les deux lames manquantes (modalité contrôle).

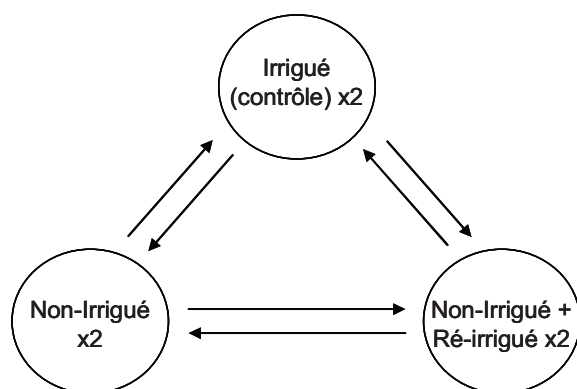


Figure P4 Plan de comparaison pour l'étude globale d'expression de gènes par puce à ADN génome entier. Six lames ont été réalisées au total (deux par modalités), chaque lame correspondant à un individu. Les deux individus de chaque modalité ont été choisis d'après les données d'écophysiologie disponible de manière à sélectionner les deux individus les plus proches.

Les premiers résultats indiquent une bonne reproductibilité entre échantillons issus d'une même modalité en termes d'intensité de signal, particulièrement pour les modalités contrôle et non-irrigué puis ré-irrigué (**Fig. P5**). L'analyse bio-informatique des données et leur interprétation biologique devraient fournir à court terme une vision globale de l'ensemble des gènes impliqués de façon spécifique dans les aspects stress et dans les aspects réarrosage. Certains gènes codant pour des protéines impliquées dans les processus de biosynthèse et/ou de remaniements de la paroi pecto-cellulosique (CAZymes) ainsi que certaines impliquées dans la régulation des flux d'eau à l'échelle cellulaire (aquaporines) constituent *a priori* de bons candidats potentiellement impliqués dans les modifications structurales observées. A plus long terme, et en s'appuyant sur les travaux et les outils déjà développés au sein de l'équipe Xylème en génomique fonctionnelle (Déjardin *et al.* 2004 ; Lafarguette *et al.* 2004 ; Pilate *et al.* 2004 ; Arnaud *et al.* 2007), certains gènes candidats intéressants pourraient faire l'objet d'une caractérisation plus fine.

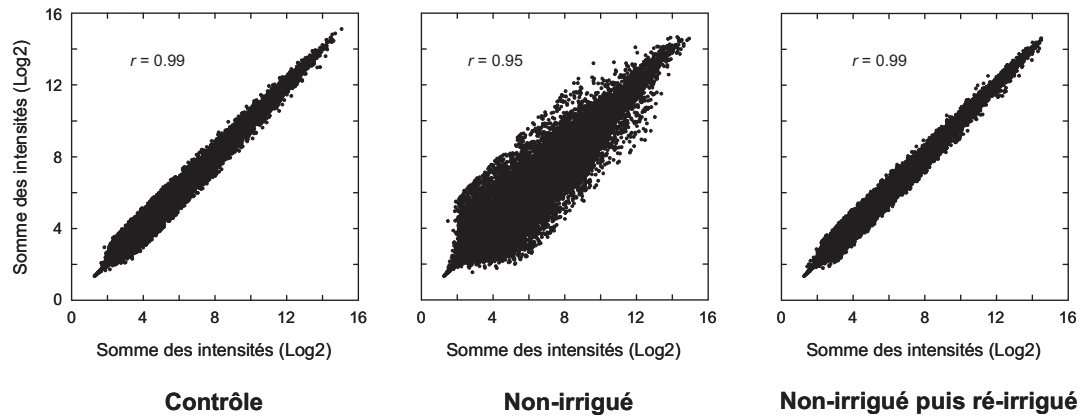


Figure P5 Reproductibilité entre répétitions biologiques des lames Affymetrix pour les trois modalités de l'expérience. Les données sont exprimées en Log2 de la somme des intensités des sondes.

3.2. Vers une caractérisation plus complète des relations structure-fonction

Nos travaux ont permis de caractériser certains aspects des relations entre la structure et la fonction du xylème. D'autres aspects mériteraient néanmoins d'être approfondis ou explorés.

Nos résultats ont mis en évidence des différences entre génotypes pour les propriétés mécaniques du xylème, à la fois au niveau cellulaire (résistance au collapsus pariétal) et tissulaire (densité). La caractérisation de ces propriétés pourrait être étendue à l'échelle de l'organe, *via* des mesures de modules de rupture et d'élasticité (Jacobsen *et al.* 2005 ; Jacobsen *et al.* 2007a, 2007b). Par ailleurs, l'une des particularités de la structure du xylème chez les Angiospermes réside dans la présence d'une matrice de fibres, qui en assurant la fonction de soutien mécanique, participe probablement au maintien de l'intégrité fonctionnelle des vaisseaux (Jacobsen *et al.* 2005). La caractérisation des proportions de paroi et de lumen associées respectivement aux fibres et aux vaisseaux (Jacobsen *et al.* 2007a ; Pratt *et al.* 2007a ; Jacobsen *et al.* 2009) fournirait donc une vision plus globale de l'organisation structurale du xylème au sein des hybrides *P. deltoides* × *P. nigra*, mais constitue un travail considérable en terme d'analyse d'image.

Les différences de résistance à la cavitation entre génotypes sous-tendent des différences de porosité des ponctuations. A une échelle plus fine, la caractérisation de l'ultrastructure de ces ponctuations pourrait par conséquent s'avérer intéressante. Sur la base de l'équation capillaire et des valeurs de Ψ_{12} obtenues en condition hydrique non limitante (**Chapitre 2**), le diamètre des pores les plus gros serait globalement compris entre 150 et 210

nm. Le développement et le perfectionnement des outils de microscopie électronique (à la fois en transmission et à balayage) couplés aux méthodes cryogéniques laissent entrevoir la possibilité d'accéder à l'ultrastructure des ponctuations, bien qu'il soit souvent difficile d'observer directement les pores en question (Choat *et al.* 2003 ; Jansen, Choat & Pletsers 2009 ; voir aussi Choat, Cobb & Jansen 2008). A titre exploratoire, des expériences pourraient d'abord être entreprises sur deux géotypes contrastés ('*Eco28*' et '*Robusta*' par exemple) dans les deux conditions d'irrigation. Ces observations préliminaires permettraient de juger de la pertinence d'un tel travail en évaluant s'il existe des différences discernables entre géotypes, mais également en réponse à la sécheresse.

3.3. La résistance à l'embolie est elle un réel critère de survie ?

Les résultats obtenus dans le cadre du **Chapitre 2** suggèrent que la résistance à la cavitation n'est pas un bon critère pour discriminer les géotypes performants en condition de sécheresses relativement modérée, probablement parce que d'autres mécanismes de type acclimatation sont prioritaires dans ces conditions. Toutefois, la mise en parallèle des valeurs de résistance à la cavitation avec les données d'écologie des espèces suggère que la mise en place d'un système vasculaire plus résistant est fortement sélectionnée en condition de sécheresse drastique (Franks, Gibson & Bachelar 1995 ; Alder, Sperry & Pockman 1996 ; Mencuccini & Comstock 1997 ; Sparks & Black 1999 ; Hacke, Sperry & Pittermann 2000; Pockman & Sperry 2000; Maherali, Pockman & Jackson 2004 ; Choat, Sack & Holbrook 2007). Autrement dit, la résistance à la cavitation serait un déterminant majeur du niveau de résilience (survie) des individus, et donc de la distribution des espèces. Néanmoins, la question de savoir si le niveau de résistance à la cavitation contribue à une plus forte capacité de survie nécessite d'être réellement testée au niveau individuel et non pas inférée sur la base de comparaisons d'espèces provenant d'habitats contrastés.

Afin d'apporter des éléments de réponse à cette question, une collaboration entre le LBLGC et l'équipe HYDRO de l'UMR 547 PIAF INRA-UBP de Clermont-Ferrand vient d'être initiée. Trois géotypes contrastés ont été sélectionnés sur la base de leur niveau de résistance à la cavitation et de leur degré de plasticité (**Chapitre 2**) : '*Eco28*' qui présente une forte résistance intrinsèque et une faible plasticité ; '*Robusta*' qui présente une faible résistance intrinsèque et une forte plasticité ; '*I45-51*' qui présente une faible résistance intrinsèque, une faible plasticité mais une pente au point d'inflexion plus faible que tous les autres géotypes. La démarche expérimentale consistera à soumettre des boutures de ces trois

génotypes à différentes intensités de sécheresse par arrêt d'arrosage en conditions contrôlées (en serre et en pots) ; pour chaque intensité de sécheresse, un lot de boutures sera ré-arrosé. Les plants seront analysés en termes de cinétique de croissance, de fonctionnement foliaire, de développement progressif de l'embolie, de capacité de survie et de recouvrement. Ces expériences devraient être menées au cours de l'année 2010 et devraient permettre d'identifier (i) s'il existe un point de non retour, et si oui lequel, (ii) si une plus forte résistance intrinsèque à l'embolie offre un réel gain en terme de survie, et (iii) s'il existe, dans une certaine mesure, des mécanismes de recouvrement.

3.4. Vers la caractérisation d'autres fonds génétiques

Il est raisonnable d'envisager l'extension du travail de thèse, en particulier les aspects liés à la résistance à la cavitation, à d'autres fonds génétiques toujours au sein du genre *Populus*. Au-delà de valider nos travaux sur un autre modèle, cela permettrait probablement de répondre à certaines questions fondamentales qui ont été auparavant plus ou moins soulevées. Je propose ici d'étendre à deux fonds génétiques distincts, pour des finalités différentes.

