



HAL
open science

Diversité anatomique et efficacité du bois de tension des arbres de forêt tropicale humide

Barbara Ghislain

► **To cite this version:**

Barbara Ghislain. Diversité anatomique et efficacité du bois de tension des arbres de forêt tropicale humide. Ecologie, Environnement. Université de Guyane, 2017. Français. ⟨NNT : 2017YANE0012⟩. ⟨tel-02003389⟩

HAL Id: tel-02003389

<https://theses.hal.science/tel-02003389v1>

Submitted on 1 Feb 2019

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.



HAL Authorization



Thèse



En vue de l'obtention du grade de
Docteur de l'Université de Guyane

Discipline : *Sciences et Technologies*
Spécialité : *Sciences forestières et du bois*

Présentée en vue d'être soutenue publiquement le *17 octobre 2017* par :

BARBARA GHISLAIN

Diversité anatomique et efficacité du bois de tension des arbres de forêt tropi- cale humide.

JURY

Pieter BAAS	Pr, NCB Naturalis, Leiden (NL)	Rapporteur
Mérim Fournier	Pr, AgroParisTech LERFoB, Nancy	Rapporteur
Nick ROWE	DR, CNRS AMAP, Montpel- lier	Examineur
Tancrede ALMÉRAS	CR, CNRS LMGC, Montpel- lier	Examineur
Jacques BEAUCHÊNE	Ch, Cirad EcoFoG, Kourou	Examineur
Bruno CLAIR	DR, CNRS EcoFoG, Kourou	Directeur de Thèse

Ecole Doctorale n°587 : Diversités, Santé et développement en Amazonie

REMERCIEMENTS

Si l'arbre est capable de cacher la forêt, alors un thésard cache certainement une foule. Par ces quelques lignes, je souhaite remercier chaleureusement les nombreuses personnes qui m'ont apporté leur aide, qu'elle soit de nature scientifique, logistique ou simplement humaine.

Tout d'abord merci à Bruno Clair, pour m'avoir orienté au cours de cette grande aventure. Merci de m'avoir transmis un grand nombre de connaissances ainsi que la motivation d'aller toujours plus loin.

Merci à Tancrède Alméras de m'avoir accompagné dans l'aventure de l'efficiace et d'avoir clarifié de nombreux concepts en étant un excellent professeur de mécanique.

Merci à Jacques Beauchêne pour son grand savoir en anatomie des bois guyanais et sa bienveillance légendaire.

Merci à Pieter Baas, Meriem Fournier et Nick Rowe d'avoir donné une plus grande envergure à mon travail de thèse lors de la soutenance.

Vient ensuite une foule de personnes, impossible à lister dans un ordre précis.

A tous les membres de l'ANR StressInTrees, merci pour les réunions et les conférences passées ensemble. Merci aux membres du CEBA pour les conférences qui agrandissent notre savoir sur le Bassin Amazonien. Merci également au personnel de l'école doctorale de l'Université de Guyane pour la diversité des formations. Je remercie Olivier Marnette pour la formidable formation « Experimentarium » !

Merci aux botanistes Julien Engel et Pascal Petronelli d'avoir identifié de nombreux troncs et plantules. Merci à Eric Nicolini pour la collaboration « Salicaceae ». Merci à Jean-Yves Goret, Benoît Burban et Onofe Ngwete de m'avoir amené à quelques sorties « récolte de graines ». Merci à Sabrina Coste pour son savoir en serre et en manip' d'écophysiologie. Un tout grand merci à Jocelyn Cazal pour l'énorme travail de rénovation et d'entretien de la serre, ainsi qu'à Audin Patient. Merci à l'ensemble du labo écophysio pour ses divers dépannages. Merci à Soepe Koesse d'avoir patiemment scié et assemblé 63 systèmes d'inclinaisons de pots et scié 500 tuteurs.

Merci aux stagiaires qui ont débroussaillé le terrain, Jean-Romain Roussel et Raïssa Romain. Un énorme merci à Aurélie Cuvelier pour son travail de césure et les nombreux terrains passés ensemble. Cela vaut aussi pour Grégory Faure et son formidable travail de césure en serre. Merci également aux stagiaires Nicolas Gintis et Camille Gérard, ainsi que tous ceux passés sur des périodes plus courtes. Un grand merci à tous les étudiants du module FTH qui nous ont aidés de 2014 à 2017.

Merci à Jonathan Prunier pour son aide précieuse depuis son arrivée au labo bois. Merci à Patrick Heuret d'apprécier les poissons d'avril douteux. Un clin d'œil à tous les jeunes chercheurs du labo bois pour les coups de main et l'ambiance du labo bois:

Hélène Morel, Julie Bossu, Romain Lehnebach, Clémence Ogéron, Claudia Flora, Bach Nguyen et Sébastien Levionnois.