- **Des populations naturelles de *Populus nigra*.** Le LBLGC a récemment étendu son expertise aux populations naturelles de peuplier noir, en étroite collaboration avec l'équipe Génétique de l'unité AGPF de l'INRA d'Orléans. Ces aspects sont notamment développés dans le cadre du projet européen NOVELTREE coordonné par l'UR588 – AGPF de l'INRA d'Orléans et associant une vingtaine de partenaires. Plus de 20 populations françaises représentatives de l'ensemble du territoire, ainsi que quelques populations étrangères (une allemande, une hollandaise et quatre italiennes) sont ainsi maintenues en plantation comparative, avec un nombre moyen d'individus au sein de chaque population souvent supérieur à la vingtaine. Etendre la caractérisation des relations entre la résistance à la cavitation et les autres caractères structuraux et fonctionnels à des populations naturelles soumises au processus de sélection naturelle fournirait un point de comparaison avec les données obtenues sur les hybrides étudiés dans le cadre de cette thèse. Par ailleurs, le phénotypage d'un grand nombre d'individus au sein de populations contrastées pour leur origine géographique permettrait d'évaluer l'amplitude des variations intra- *versus* inter-populations, et d'appréhender la capacité d'acclimatation de ces populations.

- **Une famille F₁ *Populus deltoides* × *P. trichocarpa* (Famille 54B).** La famille 54B est l'une des 18 familles F₁ plein-frères composant un plan de croisement factoriel incomplet

initié à l'INRA d'Orléans dès 1988. Cette famille est actuellement composée de plus de 1000 descendants issus du croisement entre la mère *Populus deltoides* 73028-62 (originaire de l'Illinois, USA) et le père *Populus trichocarpa* 101-74 (originaire de l'état de Washington, USA). C'est sur cette famille de référence que repose actuellement l'identification des QTLs impliqués dans le déterminisme génétique de caractères complexes comme la résistance à l'agent pathogène de la rouille foliaire (Jorge *et al.* 2005). Les individus issus de cette famille sont le support de deux cartes génétiques comprenant chacune actuellement plus de 700 marqueurs. Le phénotypage de ces individus permettrait d'initier l'étude du déterminisme génétique de la vulnérabilité à la cavitation chez les Angiospermes. Une telle étude n'a encore jamais été initiée à notre connaissance, en grande partie à cause de verrous méthodologiques.

Ces dernières perspectives présentent un grand intérêt d'un point de vue cognitif mais dépassent largement le cadre de ma thèse, et ne peuvent être à mon sens qu'envisagées qu'à long terme, voir très long terme. L'ampleur de la tâche est considérable. Bien que la technique Cavitron ait permis de diminuer considérablement le temps et la quantité de matériel végétal nécessaire à la construction des courbes de vulnérabilité, le phénotypage haut débit reste encore peu envisageable. L'identification de caractères simples et robustes indicateurs de la résistance à la cavitation, comme pourquoi pas l'épaisseur de la paroi des vaisseaux appariés, pourrait constituer une alternative. Une autre approche alternative originale pour le phénotypage haut-débit qu'il conviendrait d'explorer est l'utilisation de la Spectroscopie Proche InfraRouge (SPIR¹). Cette technique, basée sur l'absorption du rayonnement proche infrarouge par la matière organique et très utilisée dans le domaine pharmaceutique et agroalimentaire, s'est récemment révélée très efficace en écologie, par exemple pour la prédiction en haut-débit des ratios isotopiques $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ dans les tissus organiques végétaux (Kleinebecker *et al.* 2009).

¹ NIRS en anglais pour « Near-Infrared Reflectance Spectroscopy »

REFERENCES CITEES¹

¹ Les références incluent l'ensemble des références citées dans le manuscrit et dans les articles.

- Aasamaa K., Söber A. & Rahi M. (2001) Leaf anatomical characteristics associated with shoot hydraulic conductance, stomatal conductance and stomatal sensitivity to changes of leaf water status in temperate deciduous trees. *Australian Journal of Plant Physiology* **28**, 765–774.
- Ackerly D.D., Dudley S.A., Sultan S.E., Schmitt J., Coleman J.S., Linder C.R., Sandquist D.R., Geber M.A., Evans A.S., Dawson T.E. & Lechowicz M.J. (2000) The evolution of plant ecophysiological traits: recent advances and future directions. *Bioscience* **50**, 979-995.
- Addington R.N., Donovan L.A., Mitchell R.J., Vose J.M. Pecot S.D., Jack S.B., Hacke U.G., Sperry J.S. & Oren R. (2006) Adjustments in hydraulic architecture of *Pinus palustris* maintain similar stomatal conductance in xeric and mesic habitats. *Plant, Cell & Environment* **29**, 535-545.
- Alder N.N., Sperry J.S. & Pockman W.T. (1996) Root and stem xylem embolism, stomatal conductance and leaf turgor in *Acer grandidentatum* populations along a soil moisture gradient. *Oecologia* **105**, 293-301.
- Alder N.N., Pockman W.T., Sperry J.S. & Nuismer S. (1997) Use of centrifugal force in the study of xylem cavitation. *Journal of Experimental Botany* **48**, 665-674.
- Ambrose A.R., Sillett S.C. & Dawson T.E. (2009) Effects of tree height on branch hydraulics, leaf structure and gas exchange in California redwoods. *Plant, Cell & Environment*. **32**, 743-757.
- Angeles G., Bond B., Boyer J.S., Brodribb T., Brooks J.R., Burns M.J., Cavender-Bares J., Clearwater M., Cochard H., Comstock J., Davis S.D., Domec J.C., Donovan L., Ewers F., Gartner B., Hacke U., Hinckley T., Holbrook N.M., Jones H.G., Kavanagh K., Law B., López-Portillo J., Lovisolo C., Martin T., Martínez-Vilalta J., Mayr S., Meinzer F.C., Melcher P., Mencuccini M., Mulkey S., Nardini A., Neufeld H.S., Passioura J., Pockman W.T., Pratt R.B., Rambal S., Richter H., Sack L., Salleo S., Schubert A., Schulte P., Sparks J.P., Sperry J., Teskey R. & Tyree M. (2004) The Cohesion-Tension Theory. *New Phytologist* **163**, 451-452.
- Arend M. & Fromm J. (2007) Seasonal change in the drought response of wood cell development in poplar. *Tree Physiology* **27**, 985-992.

- Arnaud D., Déjardin A., Leplé J.C., Lesage-Descauses M.C. & Pilate G. (2007) Genome-wide analysis of LIM gene family in *Populus trichocarpa*, *Arabidopsis thaliana*, and *Oriza sativa*. *DNA Research* **14**, 103-116.
- Awad H., Barigah T., Badel E., Cochard H. & Herbette S. (2010) Poplar vulnerability to xylem cavitation acclimates to drier soil conditions. *Physiologia Plantarum* doi:10.1111/j.1399-3054.2010.01367.x.
- Barigah T.S., Saugier B., Mousseau M., Guittet J. & Ceulemans R. (1994) Photosynthesis, leaf area and productivity of 5 poplar clones during their establishment year. *Annals of Forest Science* **51**, 613-625.
- Barigah T.S., Tharwat I., Bogard A., Faivre-Vuillin B., Lagneau L.A., Montpied P. & Dreyer E. (2006) Irradiance-induced plasticity in the hydraulic properties of saplings of different temperate broad-leaved forest tree species. *Tree Physiology* **26**, 1505-1516.
- Becker P., Tyree M.T. & Tsuda M. (1999) Hydraulic conductances of angiosperms versus conifers: similar transport sufficiency at the whole-plant level. *Tree Physiology* **19**, 445-452.
- Beikircher B. & Mayr S. (2009) Intraspecific differences in drought tolerance and acclimation in hydraulics of *Ligustrum vulgare* and *Viburnum lantana*. *Tree Physiology* **29**, 765-775.
- Berthelot A., Bastien C., Villar M., Pinon J., Heois B., Bourlon V. & Menard M. (2005) Le GIS Peuplier, 4 ans après sa création. *Informations Forêt AFOCEL* no. 2, fiche 768. 6p.
- Bhaskar R., Valiente-Banuet A. & Ackerly D.D. (2007) Evolution of hydraulic traits in closely related species pairs from Mediterranean and non-Mediterranean environments of North America. *New Phytologist* **176**, 718-726.
- Bogeat-Triboulot M.B., Brosché M., Renaut J., Jouve L., Le Thiec D., Fayyaz P., Vinocur B., Witters E., Laukens K., Teichmann T., Altman A., Hausman J.F., Polle A., Kangasjärvi J. & Dreyer E. (2007) Gradual soil water depletion results in reversible changes of gene expression, protein profiles, ecophysiology, and growth performance in *Populus euphratica*, a poplar growing in arid regions. *Plant Physiology* **143**, 876-892.
- Bonhomme L., Barbaroux C., Monclus R., Morabito D., Berthelot A., Villar M., Dreyer E. & Brignolas F. (2008) Genetic variation in productivity, leaf traits and carbon isotope discrimination in hybrid poplars cultivated on contrasting sites. *Annals of Forest Science* **65**, 503.

- Braatne J.H., Hinckley T.M. & Stettler R.F. (1992) Influence of soil water on the physiological and morphological components of plant water balance in *Populus trichocarpa*, *Populus deltoides* and their F₁ hybrids. *Tree Physiology* **11**, 325-339.
- Briggs L.I. (1950) Limiting negative pressure of water. *Journal of Applied Physics* **21**, 721-722.
- Brodribb T.J. & Feild T.S. (2000) Stem hydraulic supply is linked to leaf photosynthetic capacity: evidence from New Caledonian and Tasmanian rainforests. *Plant, Cell & Environment* **23**, 1381-1388.
- Brodribb T.J., Holbrook N.M. & Gutiérrez M.V. (2002) Hydraulic and photosynthetic co-ordination in seasonally dry tropical forest trees. *Plant, Cell & Environment* **25**, 1435-1444.
- Brodribb T.J. & Holbrook N.M. (2003) Stomatal closure during leaf dehydration, correlation with other leaf physiological traits. *Plant Physiology* **132**, 2166-2173.
- Brodribb T.J., Holbrook N.M., Edwards E.J. & Gutierrez M.V. (2003) Relations between stomatal closure, leaf turgor and xylem vulnerability in eight tropical dry forest trees. *Plant, Cell & Environment* **26**, 443-450.
- Brodribb T.J., Holbrook N.M., Zwieniecki M.A. & Palma B. (2005) Leaf hydraulic capacity in ferns, conifers and angiosperms: impacts on photosynthetic maxima. *New Phytologist* **165**, 839-846.
- Brodribb T.J., Feild T.S. & Jordan G.J. (2007) Leaf maximum photosynthetic rate and venation are linked by hydraulics. *Plant Physiology* **144**, 1890-1898.
- Brodribb T.J. & Cochard H. (2009) Hydraulic failure defines the recovery and point of death in water-stressed conifers. *Plant Physiology* **149**, 575-584.
- Brodribb T.J. & Feild T.S. (2010) Leaf hydraulic evolution led a surge in leaf photosynthetic capacity during early angiosperm diversification. *Ecology Letters* **13**, 175-183.
- Bucci S.J., Goldstein G., Meinzer F.C., Scholz F.G., Franco A.C. & Bustamante M. (2004) Functional convergence in hydraulic architecture and water relations of tropical savanna trees: from leaf to whole plant. *Tree Physiology* **24**, 891-899.
- Bucci S.J., Scholz F.G., Goldstein G., Meinzer F.C., Franco A.C., Campanello P.I., Villalobos-Vega R., Bustamante M. & Miralles-Wilhelm F. (2006) Nutrient availability

- constrains the hydraulic architecture and water relations of savannah trees. *Plant, Cell & Environment* **29**, 2153-2167.
- Calkin H.W., Gibson A.C. & Nobel P.S. (1985) Xylem water potentials and hydraulic conductances in eight species of ferns. *Canadian Journal of Botany* **63**, 632-637.
- Campanello P.I., Gatti M.G. & Goldstein G. (2008) Coordination between water-transport efficiency and photosynthetic capacity in canopy tree species at different growth irradiances. *Tree Physiology* **28**, 85-94.
- Canny M.J. (1995) A new theory for the ascent of sap-cohesion supported by tissue pressure. *Annals of Botany* **75**, 343-357.
- Canny M.J., Huang C.X. & McCully M.E. (2001) The cohesion theory debate continues. *Trends in Plant Science* **6**, 454-455.
- Caquet B., Barigah T.S., Cochard H., Montpied P., Collet C., Dreyer E. & Epron D. (2009) Hydraulic properties of naturally regenerated beech saplings respond to canopy opening. *Tree Physiology* **29**, 1395-1405.
- Carlquist S. (2001) Comparative wood anatomy. 2nd ed. Springer, Berlin.
- Cernusak L.A. & Marshall J.D. (2001) Responses of foliar $\delta^{13}\text{C}$, gas exchange and leaf morphology to reduced hydraulic conductivity in *Pinus monticola* branches. *Tree Physiology* **21**, 1215-1222.
- Cernusak L.A., Winter K. & Turner B.L. (2009) Physiological and isotopic ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$) responses of three tropical tree species to water and nutrient availability. *Plant, Cell & Environment* **32**, 1441-1455.
- Chave J., Coomes D., Jansen S., Lewis S.L., Swenson N.G. & Zanne A.E. (2009) Towards a worldwide wood economics spectrum. *Ecology Letters* **12**, 351-366.
- Choat B., Ball M., Luly J. & Holtum J. (2003) Pit membrane porosity and water stress-induced cavitation in four co-existing dry rainforest tree species. *Plant Physiology* **131**, 41-48.
- Choat B., Jansen S., Zwieniecki M.A., Smets E. & Holbrook N.M. (2004) Changes in pit membrane porosity due to deflection and stretching: the role of vested pits. *Journal of Experimental Botany* **55**, 1569-1575.

- Choat B., Brodie T.W., Cobb A.R., Zwieniecki M.A. & Holbrook N.M. (2006) Direct measurements of intervessel pit membrane hydraulic resistance in two angiosperm tree species. *American Journal of Botany* **93**, 993-1000.
- Choat B., Sack L. & Holbrook N.M. (2007) Diversity of hydraulic traits in nine *Cordia* species growing in tropical forests with contrasting precipitation. *New Phytologist* **175**, 686-698.
- Choat B., Cobb A.R. & Jansen S. (2008) Structure and function of bordered pits: new discoveries and impacts on whole-plant hydraulic function. *Tansley Review, New Phytologist* **177**, 608-626.
- Christman M.A., Sperry J.S. & Adler F.R. (2009) Testing the 'rare pit' hypothesis for xylem cavitation resistance in three species of *Acer*. *New Phytologist* **182**, 664-674.
- Cochard H., Cruiziat P. & Tyree M.T. (1992) Use of positive pressures to establish vulnerability curves. Further support for the air-seeding hypothesis and implications for pressure-volume analysis. *Plant Physiology* **100**, 205-209.
- Cochard H., Ridolfi M. & Dreyer E. (1996) Responses to water stress in an ABA-unresponsive hybrid poplar (*Populus koreana* × *trichocarpa* cv. Peace) II. Hydraulic properties and xylem embolism. *New Phytologist* **134**, 455-461.
- Cochard H., Lemoine D. & Dreyer E. (1999) The effects of acclimation to sunlight on the xylem vulnerability to embolism in *Fagus sylvatica* L. *Plant, Cell & Environment* **22**, 101-108.
- Cochard H., Bodet C., Améglio T. & Cruiziat P. (2000) Cryo-scanning electron microscopy observations of vessel contents during transpiration in walnut petioles. Facts or artifacts? *Plant Physiology* **124**, 1191-1202.
- Cochard H. Améglio T., & Cruiziat P. (2001) The cohesion theory debate continues: response to Canny *et al.* *Trends in Plant Science* **6**, 456.
- Cochard H. (2002a) A technique for measuring xylem hydraulic conductance under high negative pressures. *Plant, Cell & Environment* **25**, 815-819.
- Cochard H. (2002b) Xylem embolism and drought-induced stomatal closure in maize. *Planta* **215**, 466-471.

- Cochard H., Coll L., Le Roux X. & Améglio T. (2002) Unravelling the effects of plant hydraulics on stomatal closure during water stress in walnut. *Plant Physiology* **128**, 282-290.
- Cochard H., Damour G., Bodet C., Tharwat I., Poirier M. & Améglio T. (2005) Evaluation of a new centrifuge technique for rapid generation of xylem vulnerability curves. *Physiology Plantarum* **124**, 410-418.
- Cochard H. (2006) Cavitation in trees. *Comptes Rendus de Physique* **7**.
- Cochard H., Venisse J.S., Barigah T.S., Brunel N., Herbette S., Guilliot A., Tyree M.T. & Sakr S. (2007a) Putative role of aquaporins in variable hydraulic conductance of leaves in response to light. *Plant Physiology* **143**, 122-133.
- Cochard H., Casella E. & Mencuccini M. (2007b) Xylem vulnerability to cavitation varies among poplar and willow clones and correlates with yield. *Tree Physiology* **27**, 1761-1767.
- Cochard H., Barigah T.S., Kleinhentz M. & Eshel A. (2008) Is xylem cavitation resistance a relevant criterion for screening drought resistance among *Prunus* species? *Journal of Plant Physiology* **165**, 976-982.
- Cochard H., Hölttä T., Herbette S., Delzon S. & Mencuccini M. (2009) New insights into the mechanisms of water-stress-induced cavitation in conifers. *Plant Physiology* **151**, 949-954.
- Coleman H.D., Samuels A.L., Guy R.D. & Mansfield S.D. (2008) Perturbed lignification impacts tree growth in hybrid poplar – A function of sink strength, vascular integrity, and photosynthetic assimilation. *Plant Physiology* **148**, 1229-1237.
- Collinson M.E. (1992) The early fossil record of the Saliceae. *Proceedings of the Royal Society of Edimburgh* **98**, 155-167.
- Comstock J.P. (2000) Variation in hydraulic architecture and gas-exchange in two desert shrubs, *Hymenoclea salsola* (T. & G.) and *Ambrosia dumosa* (Payne). *Oecologia* **125**, 1-10.
- Cowan I.R. (1972) An electrical analogue of evaporation from, and flow of water in plants. *Planta* **106**, 221-226.
- Craig H. (1957) Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass-spectrometric analysis of carbon dioxide. *Geochimica and Cosmochimica Acta* **12**, 133-149.
- Cruiziat P., Cochard H. & Améglio T. (2002) Hydraulic architecture of trees: main concepts and results. *Annals of Forest Science* **59**, 723-752.