Merci à Eliane Louisianna pour son aide sur *Laetia*. Merci à Valérie Troispoux pour sa touche de sécurité dans le labo. Merci à Frédéric Petitclerc de continuer d'améliorer le colorospeed, indispensable outil pour les coupes à haut débit. Merci à Annie Koutouan et Anthony Chassaing pour l'administratif, Josie Santini pour les aspects financiers et Carole Legrand pour l'aide à la documentation.

De manière générale je voudrais remercier tous les membres de l'UMR EcoFoG, qui font de cette unité un cadre de travail à la fois dynamique et très agréable.

Merci à Takabe-sensei, Arata-sensei et Awano-sensei, ainsi qu'aux autres membres du Tree Cell Laboratory à l'Université de Kyoto, au Japon, de m'avoir accueillie au sein de leur équipe pendant 3 mois.

Enfin, merci à toutes les personnes dans les coulisses qui font de cette expérience un équilibre.

Un énorme merci à Delphine, Damien et petit Nolan pour tous les moments magiques passés entre voisins. Merci à la joyeuse bande du volley pour l'ambiance. Merci à l'ensemble des Compagnons pour les bons moments. Merci à tous les copains pour les sorties carbets.

Merci à ma famille d'être telle qu'elle est. Au risque de me répéter : Vous savez ce que je sais, non ?

Le meilleur pour la fin : Stéphane, ta contribution essentielle serait trop longue à expliquer. Alors simplement : merci d'être au top !

RESUME

Le bois de tension est un tissu développé par les angiospermes afin de redresser ou de maintenir leur position verticale. Ce tissu génère de fortes contraintes de tension capables de courber un tronc vers le haut. Dans la littérature, l'anatomie du bois de tension est caractérisée par la présence d'une couche gélatineuse (couche G) non lignifiée dans la paroi des fibres. Cette thèse vise à étudier la diversité anatomique du bois de tension ainsi que les mécanismes de génération des contraintes de tension associés et les éventuelles variations de l'efficacité du redressement, afin de comprendre comment les arbres se redressent. Elle s'appuie sur des observations anatomiques sur 291 espèces tropicales, sur des estimations de contraintes de maturation sur arbres adultes ainsi que sur une nouvelle méthode d'estimation des contraintes de maturation sur des individus juvéniles artificiellement inclinés et tuteurés en serre. Nos résultats montrent que la couche G est présente dans la majorité des espèces, bien qu'elle soit majoritairement masquée par de la lignine. Dans un faible nombre d'espèces, la couche G est absente du bois de tension. Dans ces espèces, le mécanisme de génération des contraintes de tension implique l'interaction du bois avec l'écorce. Bien que la contrainte de tension soit générée dans des compartiments distincts (le bois et/ou l'écorce), ces deux mécanismes de génération des contraintes de tension ont une efficacité de redressement similaire dans le stade juvénile. Les résultats de cette étude ouvrent de nouvelles perspectives de recherche, notamment sur le rôle fonctionnel de la lignine dans la couche G.

Abstract

Tension wood is a tissue developed by angiosperms to upright or maintain their vertical position. This tissue generates a strong tensile stress able to curve the stem upwards. In the literature, tension wood anatomy is characterized by the presence of an unligified gelatinous layer (G-layer) in the fibre cell wall. The aims of this thesis are to study the anatomical diversity of tension wood as well as the associated mechanisms of tensile stress generation and eventual variations of uprighting efficiency in order to understand how trees upright. This thesis relies on anatomical observations of 291 tropical species, on estimations of maturation strain on adult trees and on estimations of maturation strain on artificially tilted young trees tied to a pole in a greenhouse. Our results show that the G-layer is present in the majority of the species, although it is mainly hidden by lignin. The G-layer is absent in tension wood of a few number of species. In these species, the mechanism of tensile stress generation involves the interaction of wood and bark. Although tensile stress is generated in separated tissues (wood and/or bark), these two mechanism of tensile stress generation show a similar efficiency of uprighting in juvenile trees. Results of this study open new prospects of research, including on functional role of lignin in the G-layer.