- Déjardin A., Leplé J.C., Lesage-Descauses M.C., Costa G. & Pilate G. (2004) Expressed sequence tags from poplar wood tissues – A comparative analysis from multiple libraries. *Plant Biology* **6**, 55-64.
- Dickmann D.I. & Kuzovkina J. (2008) Poplars and willows of the world, with emphasis on sylviculturally important species (Chapter 2). *In: Poplars and willows in the world: meeting the needs of society and the environment*. Eds. Isebrands J.G. & Richardson J. FAO/IPC (Food and Agricultural Organization of the United Nations / International Poplar Commission), Rome, Italy. 134p.
- Dillen S.Y., Marron N., Koch B. & Ceulemans R. (2008) Genetic variation of stomatal traits and carbon isotope discrimination in two hybrid poplar families (*Populus deltoides* ‘S9-2’ × *P. nigra* ‘Ghoy’ and *P. deltoides* ‘S9-2’ × *P. trichocarpa* ‘V24’). *Annals of Botany* **102**, 399-407.
- Dillen S.Y., Marron N., Sabatti M., Ceulemans R. & Bastien C. (2009) Relationships among productivity determinants in two hybrid poplar families grown during three years at two contrasting sites. *Tree Physiology* **29**, 975-987.
- Dixon H.H. & Joly J. (1895) On the ascent of sap. *Philosophical Transaction of the Royal Society of London* **186**, 563-576.
- Domec J.C. & Gartner B.L. (2001) Cavitation and water storage capacity in bole xylem segments of mature and young Douglas-fir trees. *Trees* **15**, 204-214.
- Domec J.C., Lachenbruch B. & Meinzer F.C. (2006) Bordered pit structure and function determine spatial patterns of air-seeding thresholds in xylem of Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii*; *Pianaceae*) trees. *American Journal of Botany* **93**, 1588-1600.
- Drake P.L. & Franks P.J. (2003) Water resource partitioning, stem xylem hydraulic properties, and plant water use strategies in a seasonally dry riparian tropical rainforest. *Oecologia* **137**, 321-329.
- Ducrey M., Huc R., Ladjal M. & Guehl J.-M. (2008) Variability in growth, carbon isotope composition, leaf gas exchange and hydraulic traits in the eastern Mediterranean cedars *Cedrus libani* and *C. brevifolia*. *Tree Physiology* **28**, 689-701.
- Eckenwalder J.E. (1996) Systematics and evolution of *Populus*. *In: Biology of Populus and its implications for management and conservation*. Eds. Stettler R.F., Bradshaw H.D. Jr., Heilman P.E. & Hinckley T.M. NRC Research Press, Ottawa, Ontario, Canada. 539 p.

- Edwards E.J. (2006) Correlated evolution of stem and leaf hydraulic traits in *Pereskia* (Cactaceae). *New Phytologist* **172**, 479-489.
- Ennajeh M., Tounekti K., Vadel A.M., Khemira H. & Cochard H. (2008) Water relations and drought-induced embolism in olive (*Olea europaea*) varieties 'Meski' and 'Chemlali' during severe drought. *Tree Physiology* **28**, 971-976.
- Enquist B.J., West G.B., Chernov E.L. & Brown J.H. (1999) Allometric scaling of production and life history variation in vascular plants. *Nature* **401**, 907-911.
- Esau K. (1977) Anatomy of seed plants. John Wiley & Sons Eds., New York, USA. pp. 101-181.
- Escalante-Pérez M., Lautner S., Nehls U., Selle A., Teuber M., Schnitzler J.P., Teichmann T., Fayyaz P., Hartung W., Polle A., Fromm J., Hedrich R. & Ache P. (2009) Salt stress affects xylem differentiation of grey poplar (*Populus ×canescens*). *Planta* **229**, 299-309.
- Ewers B.E., Oren R. & Sperry J.S. (2000) Influence of nutrient versus water supply on hydraulic architecture and water balance in *Pinus taeda*. *Plant, Cell & Environment* **23**, 1055-1066.
- FAO. (2008) Les peupliers, les saules et le bien-être des populations. Synthèse des rapports d'activité nationaux, préparée pour la 23ème Session de la Commission internationale du peuplier, organisée conjointement par la FAO, et par la *Beijing Forestry University*, la *State Forest Administration of China* et la *Chinese Academy of Forestry*; Beijing, Chine, 27-30 octobre 2008. Commission internationale du peuplier, Document de travail IPC/6, Division de la gestion des forêts, FAO, Rome (non publiée).
- Farquhar G.D., von Caemmerer S. & Berry J.A. (1980) A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. *Planta* **149**, 78-90.
- Farquhar G.D., O'Leary M.H. & Berry J.A. (1982) On the relationship between carbon isotope discrimination and the intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Australian Journal of Plant Physiology* **9**, 121-137.
- Farquhar G.D. & Richards R.A. (1984) Isotopic composition of plant carbon correlates with water-use efficiency of wheat genotypes. *Australian Journal of Plant Physiology* **11**, 539-552.

- Farquhar G.D., Ehleringer J.R. & Hubick K.T. (1989) Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **40**, 503-537.
- Fichot R., Laurans F., Monclus R., Moreau A., Pilate G. & Brignolas F. (2009) Xylem anatomy correlates with gas exchange, water-use efficiency and growth performance under contrasting water regimes: evidence from *Populus deltoides* × *Populus nigra* hybrids. *Tree Physiology* **29**, 1537-1549.
- Fichot R., Barigah T.S., Chamaillard S., Le Thiec D., Laurans F., Cochard H. & Brignolas F. (in press) Common trade-offs between xylem resistance to cavitation and other physiological traits do not hold among unrelated *Populus deltoides* × *Populus nigra* genotypes. *Plant, Cell & Environment* doi: 10.1111/j.1365-3040.2010.02164.x.
- Franks P.J., Gibson A. & Bachelard E.P. (1995) Xylem permeability and embolism susceptibility in seedlings of *Eucalyptus camaldulensis* dehn from 2 different climatic zones. *Australian Journal of Plant Physiology* **22**, 15-21.
- Franks P.J., Drake P.L. & Beerling D.J. (2009) Plasticity in maximum stomatal conductance constrained by negative correlations between stomatal size and density: an analysis using *Eucalyptus globulus*. *Plant, Cell & Environment* **32**, 1737-1748.
- Gibson A.C., Calkin H.W. & Nobel P.S. (1985) Hydraulic conductance and xylem structure in tracheid-bearing plants. *International Association of Wood Anatomists Bulletin* **6**, 293-302.
- Hacke U. & Sauter J.J. (1996) Drought-induced xylem dysfunction in petioles, branches and roots of *Populus balsamifera* L. and *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. *Plant Physiology* **111**, 413-417.
- Hacke U.G., Sperry J.S. & Pittermann J. (2000) Drought experience and cavitation resistance in six shrubs from the great basin, Utah. *Basic Applied Ecology* **1**, 31-41.
- Hacke U.G. & Sperry J.S. (2001) Functional and ecological xylem anatomy. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **4**, 97-115.
- Hacke UG., Sperry J.S., Pockman W.T., Davis S.D. & McCulloh K.A. (2001) Trends in wood density and structure are linked to prevention of xylem implosion by negative pressures. *Oecologia* **126**, 457-461.

- Hacke U.G., Sperry J.S., Wheeler J.K. & Castro L. (2006) Scaling of Angiosperm xylem structure with safety and efficiency. *Tree Physiology* **26**, 689-701.
- Hacke U.G., Jacobsen A.L. & Pratt R.B. (2009) Xylem function of arid-land shrubs from California, USA: an ecological and evolutionary analysis. *Plant, Cell & Environment* **32**, 1324-1333.
- Hargrave K.R., Kolb K.J., Ewers F.W. & Davis S.D. (1994) Conduit diameter and drought-induced embolism in *Salvia mellifera* Greene (*Labiatae*). *New Phytologist* **126**, 695-705.
- Harvey H.P. & Van Den Driessche R. (1997) Nutrition, xylem cavitation and drought resistance in hybrid poplar. *Tree Physiology* **17**, 647-654.
- Harvey H.P. & Van Den Driessche R. (1999) Nitrogen and potassium effects on xylem cavitation and water-use efficiency in poplars. *Tree Physiology* **19**, 943-950.
- Heilman P.E., Hinckley T.M., Roberts D.A. & Ceulemans R. (1996). Production Physiology. *In: Biology of Populus and its implications for management and conservation*. Eds. Stettler R.F., Bradshaw H.D. Jr., Heilman P.E. & Hinckley T.M. NRC Research Press, Ottawa, Ontario, Canada. 539 p.
- Holbrook N.M., Burns M.J. & Field C.B. (1995) Negative xylem pressure in plants: a test of the balancing pressure technique. *Science* **270**, 1193-1194.
- Holste E.K., Jerke M.J. & Matzner S.L. (2006) Long-term acclimatization of hydraulic properties, xylem conduit size, wall strength and cavitation resistance in *Phaseolus vulgaris* in response to different environmental effects. *Plant, Cell & Environment* **29**, 836-843.
- Hubbard R.M., Ryan M.G., Stiller V. & Sperry J.S. (2001) Stomatal conductance and photosynthesis vary linearly with plant hydraulic conductance in ponderosa pine. *Plant, Cell & Environment* **24**, 113-121.
- Hukin D., Cochard H., Dreyer E., Le Thiec D. & Borgeat-Triboulot M.B. (2005) Cavitation vulnerability in roots and shoots: does *Populus euphratica* Oliv., a poplar from arid areas of central Asia, differ from other poplar species? *Journal of Experimental Botany* **56**, 2003-2010.
- IPCC. (2007) Climate change 2007: the physical science basis. Summary for policymakers. Contribution of working group I to the fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.

- Jacobsen A.L., Ewers F.W., Pratt R.B., Paddock W.A. III & Davis S.D. (2005) Do xylem fibers affect vessel cavitation resistance? *Plant Physiology* **139**, 546-556.
- Jacobsen A.L., Pratt R.B., Ewers F.W. & Davis S.D. (2007a) Cavitation resistance among 26 chaparral species of southern California. *Ecological Monographs* **77**, 99-115.
- Jacobsen A.L., Agenbag L., Esler K.J., Pratt R.B., Ewers F.W. & Davis S.D. (2007b) Xylem density, biomechanics and anatomical traits correlate with water stress in 17 evergreen shrub species of the Mediterranean-type climate region of South Africa. *Journal of Ecology* **95**, 171-183.
- Jacobsen A.L., Esler K.J., Pratt R.B. & Ewers F.W. (2009) Water stress tolerance of shrubs in Mediterranean-type climate regions: convergence of fynbos and succulent karoo communities with California shrub communities. *American Journal of Botany* **96**, 1445-1453.
- Jansen S., Choat B. & Pletsers A. (2009) Morphological variation of intervessel pit membranes and implications to xylem function in Angiosperms. *American Journal of Botany* **96**, 409-419.
- Jarbeau J.A., Ewers F.W. & Davis S.D. (1995) The mechanism of water stress-induced embolism in two species of chaparral shrubs. *Plant, Cell & Environment* **18**, 189-196.
- Jones H.G. & Sutherland R.A. (1991) Stomatal control of xylem embolism. *Plant, Cell & Environment* **14**, 607-612.
- Jorge V., Dowkiw A., Faivre-Rampant P. & Bastien C. (2005) Genetic architecture of qualitative and quantitative *Melampsora larici-populina* leaf rust resistance in hybrid poplar: genetic mapping and QTL detection. *New Phytologist* **167**, 113-127.
- Jourez B., Riboux A., & Leclercq A. (2001) Anatomical characteristics of tension wood and opposite wood in young inclined stems of poplar (*Populus ×euramericana* cv. 'Ghoy'). *International Association of Wood Anatomists Journal* **22**, 133-157.
- Junghans U., Polle A., DÜchting P., Weiler E., Kuhlman B., Gruber F. & Teichmann T. (2006) Adaptation to high salinity in poplar involves changes in xylem anatomy and auxin physiology. *Plant, Cell & Environment* **29**, 1519-1531.
- Katul G., Leuning R. & Oren R. (2003) Relationship between plant hydraulic and biochemical properties derived from a steady-state coupled water and carbon transport model. *Plant, Cell & Environment* **26**, 339-350.

- Kavanagh K.L., Bond B.J., Aitken S.N., Gartner B.L. & Knowe S. (1999) Shoot and root vulnerability to xylem cavitation in four populations of Douglas-fir seedlings. *Tree Physiology* **19**, 31-37.
- Kim Y.X. & Steudle E. (2007) Light and turgor affect the water permeability (aquaporins) of parenchyma cells in the midrib of leaves of *Zea mays*. *Journal of Experimental Botany* **58**, 4119-4129.
- Kleinebecker T., Schmidt S.R., Fritz C., Smolders A.J.P. & Hölzel N. (2009) Prediction of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in plant tissues with near-infrared reflectance spectroscopy. *New Phytologist* **184**, 732-739.
- Kocacinar F. & Sage R.F. (2003) Photosynthetic pathway alters xylem structure and hydraulic function in herbaceous plants. *Plant, Cell & Environment* **26**, 2015-2026.
- Kocacinar F. & Sage R.F. (2004) Photosynthetic pathway alters hydraulic structure and function in woody plants. *Oecologia* **139**, 214-223.
- Kocacinar F., McKown A.D., Sage T.L. & Sage R.F. (2008) Photosynthetic pathway influences xylem structure and function in *Flaveria* (Asteraceae). *Plant, Cell & Environment*. **31**, 1363-1376.
- Kolb K.J. & Sperry J.S. (1999) Differences in drought adaptation between subspecies of sagebrush (*Artemisia tridentata*). *Ecology* **80**, 2373-2384.
- Kondoh S., Yahata H., Nakashizuka T. & Kondoh M. (2006) Interspecific variation in vessel size, growth and drought tolerance of broad-leaved trees in semi-arid regions of Kenya. *Tree Physiology* **26**, 899-904.
- Lafarguette F., Leplé J.C., Déjardin A., Laurans F., Costa G., Lesage-Descauses M.C. & Pilate G. (2004) Poplar genes encoding fasciclin-like arabinogalactan proteins are highly expressed in tension wood. *New Phytologist* **164**, 107-121.
- Leffler A.J. & Evans A.S. (2001) Physiological variation among *Populus fremontii* populations: short- and long-term relationships between $\delta^{13}\text{C}$ and water availability. *Tree Physiology* **21**, 1149-1155.
- Lemoine D., Cochard H. & Granier A. (2002) Within crown variation in hydraulic architecture in beech (*Fagus sylvatica* L.): evidence for a stomatal control of xylem embolism. *Annals of Forest Science* **59**, 19-27.

- Lemoine D., Jacquemin S. & Granier A. (2002) Beech (*Fagus sylvatica* L.) branches show acclimation of xylem anatomy and hydraulic properties to increased light after thinning. *Annals of Forest Sciences* **59**, 761-766.
- Liberloo M., Lukac M., Calfapietra C., Hoosbeek M.R., Gielen B., Miglietta F., Scarascia-Mugnozza G.E. & Ceulemans R. (2009) Coppicing shifts CO₂ stimulation of poplar productivity to above-ground pools: a synthesis of leaf to stand level results from the POP/EUROFACE experiment. *New Phytologist* **182**, 331-346.
- Loepfe L., Martínez-Vilalta J., Piñol J. & Mencuccini M. (2007) The relevance of xylem network structure for plant hydraulic efficiency and safety. *Journal of Theoretical Biology* **247**, 788-803.
- Loustau A., Bosc A., Colin A., Ogée J., Davi H., François C., Dufrêne E., Déqué M., Cloppet E., Arrouays D., Le Bas C., Saby N., Pignard G., Hamza N., Granier A., Bréda N., Ciais P., Viovy N. & Delage F. (2005) Modeling climate change effects on the potential production of French plains forests at the sub-regional level. *Tree Physiology* **25**, 813-823.
- Lovisolo C. & Schubert A. (1998) Effects of water stress on vessel size and xylem hydraulic conductivity in *Vitis vinifera* L. *Journal of Experimental Botany* **49**, 693-700.
- Luo Z., Langenfeld-Heyzer R., Calfapietra C. & Polle A. (2005) Influence of free air CO₂ enrichment (EUROFACE) and nitrogen fertilisation on the anatomy of juvenile wood of three poplar species after coppicing. *Trees* **19**, 109-118.
- Magnani F., Grace J. & Borghetti M. (2002) Adjustment of tree structure in response to the environment under hydraulic constraints. *Functional Ecology* **16**, 385-393.
- Maherali H. & De Lucia E.H. (2000) Xylem conductivity and vulnerability to cavitation of ponderosa pine growing in contrasting climates. *Tree Physiology* **20**, 859-867.
- Maherali H., Pockman W.T. & Jackson R.B. (2004) Adaptive variation in the vulnerability of woody plants to xylem cavitation. *Ecology* **85**, 2184-2199.
- Maherali H., Moura C.F., Caldeira M.C., Willson C.J. & Jackson R.B. (2006) Functional coordination between leaf gas exchange and vulnerability to xylem cavitation in temperate forest trees. *Plant, Cell & Environment* **29**, 571-583.
- Marron N., Villar M., Dreyer E., Delay D., Boudouresque E., Petit J.-M., Delmotte F.M., Guehl J.-M. & Brignolas F. (2005) Diversity of leaf traits related to productivity in 31 *Populus deltoides* × *Populus nigra* clones. *Tree Physiology* **25**, 425-435.

- Marron N., Bastien C., Sabatti M., Taylor G. & Ceulemans R. (2006) Plasticity of growth and sylleptic branchiness in two poplar families grown at three sites across Europe. *Tree Physiology* **26**, 935-946.
- Marron N. & Ceulemans R. (2006) Genetic variation of leaf traits related to productivity in a *Populus deltoides* × *Populus nigra* family. *Canadian Journal of Forest Research* **36**, 390-400.
- Marron N., Dillen S. & Ceulemans R. (2007) Evaluation of leaf traits for indirect selection of high yielding poplar hybrids. *Environmental and Experimental Botany* **61**, 103-116.
- Martínez-Vilalta J., Prat E., Oliveras I. & Piñol J. (2002) Xylem hydraulic properties of roots and stems of nine Mediterranean woody species. *Oecologia* **133**, 19-29.
- Martínez-Vilalta J., Cochard H., Mencuccini M., Sterck F., Herrero A., Korhonen J.F.J., Llorens P., Nikinmaa E., Nolé A., Poyatos R., Ripullone F., Sas-Klaassen U. & Zweifel R. (2009) Hydraulic adjustments of Scots pine across Europe. *New Phytologist* **184**, 353-364.
- Martre P., Durand J.L. & Cochard H. (2000) Changes in axial hydraulic conductivity along elongating leaf blades in relation to xylem maturation in tall fescue. *New Phytologist* **146**, 235-247.
- Martre P., Cochard H. & Durand J.L. (2001) Hydraulic architecture and water flow in growing grass tillers (*Festuca arundinacea* Schreb.). *Plant, Cell & Environment* **24**, 65-76.
- McCulloh K.A., Sperry J.S. & Adler F.R. (2003) Water transport in plants obeys Murray's law. *Nature* **421**, 939-942.
- McCulloh K., Sperry J.S., Lachenbruch B., Meinzer F.C., Reich P.B. & Voelker S. (2010) Moving water well: comparing hydraulic efficiency in twigs and trunks of coniferous, ring-porous, and diffuse-porous saplings from temperate and boreal forests. *New Phytologist* doi: 10.1111/j.1469-8137.2010.03181.x
- McDowell N., Pockman W.T., Allen C.D., Breshears D.D., Cobb N., Kolb T., Plaut J., Sperry J., West A., Williams D.G. & Yezzer E.A. (2008) Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while others succumb to drought? *New Phytologist* **178**, 719-739.
- McElrone A.J., Pockman W.T., Martínez-Vilalta J. & Jackson R.B. (2004) Variation in xylem structure and function in stems and roots of trees to 20 m depth. *New Phytologist* **163**, 507-517.