DIVERSITE ANATOMIQUE ET EFFICIENCE DU BOIS DE TENSION DES ARBRES DE FORET TROPICALE HUMIDE

TABLE DES MATIERES

Remerciements.....	3
Résumé	5
Avant-propos général.....	9
Contexte de l'étude	9
Questionnement et objectif.....	10
Organisation du manuscrit de thèse.....	10
Chapitre 1: : Introduction générale.....	12
1.1. Avant-propos	12
1.2. Caractéristiques de la forêt guyanaise et importance de la biomécanique.....	12
1.2.1. Pédologie	12
1.2.2. Caractéristique des peuplements et richesse spécifique	13
1.2.3. Climat.....	13
1.2.4. Vents dominants.....	14
1.2.5. Dynamique de régénération et tempéraments des espèces.....	14
1.2.6. Drainage du sol.....	15
1.2.7. Modèles architecturaux.....	16
1.2.8. Conclusion sur l'intérêt de la Guyane pour les études en biomécanique végétale	16
1.3. Biomécanique de l'arbre.....	16
1.3.1. Notions de mécanique : matériau bois dans la structure arbre	17
1.3.2. Contraintes de maturation	24
1.4. Anatomie de l'écorce et du bois	28
1.4.1. Éléments d'anatomie d'écorce.....	28
1.4.2. Ultrastructure du bois et maturation cellulaire.....	29
1.4.3. Anatomie des fibres du bois de tension (article 1)	31
Chapitre 2: : Matériel et méthodes	51
2.1. Avant-propos	51
2.2. Matériel végétal.....	51

2.2.1.	Matériel végétal issu d'études antérieures.....	51
2.2.2.	Matériel végétal sur pied récolté en forêt naturelle	53
2.2.3.	Matériel végétal élevé en serre	55
2.3.	Méthodes.....	56
2.3.1.	Observation des cellules de bois.....	56
2.3.2.	Mesure des contraintes de maturation sur arbres adultes	59
2.3.3.	Mesures de contraintes sur les arbres juvéniles (article 2).....	60
2.3.4.	Mesure des coûts physiologiques	88
Chapitre 3: : Diversité des bois de tension.....		91
3.1.	Avant-propos.....	91
3.2.	Diversité anatomique des bois de tension.....	91
3.2.1.	De la structure multicouche de la paroi des fibres de bois de tension des Salicaceae <i>sensu lato</i> et de sa signification pour la taxonomie (article 3).....	91
3.2.2.	Diversité anatomique du bois de tension sur 291 espèces (article 4)	107
3.3.	Diversité d'organisation de la cellulose dans la paroi des fibres de bois de tension	129
3.3.1.	Description du réseau de microfibrilles de cellulose de la couche G.....	129
3.3.2.	Angle des microfibrilles du bois de tension par diffraction au rayon X.....	133
Chapitre 4: : Un autre mécanisme de génération des contraintes ...		137
4.1.	Avant-propos.....	137
4.2.	Mécanisme « sans couche G » (article 5).....	138
4.2.1.	Avant-propos	138
4.2.2.	Article 5 : Bark contribution to the posture control of trees	138
Chapitre 5: : Comparaison des différents mécanismes de génération des contraintes.....		155
5.1.	Avant-propos.....	155
5.2.	Efficience du redressement chez 20 espèces à mécanismes biomécaniques contrastés (article 6)	156
5.2.1.	Avant-propos	156
5.2.2.	Article 6 : The diversity of gravitropic reactions among 20 tropical tree species leads to similar up-righting efficiency	156
5.2.3.	Complément de l'article 6.....	171
5.3.	Croissance et allocation de la biomasse	173
5.3.1.	Dynamique de croissance et allocation de la biomasse chez les arbres inclinés sur 3 espèces à bois de tension contrastés.....	173
5.3.2.	Infradensité du bois et de l'écorce côté tendu et opposé	179
Conclusion générale et perspectives		183
Le bois de tension comme moteur dans l'arbre		183
Le bois de tension comme défaut du matériau bois		185

Bibliographie	155
Liste de Figures.....	199
Liste de Tableaux.....	207
Annexes	209
Protocole de double coloration en safranine/bleu Astra.....	209
Plan de serre.....	209

Contexte de l'étude

Les arbres possèdent un système moteur qui leur permet d'ajuster leur position suite à un déséquilibre du houppier ou d'autres contraintes comme le vent, la chute d'une branche, etc. Chez les angiospermes, ce système moteur se trouve dans un tissu spécialisé appelé bois de tension. Ce tissu est formé sur la partie supérieure d'un axe incliné et génère des contraintes de tension élevées capables de redresser l'axe ou de le maintenir dans sa position. Dans le bois de tension de certaines espèces comme le peuplier, une partie de la paroi des fibres est modifiée : les microfibrilles de cellulose y sont alignées dans l'axe de la cellule et la lignine n'est que peu voire pas du tout présente. Cette partie modifiée de la paroi des fibres s'appelle la couche gélatineuse ou couche G, en raison de sa nature méso-poreuse lui donnant une apparence gélatineuse sur les coupes anatomiques. L'hypothèse actuelle de mise en place de la contrainte repose sur le gonflement du gel au cours de la maturation cellulaire, qui génère une contrainte de tension dans les microfibrilles de cellulose (Clair *et al.* 2011; Alméras & Clair 2016).