- Meehl G. & Tebaldi C. (2004) More intensive, more frequent, and longer lasting heat waves in the 21st century. *Science* **305**, 994-997.
- Meinzer F.C. & Grantz D.A. (1990) Stomatal and hydraulic conductance in growing sugarcane: stomatal adjustment to water transport capacity. *Plant, Cell & Environment* **13**, 383-388.
- Meinzer F.C. & Grantz D.A. (1991) Coordination of stomatal, hydraulic, and canopy boundary layer properties: do stomata balance conductances by measuring transpiration? *Physiologia Plantarum* **83**, 324-329.
- Meinzer F.C. (2002) Co-ordination of vapour and liquid phase water transport properties in plants. *Plant, Cell & Environment* **25**, 265-274.
- Meinzer F.C., Johnson D.M., Lachenbruch B., McCulloh K.A. & Woodruff D.R. (2009) Xylem hydraulic safety margins in woody plants: coordination of stomatal control of xylem tension with hydraulic capacitance. *Functional Ecology* **23**, 922-930.
- Mencuccini M. & Grace J. (1996) Hydraulic conductance, light interception and needle nutrient concentration in Scots pine stands and their relations with net primary productivity. *Tree Physiology* **16**, 459-468.
- Mencuccini M. & Comstock J. (1997) Vulnerability to cavitation in populations of two desert species, *Hymenoclea salsola* and *Ambrosia dumosa*, from different climatic regions. *Journal of Experimental Botany* **48**, 1323-1334.
- Mencuccini M. (2003) The ecological significance of long-distance water transport: short-term regulation, long-term acclimation and the hydraulic costs of stature across plant life forms. *Plant, Cell & Environment* **26**, 163-182.
- Milburn J.A. (1966) The conduction of sap 1. Water conduction and cavitation in water stressed leaves. *Planta* **69**, 34-42.
- Monclus R., Dreyer E., Delmotte F.M., Villar M., Delay D., Boudouresque E., Petit J.M., Marron N., Bréchet C. & Brignolas F. (2005) Productivity, leaf traits and carbon isotope discrimination in 29 *Populus deltoides* × *P. nigra* clones. *New Phytologist* **167**, 53-62.
- Monclus R., Dreyer E., Villar M., Delmotte F.M., Delay D., Petit J.M., Barbaroux C., Le Thiec D., Bréchet C. & Brignolas F. (2006) Impact of drought on productivity and water-use efficiency in 29 genotypes of *Populus deltoides* × *Populus nigra*. *New Phytologist* **169**, 765-777.

- Nakashima J., Takabe K., Fujita M., Fukuda H. (2000) Autolysis during *in vivo* tracheary element differentiation: formation and location of the perforation. *Plant and Cell Physiology* **41**, 1267-1271.
- Nardini A. & Tyree M.T. (1999) Root and shoot hydraulic conductance of seven *Quercus* species. *Annals of Forest Science* **56**, 371-377.
- Nardini A. & Salleo S. (2000) Limitation of stomatal conductance by hydraulic traits: sensing or preventing xylem cavitation? *Trees* **15**, 14-24.
- Nardini A. (2001) Are sclerophylls and mallacophylls hydraulically different? *Biologia Plantarum* **44**, 239-245.
- Nardini A., Salleo S. & Andri S. (2005) Circadian regulation of leaf hydraulic conductance in sunflower (*Helianthus annuus* L. cv. Margot). *Plant, Cell & Environment* **28**, 750-759.
- Neufeld H.S., Grantz D.A., Meinzer F.C., Goldstein G., Crisosto G.M. & Crisosto C. (1992) Genotypic variability in vulnerability of leaf xylem to cavitation in water-stressed and well-irrigated sugarcane. *Plant Physiology* **100**, 1020-1028.
- Nobel P.S. (1999) Resistances and conductances - Transpiration. *In: Physicochemical and environmental plant physiology*. 2nd ed. Academic Press, San Diego, 635: pp. 301–303.
- Oren R., Sperry J.S., Katul G.G., Pataki D.E., Ewers B.E., Phillips N. & Schäfer K.V.R. (1999) Survey and synthesis of intra- and interspecific variation in stomatal sensitivity to vapour pressure deficit. *Plant, Cell & Environment* **22**, 1515-1526.
- Pammenter N.W. & Vander Willigen C. (1998) A mathematical and statistical analysis of the curves illustrating vulnerability of xylem to cavitation. *Tree Physiology* **18**, 589-593.
- Panek J.A. (1996) Correlations between stable carbon-isotope abundance and hydraulic conductivity in Douglas-fir across a climate gradient in Oregon, USA. *Tree Physiology* **16**, 747-755.
- Passioura J.B. (2002) Environmental biology and crop improvement. *Functional Plant Biology* **29**, 537-546.
- Pataki D.E., Oren R. & Phillips N. (1998) Responses of sap flux and stomatal conductance of *Pinus taeda* L. trees to stepwise reductions in leaf area. *Journal of Experimental Botany* **49**, 871-878.

- Pearce D.W., Millard S., Bray D.F. & Rood S.B. (2005) Stomatal characteristics of riparian poplar species in a semi-arid environment. *Tree Physiology* **26**, 211–218.
- Peszlen I. (1994) Influence of age on selected anatomical properties of *Populus* clones. *IAWA Journal* **15**, 311-321.
- Pilate G., Déjardin A., Laurans F. & Leplé J.C. (2004) Tension wood as a model for functional genomics of wood formation. *New Phytologist* **164**, 63-72.
- Pita P., Gascó A. & Pardos J.A. (2003) Xylem cavitation, leaf growth and leaf water potentials in *Eucalyptus globulus* clones under well-watered and drought conditions. *Functional Plant Biology* **30**, 891-899.
- Pockman W.T., Sperry J.S. & O’Leary J.W. (1995) Sustained and significant negative water pressure in xylem. *Nature* **378**, 715-716.
- Pockman W.T. & Sperry J.S. (2000) Vulnerability to xylem cavitation and the distribution of Sonoran desert vegetation. *American Journal of Botany* **87**, 1287-1299.
- Poorter L., McDonald I., Alarcón A., Fichtler E., Licona J.C., Peña-Claros M., Sterck F., Villegas Z. & Sass-Klaassen U. The importance of wood traits and hydraulic conductance for the performance and life history strategies of 42 rainforest tree species. *New Phytologist* **185**, 481-492.
- Pratt R.B., Jacobsen A.L., Ewers F. & Davis S.D. (2007a) Relationships among xylem transport, biomechanics and storage in stems and roots of nine *Rhamnaceae* species of the California chaparral. *New Phytologist* **174**, 787-798.
- Pratt R.B., Jacobsen A.L., Golgotiu K.A., Sperry J.S., Ewers F.W. & Davis S.D. (2007b) *Ecological Monographs* **77**, 239-253.
- Pratt R.B., North G.B., Jacobsen A.L., Ewers F.E. & Davis S.D. (2010) Xylem root and shoot hydraulics is linked to life history type in chaparral seedlings. *Functional Ecology* **24**, 70-81.
- Preston K.A. & Ackerly D.D. (2003) Hydraulic architecture and the evolution of shoot allometry in contrasting climates. *American Journal of Botany* **90**, 1502-1512.
- Preston K.A., Cornwell W.K. & DeNoyer J.L. (2006) Wood density and vessel traits as distinct correlates of ecological strategy in 51 California coast range angiosperms. *New Phytologist* **170**, 807-818.

- Ripullone F., Lauteri M., Grassi G., Amato M. & Borghetti M. (2004) Variations in nitrogen supply changes water-use efficiency of *Pseudotsuga menziesii* and *Populus ×euroamericana*; a comparison of three approaches to determine water-use efficiency. *Tree Physiology* **24**, 671-679.
- Robert D. & Catesson A.M. (1990) Les tissus conducteurs: une clé pour la vie en milieu terrestre. *Biologie Végétale Tome 2. Organisation Végétative*. Eds Doin. 359 p.
- Rood S.B., Patiño S., Coombs K. & Tyree M.T. (2000) Branch sacrifice: cavitation-associated drought adaptation of riparian cottonwoods. *Trees* **14**, 248-257.
- Sack L., Cowan P.D., Jaikumar N. & Holbrook N.M. (2003) The 'hydrology' of leaves: co-ordination of structure and function in temperate woody species. *Plant, Cell & Environment* **26**, 1343-1356.
- Sack L., Tyree M.T. & Holbrook N.M. (2005) Leaf hydraulic architecture correlates with regeneration irradiance in tropical rainforest trees. *New Phytologist* **167**, 403-413.
- Sangsing K., Cochard H., Kasemsap P., Thanisawanyangkura S., Sanghasila K., Gohet E. & Thaler P. (2004a) Is growth performance in rubber (*Hevea brasiliensis*) related to xylem hydraulic efficiency? *Canadian Journal of Botany* **82**, 886-891.
- Sangsing K., Kasemsap P., Thanisawanyangkura S., Sanghasila K., Gohet E., Thaler P. & Cochard H. (2004b) Xylem embolism and stomatal regulation in two rubber clones (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). *Trees* **18**, 109-114.
- Santiago L.S., Goldstein G., Meinzer F.C., Fisher J.B., Machado K., Woodruff D. & Jones T. (2004) Leaf photosynthetic traits scale with hydraulic conductivity and wood density in Panamanian forest canopy trees. *Oecologia* **140**, 543-550.
- Schulte P.J., Gibson A.C. & Nobel P.S. (1989) Water flow in vessels with simple or compound perforation plates. *Annals of Botany* **64**, 171-178.
- Schume H., Grabner M. & Eckmüllner O. (2004) The influence of an altered groundwater regime on vessel properties of hybrid poplar. *Trees* **18**, 184-194.
- Scoffoni C., Pou A., Aasamaa K. & Sack L. (2008) The rapid light response of leaf hydraulic conductance: new evidence from two experimental methods. *Plant, Cell & Environment* **31**, 1803-1812.

- Searson M.J., Thomas D.S., Montagu K.D. & Conroy J.P. (2004) Wood density and anatomy of water-limited eucalypts. *Tree Physiology* **24**, 1295-1302.
- Sobrado M.A. (2000) Relation of water transport to leaf gas exchange properties in three mangrove species. *Trees* **14**, 258-252.
- Sobrado M.A. (2003) Hydraulic characteristics and leaf water use efficiency in trees from tropical montane habitats. *Trees* **17**, 400-406.
- Sparks J.P. & Black R.A. (1999) Regulation of water loss in populations of *Populus trichocarpa*: the role of stomatal control in preventing xylem cavitation. *Tree Physiology* **19**, 453-459.
- Sperry J.S., Donnelly J.R. & Tyree M.T. (1988) A method for measuring hydraulic conductivity and embolism in xylem. *Plant, Cell & Environment* **11**, 35-40.
- Sperry J.S. & Tyree M.T. (1988) Mechanism of water stress-induced xylem embolism. *Plant Physiology* **88**, 581-587.
- Sperry J.S., Perry A.H. & Sullivan J.E.M. (1991) Pit membrane degradation and air-embolism formation in ageing xylem vessels of *Populus tremuloides* Michx. *Journal of Experimental Botany* **42**, 1399-1406.
- Sperry J.S., Alder N.N. & Eastlack S.E. (1993) The effect of reduced hydraulic conductance on stomatal conductance and xylem cavitation. *Journal of Experimental Botany* **44**, 1075-1082.
- Sperry J.S. & Pockman W.T. (1993) Limitation of transpiration by hydraulic conductance and xylem cavitation in *Betula occidentalis*. *Plant, Cell & Environment* **17**, 1233-1241.
- Sperry J.S., Nichols K.L., Sullivan J.L. & Eastlack S.E. (1994) Xylem embolism in ring-porous, diffuse-porous and coniferous trees of Northern Utah and interior Alaska. *Ecology* **75**, 1736-1752.
- Sperry J.S. & Saliendra N.Z. (1994) Intra- and inter-plant variation in xylem cavitation in *Betula occidentalis*. *Plant, Cell & Environment* **17**, 1233-1241.
- Sperry J.S., Saliendra N.Z., Pockman W.T., Cochard H., Cruiziat P., Davis S.D., Ewers F.W. & Tyree M.T. (1996) New evidence for large negative xylem pressure and their measurement by the pressure chamber method. *Plant, Cell & Environment* **19**, 427-436.

- Sperry J.S. (2000) Hydraulic constraints on plant gas exchange. *Agricultural and Forest Meteorology* **104**, 13-23.
- Sperry J.S., Hacke U.G., Oren R. & Comstock J.P. (2002) Water deficits and hydraulic limits to leaf water supply. *Plant, Cell & Environment* **25**, 251-263.
- Sperry J.S. & Hacke U.G. (2004) Analysis of circular bordered pit function I. Angiosperm vessels with homogeneous pit membranes. *American Journal of Botany* **91**, 369-385.
- Sperry J.S., Hacke U.G. & Wheeler J.K. (2005) Comparative analysis of end wall resistivity in xylem conduits. *Plant, Cell & Environment* **28**, 456-465.
- Sperry J.S., Hacke U.G. & Pittermann J. (2006) Size and function in conifer tracheids and angiosperm vessels. *American Journal of Botany* **93**, 1490-1500.
- Sperry J.S., Meinzer F.C. & McCulloh K.A. (2008) Safety and efficiency conflicts in hydraulic architecture: scaling from tissues to trees. *Plant, Cell & Environment* **31**, 632-645.
- Stanton B.J. (2009) The domestication and conservation of *Populus* genetic resources (Chapter 4a). In: Poplars and willows in the world: meeting the needs of society and the environment. Eds. Isebrands J.G. & Richardson J. FAO/IPC (Food and Agricultural Organization of the United Nations / International Poplar Commission), Rome, Italy. 86p.
- Steudle E. (1995) Trees under tension. *Nature* **378**, 663-664.
- Steudle E. (2001) The cohesion-tension mechanism and the acquisition of water by plant roots. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **52**, 847-875.
- Thivolle-Cazat A. (2003) Disponibilité en bois de peuplier en France de 2002 à 2020. *Informations Forêt AFOCEL* no. 1, fiche 662. 6p.
- Tognetti R., Longobucco A. & Raschi A. (1999) Seasonal embolism and xylem vulnerability in deciduous and evergreen Mediterranean trees influenced by proximity to a carbon dioxide spring. *Tree Physiology* **19**, 271-277.
- Tschaplinski T.J., Tuskan G.A. & Gunderson C.A. (1994) Water-stress tolerance of black and eastern cottonwood clones and four hybrid progeny I. Growth, water relations, and gas exchange. *Canadian Journal of Forest Research* **24**, 364-371.
- Tsuda M. & Tyree M.T. (2000) Plant hydraulic conductance measured by the high pressure flow meter in crop plants. *Journal of Experimental Botany* **51**, 823-828.

- Tyree M.T. & Dixon M.A. (1983) Cavitation events in *Thuja occidentalis* L. Ultrasonic acoustic emissions from the sapwood can be measured. *Plant Physiology* **72**, 1094-1099.
- Tyree M.T. & Sperry J.S. (1988) Do woody plants operate near the point of catastrophic xylem dysfunction caused by dynamic water stress? Answers from a model. *Plant Physiology* **88**, 574-580.
- Tyree M.T. & Sperry J.S. (1989) Vulnerability of xylem to cavitation and embolism. *Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology* **40**, 19-38.
- Tyree M.T. & Ewers F.W. (1991) The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *Tansley Review, New Phytologist* **119**, 345-360.
- Tyree M.T., Alexander J. & Machado J.L. (1992) Loss of hydraulic conductivity due to water stress in intact juveniles of *Quercus rubra* and *Populus deltoides*. *Tree Physiology* **10**, 411-415.
- Tyree M.T., Cochard H., Cruiziat P., Sinclair B. & Améglio T. (1993a) Drought-induced leaf shedding in walnut. Evidence for vulnerability segmentation. *Plant, Cell & Environment* **16**, 879-882.
- Tyree M.T., Sinclair B., Lu P. & Granier A. (1993) Whole shoot hydraulic resistance in *Quercus* species measured with a new high-pressure flowmeter. *Annals of Forest Science* **50**, 417-423.
- Tyree M.T., Davis S.D. & Cochard H. (1994) Biophysical perspectives of xylem evolution: is there a trade-off of hydraulic efficiency for vulnerability to dysfunction? *International Association of Wood Anatomists Journal* **15**, 335-360.
- Tyree M.T., Patiño S., Bennink J. & Alexander J. (1995) Dynamic measurements of root hydraulic conductance using a high-pressure flowmeter in the laboratory and field. *Journal of Experimental Botany* **46**, 83-94.
- Tyree M.T., Velez V. & Dalling J.W. (1998) Growth dynamics of root and shoot hydraulic conductance in seedlings of five neotropical tree species: scaling to show possible adaptation to differing light regimes. *Oecologia* **114**, 293-298.
- Tyree M.T. & Zimmermann M.H. (2002) *Xylem structure and the ascent of sap*. 2nd ed. Springer-Verlag, Berlin.

- Tyree M.T., Cochard H. & Cruiziat P. (2003) The water-filled *versus* air-filled status of vessels cut open in air: the 'Scholander assumption' revisited. *Plant, Cell & Environment* **26**, 613-621.
- Tyree M.T., Nardini A., Salleo S., Sack L. & El Omari B. (2005) The dependence of leaf hydraulic conductance on irradiance during HPFM measurements: any role for stomatal response? *Journal of Experimental Botany* **56**, 737-744.
- Valladares F., Gianoli E. & Gómez J.M. (2007) Ecological limits to plant phenotypic plasticity. *Tansley Review, New Phytologist* **176**, 749-763.
- Van Den Honert T.H. (1948) Water transport in plants as a catenary process. *Discussion of the Faraday Society* **3**, 146-153.
- Vander Willigen C. & Pammenter N.W. (1998) Relationship between growth and xylem hydraulic characteristics of clones of *Eucalyptus* spp. at contrasting sites. *Tree Physiology* **18**, 595-600.
- von Caemmerer S. & Farquhar G.D. (1981) Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta* **153**, 376-387.
- West G.B., Brown J.H. & Enquist B.J. (1999) A general model for the structure and allometry of plant vascular systems. *Nature* **400**, 664-667.
- Wheeler J.K., Sperry J.S., Hacke U.G. & Hoang N. (2005) Inter-vessel pitting and cavitation in Rosaceae and other vesselled plants: a basis for a safety versus efficiency trade-off in xylem transport. *Plant, Cell & Environment* **28**, 800-812.
- Wikberg J. & Ögren E. (2004) Interrelationships between water use and growth traits in biomass-producing willows. *Trees* **18**, 70-76.
- Wong S.C., Cowan I.R. & Farquhar G.D. (1979) Stomatal conductance correlates with photosynthetic capacity. *Nature* **282**, 424-426.
- Xu Z. & Zhou G. (2008) Responses of leaf stomatal density to water status and its relationship with photosynthesis in a grass. *Journal of Experimental Botany* **59**, 3317-3325.
- Yang S. & Tyree M.T. (1994) Hydraulic architecture of *Acer saccharum* and *Acer rubrum*: comparisons of branches to whole trees and the contribution of leaves to hydraulic resistance. *Journal of Experimental Botany* **45**, 179-186.

- Zanne A.E., Westoby M., Falster D.S., Ackerly D.D., Loarie S.R., Arnold S.E.J. & Coomes D.A. (2010) Angiosperm wood structure: global patterns in vessel anatomy and their relation to wood density and potential conductivity. *American Journal of Botany* **97**, 207-215.
- Zhang X., Zang R. & Li C. (2004) Population differences in physiological and morphological adaptations of *Populus davidiana* seedlings in response to progressive drought stress. *Plant Science* **166**, 791-797.
- Zhang J.L. & Cao K.F. (2009) Stem hydraulics mediates leaf water status, carbon gain, nutrient-use efficiencies and plant growth rates across dipterocarp species. *Functional Ecology* **23**, 658-667.
- Zimmermann M.H. (1983) Xylem structure and the ascent of sap. 1st ed. Springer-Verlag, Berlin.
- Zimmermann U., Schneider H., Wegner L.H. & Haase A. (2004) Water ascent in tall trees: does evolution of land plants rely on a highly metastable state? *Tansley Review, New Phytologist* **162**, 575-615.