Les études portant sur le redressement des angiospermes et le bois de tension se sont focalisées sur un arbre modèle, le peuplier. Or des études antérieures portant sur une diversité d'espèces montrent que la couche G n'est pas si fréquente (Onaka 1949; Höster & Liese 1966; Fisher 1982). Parmi les espèces tropicales bien décrites pour ne pas produire de couche G dans leur bois de tension se trouve *Simarouba amara*. Cette espèce a été largement étudiée dans le cadre de la thèse de Ruelle (2006), confirmant l'absence de couche G dans son bois de tension. Mais en 2013-2014, des expérimentations sur de jeunes arbres de *Simarouba amara* plantés en serre à Kourou mettent en évidence la présence d'une couche G tardivement lignifiée (Roussel & Clair 2015). Cela signifie que les espèces dites sans couches G peuvent en réalité avoir un couche G, bien que masquée par une lignification tardive. De plus, des quantités importantes de lignine sont découvertes dans la couche G, alors que la littérature débattait d'éventuelles *traces* de lignines (Joseleau *et al.* 2004).

Au vu de ces résultats récents, il est nécessaire de relire la littérature passée, qui nous a amené à converger vers l'arbre modèle du peuplier, certes facile à étudier, mais peu représentatif de la diversité. Cette thèse s'intéresse dans un premier temps à la diversité anatomique du bois de tension sur un grand nombre d'espèces tropicales. Dans un second temps, les mécanismes liés aux différentes anatomies de bois de tension sont étudiés. Enfin, ces différentes anatomies et ces différents mécanismes sont comparés au travers de leur efficacité biomécanique ainsi qu'au travers de quelques traits d'allocation de biomasse et d'écophysiologie du redressement.

Cette thèse s'insère dans l'ANR StressInTrees « Approche couplée physiologique et micro-mécanique de la génération des contraintes de maturation dans le bois de tension » rassemblant les laboratoires du LMGC à Montpellier, l'AGPF INRA d'Orléans et l'Unité Mixte de Recherche EcoFoG de Kourou. Elle est cofinancée par le projet StressInTrees et par le Laboratoire d'excellence Centre d'Etude de la Biodiversité Amazonien (CEBA).

Questionnement et objectif

Les questionnements sous-jacents à cette thèse sont les suivants :

- Existe-t-il vraiment du bois de tension sans couche G, ou les espèces dites sans couche G sont en fait des espèces à couche G lignifiées?
- Quelle est la diversité des bois de tension, en dehors du bois de tension à couche G non lignifié tel que celui du peuplier ?
- Est-ce que toutes les espèces partagent le même mécanisme de génération des contraintes de maturation ? Dans le cas contraire, quels sont les différents mécanismes de génération des contraintes ?
- La diversité anatomique de bois de tension est-elle le reflet de variations dans le mécanisme d'efficacité du redressement ?

Organisation du manuscrit de thèse

Ce document est organisé sous le format d'une thèse sur article. Deux articles sont publiés dans des revues scientifiques et 4 articles sont en cours de préparation. Ces 6 articles sont insérés dans les chapitres adéquats. Ma contribution est décrite dans une note de bas de page relative à chaque article. Les informations concernant la publication éventuelle de l'article se trouvent dans un avant-propos en début de chaque article.

Le premier chapitre sert d'introduction générale et permet de décrire tous les concepts nécessaires à la compréhension des chapitres ultérieurs. Les caractéristiques de la forêt guyanaise, les bases en biomécanique de l'arbre ainsi que l'anatomie du bois y sont présentés.

Le chapitre 2 décrit l'ensemble du matériel végétal et des méthodes d'observation ou de mesures utilisés au cours de cette thèse.

Le chapitre 3 étudie la diversité anatomique des bois de tension des espèces tropicales et tempérées récoltées durant cette thèse ou lors d'études antérieures.

Un autre mécanisme de génération des contraintes de maturation est présenté dans le chapitre 4.

Le chapitre 5 compare les différentes anatomies et les deux mécanismes de génération des contraintes du point de vue de l'efficacité du redressement et du point de vue de leur stratégie de croissance et d'allocation de biomasse.

Le manuscrit se clôture sur une conclusion générale et des perspectives pour des études futures.

1.1. Avant-propos

Ce chapitre introduit les concepts nécessaires pour la compréhension des chapitres suivants.