VALORISATION DES TRAVAUX SCIENTIFIQUES

VALORISATION DES TRAVAUX SCIENTIFIQUES

PUBLICATIONS DANS DES REVUES INTERNATIONALES A COMITE DE LECTURE

Fichot R., Chamaillard S., Depardieu C., Le Thiec D., Cochard H., Barigah T.S. & Brignolas F. Hydraulic efficiency and coordination with xylem resistance to cavitation, leaf function and growth performance in *Populus deltoides* × *Populus nigra*. *To be submitted to Journal of Experimental Botany*.

Fichot R., Barigah T.S., Chamaillard S., Le Thiec D., Laurans F., Cochard H. & Brignolas F. (2010) Common trade-offs between xylem resistance to cavitation and other physiological traits do not hold among unrelated *Populus deltoides* × *Populus nigra* hybrids. *Plant, Cell & Environment* doi: 10.1111/j.1365-3040.2010.02164.x.

Fichot R., Laurans F., Monclus R., Moreau A., Pilate G. & Brignolas F. (2009) Xylem anatomy correlates with gas exchange, water-use efficiency and growth performance under contrasting water regimes: evidence from *Populus deltoides* × *P. nigra* hybrids. *Tree Physiology* **29**, 1537-1549.

Monclus R., Villar M., Barbaroux C., Bastien C., **Fichot R.**, Delmotte F.M., Delay D., Petit J.M., Brechet C., Dreyer E. & Brignolas F. (2009) Productivity, water-use efficiency and tolerance to moderate water deficit correlate in 33 poplar genotypes from a *Populus deltoides* × *P. trichocarpa* F₁-progeny. *Tree Physiology* **29**, 1329-1339.

ARTICLES EN PREPARATION

Chamaillard S., Barbaroux C., **Fichot R.**, Bastien C., Depierreux C., Brignolas F. & Villar M. (*In prep*) Genetic variation in bulk leaf carbon isotope discrimination in three natural populations of *Populus nigra* L. grown under contrasting environments.

Chamaillard S., Villar M., **Fichot R.**, Brignolas F. & Barbaroux C. (*In prep*) Genetic variability in carbon isotope discrimination in seedlings of *Populus nigra* L. in response to high temperature under controlled conditions.

COMMUNICATIONS

Communications orales à des congrès (le nom de l'auteur ayant présenté est souligné)

Fichot R., Barigah T.S., Chamaillard S., Le Thiec D., Laurans F., Cochard H. & Brignolas F. (2009) Variabilité et plasticité de la résistance à la cavitation chez le peuplier – Relations avec d'autres caractères physiologiques. *Colloque du Groupe Xylème – Eau – Croissance*. Bordeaux, France.

Leplé J.C., Lesage-Descauses M.C., Fedirko E., **Fichot R.**, Desplat N., Renou J.P., Balzergue S., Bourgain I., Laurans F., Millet N., Moreau A., Déjardin A. & Pilate G. (2009) Genome-wide analysis of the fasciclin-like arabinogalactan (FLA) gene family in *Populus trichocarpa* and their expression profiling in tension wood. *EU COST E50 Workshop 'Systems biology for plant design'*. Wageningen, Netherlands.

Pilate G., **Fichot R.**, Fedirko E., Takeuchi M., Arnaud D., Lesage-Descauses M.C., Boizot N., Laurans F., Moreau A., Desplat N., Renou J.P., Balzergue S., Bourgain I., Millet N., Déjardin A., Brignolas F., Chabbert B. & Leplé J.C. (2009) Molecular aspects of G-fibre formation in tension wood. *International Symposium 'Plant fibres, view of fundamental biology'*. Kazan, Russia.

Fichot R., Laurans F., Lesage-Descauses M.C., Leplé J.C., Millet N., Brignolas F. & Pilate G. (2008) Formation du bois et sécheresse chez le peuplier : modulation de l'expression des gènes en réponse à un cycle sécheresse-réarrosage. *10^{ème} Colloque de Biologie Moléculaire des Ligneux*. Nancy, France.

Pilate G., Lesage-Descauses M.C., **Fichot R.**, Laurans F., Déjardin A., Leplé J.C., Brignolas F. (2007). Physiological and molecular aspects of wood formation in poplar trees under both a water stress and a mechanical constraint. *IUFRO Tree Biotechnology Conference*. Azores, Portugal.

Communications par affiche à des congrès

Fichot R., Lesage-Descauses M.C., Leplé J.C., Laurans F., Moreau A., Millet N., Déjardin A., Brignolas F. & Pilate G. (2009) Effects of water stress and rewatering during tension wood formation on xylem cell differentiation. *IUFRO Biotechnology Conference*. Vancouver, Canada.

- Barbaroux C., Bonhomme L., Monclus R., Marron N., Chamaillard S., **Fichot R.**, Dreyer E. & Brignolas F. (2008) Water-use efficiency in poplar : a review. *2nd Joint European Stable Isotopes User Meeting (JESIUM)*. Presqu'île de Giens, France.
- Fichot R.**, Laurans F., Monclus R., Moreau A., Pilate G. & Brignolas F. (2008) Xylem functional anatomy correlates with water-use efficiency (WUE) and biomass production under contrasting water regimes: evidence from *Populus D × N* hybrids. *2nd Joint European Stable Isotopes User Meeting (JESIUM)*. Presqu'île de Giens, France.
- Fichot R.**, Brignolas F. & Pilate G. (2007) Aspects physiologiques et moléculaires de la formation du bois chez le peuplier lors de l'interaction entre une contrainte hydrique et une contrainte mécanique. *Journées Jeunes Chercheurs du département 'Ecologie des Forêts, Prairies et milieux Aquatiques' de l'INRA*. Nouan le Fuzelier, France.
- Fichot R.**, Laurans F., Lesage-Descauses M.C., Leplé J.C., Moreau A., Millet N., Brignolas F. & Pilate G. (2007) Using tension wood as a model to study wood formation under water deficit. *2nd UPRA Meeting*. Umeå, Sweden.
- Fichot R.**, Laurans F., Monclus R., Moreau A., Villar M., Pilate G., Brignolas F. (2007) Variabilité intra-spécifique de l'anatomie du bois chez les hybrides *Populus ×euramericana* et relations avec l'efficacité d'utilisation de l'eau en conditions hydriques optimales ou limitantes. *9^{èmes} Journées d'Ecologie Fonctionnelle*. Biarritz, France.

Régis FICHOT

Variabilité Structurale et Fonctionnelle du Xylème et Plasticité en Réponse à la Sécheresse chez le Peuplier

Cette thèse visait à caractériser l'architecture hydraulique du xylème chez les hybrides de peuplier *Populus deltoides* × *P. nigra* et à juger de ses relations avec le fonctionnement hydrique et carboné de l'arbre en conditions d'irrigation contrastées. A cette fin, huit génotypes se distinguant par leur discrimination isotopique vis-à-vis du carbone 13 ont été cultivés en pépinière. Nos travaux ont permis de mettre en évidence d'importantes variations entre génotypes pour les caractéristiques anatomiques du xylème, l'efficacité hydraulique de la tige et de la plante entière ainsi que la résistance à la cavitation. Nos travaux démontrent également que l'anatomie et la résistance à la cavitation du xylème s'ajustent aux conditions hydriques du milieu de façon génotype-dépendante. En condition hydrique non limitante, nous avons mis en évidence un compromis entre l'efficacité hydraulique et la résistance à la cavitation ou le potentiel de croissance. Ces deux compromis expliquent la relation positive observée entre la résistance à la cavitation et le potentiel de croissance. En condition hydrique limitante, cette relation n'était toutefois plus observable. Aucune relation n'a pu être identifiée entre les propriétés hydrauliques et l'efficacité d'utilisation de l'eau. Ces travaux suggèrent que certaines relations couramment observées à l'échelle inter-spécifique ne sont pas nécessairement applicables à des échelles d'étude plus réduites. Ce travail ouvre des perspectives sur le plan fondamental pour l'identification du déterminisme moléculaire à l'origine de la plasticité structurale observée et sur le plan appliqué, pour la création variétale.

Mots clés : anatomie, architecture hydraulique, croissance, discrimination isotopique vis-à-vis du carbone 13, efficacité d'utilisation de l'eau, peuplier, plasticité phénotypique, relations hydriques et carbonées, sécheresse, variabilité génétique, vulnérabilité à la cavitation, xylème

Variations in Xylem Structure and Function and Drought-Induced Plasticity in Poplar

This work aimed at characterizing xylem hydraulic architecture and at describing its relationships with whole-plant water and carbon relations among *Populus deltoides* × *P. nigra* hybrids under contrasting water regimes. Eight genotypes differing in carbon isotope discrimination were grown in the field in a common garden test. Significant variations were observed between genotypes for all xylem anatomical characteristics, stem or whole-plant hydraulic efficiency and xylem resistance to cavitation. Drought-induced acclimation was observed for xylem structural features and xylem resistance to cavitation, but in a genotype-dependant manner. Under optimal irrigation, a trade-off was observed between hydraulic efficiency and xylem resistance to cavitation or growth performance. These two trade-offs translated into an uncommon positive relationship between xylem resistance to cavitation and growth performance. Under water deficit, this relationship broke down. No relationship could be detected between xylem hydraulics and water-use efficiency estimates. Our results suggest in part that several common relationships that are observed at the between-species level may not necessarily hold true at narrower scales. Further, this work opens up prospects both for identifying the molecular basis of xylem structural acclimation and for breeding strategies.

Keywords: anatomy, carbon isotope discrimination, drought, genetic variability, growth, hydraulic architecture, phenotypic plasticity, poplar, water and carbon relations, water-use efficiency, xylem, xylem vulnerability to cavitation



UPRES-EA 1207 Laboratoire de Biologie des Ligneux et des
Grandes Cultures - INRA USC2030 Arbres et Réponses aux
Contraintes Hydrique et Environnementales

INRA UR588, Unité Amélioration, Génétique et Physiologie
Forestières