La première partie de ce chapitre décrit le contexte de la forêt tropicale de Guyane française. Cette partie permet de décrire les facteurs biotiques et abiotiques qui influencent la biomécanique des arbres en forêt tropicale guyanaise, ainsi que de la diversité, entre-autres spécifique, qu'elle abrite.

Dans la deuxième partie de ce chapitre d'introduction, les principes de la biomécanique de l'arbre sont expliqués, en partant de notions globales de mécanique.

La troisième et dernière partie de ce chapitre décrit l'anatomie du bois. Un accent particulier est mis sur l'anatomie du bois de tension, avec l'article 1 de cette thèse.

1.2. Caractéristiques de la forêt guyanaise et importance de la biomécanique

L'Amazonie est un gigantesque massif forestier s'étalant sur 9 pays du nord de l'Amérique du Sud : Bolivie, Brésil, Colombie, Equateur, France (Guyane Française), Guyana, Pérou, Surinam et Venezuela. Le nombre d'espèces d'arbres en Amazonie est estimé à 16 000 (ter Steege *et al.* 2013).

1.2.1. Pédologie

La Guyane française fait partie du bouclier des Guyanes, qui couvre également le Guyana, le Surinam ainsi qu'une partie du Venezuela, du nord du Brésil et du sud-ouest de la Colombie. Le bouclier des Guyanes se distingue du reste de l'Amazonie par ses sols anciens et relativement érodés et pauvres, dérivés du Précambrien. En prenant la classification des sols de la FAO, plus de 65 % des sols du bouclier des Guyanes appartiennent aux Ferralsols et Acrisols (Hammond 2005). Ces sols ont une fertilité chimique pauvre et la majorité des racines des végétaux sont confinées dans l'horizon d'humus voire dans la litière (IUSS Working Group WRB 2014). Les arbres poussant sur ces sols ont donc une première contrainte biomécanique, qui est le faible ancrage de leur système racinaire. On peut donc imaginer qu'ils soient plus sujets au déchaussement. Le rôle des contreforts n'est pas encore bien compris, néanmoins une hypothèse est qu'il permet un plus large empâtement pour pallier au faible ancrage racinaire, en plus d'assurer une meilleure stabilité de la base du tronc par haubanage (Ennos 1995; Clair *et al.* 2003a).

1.2.2. Caractéristique des peuplements et richesse spécifique

La richesse spécifique (ou diversité α) du plateau des Guyanes est assez faible comparé à d'autres régions de l'Amazonie, cependant ses valeurs maximales se trouvent en Guyane française (ter Steege *et al.* 2006). La forêt couvre 95 % de la surface de la Guyane française et est en majorité représentée par de la forêt équatoriale de terre ferme. La hauteur moyenne de la canopée est de 30 m et la canopée peut localement atteindre 55 m de haut (Fayad *et al.* 2014). Les arbres sont relativement hauts par rapport à leur faible ancrage racinaire. La densité de la forêt est élevée : 620 tiges/ha et 30 m²/ha pour la forêt expérimentale de Paracou (Demenois *et al.* 2003) et entre 400 et 1000 tiges/ha recensées dans les parcelles d'inventaires botaniques IRD-AMAP (Molino *et al.* 2009) (seuls les individus de plus de 10 cm de diamètre à 1,30 m du sol sont comptabilisés). En Guyane, 1581 espèces d'arbres sont recensées officiellement (Molino *et al.* 2009), bien que de nouvelles espèces soient encore découvertes. En guise de comparaison, environ 66 espèces sont recensées en France métropolitaine (IFN 2004). Ces 1581 espèces sont réparties en 78 familles botaniques et 391 genres (Molino *et al.* 2009). Presque la moitié des familles botaniques (44 %) ne sont représentées que par 1 genre. Les familles botaniques contenant le plus grand nombre de genres sont de loin les Fabaceae (60 genres), suivies par les Rubiaceae (26 genres), les Euphorbiaceae (25 genres), les Malvaceae (17 genres) et les Annonaceae (16 genres). Presque la moitié des genres (49 %) ne sont représentés que par 1 espèce. Les genres contenant le plus d'espèces sont *Inga* (57 espèces), *Pouteria* (56 espèces), *Licania* (49 espèces), *Eugenia* (42 espèces), *Ocotea* (39 espèces). Les espèces sont très dispersées spatialement : moins de 1 % des espèces a une fréquence maximale supérieure à 15 tiges/ha, 3 % des espèces ont entre 5 et 15 tiges/ha, 24 % des espèces ont entre 1 et 5 tiges/ha et 72 % ont moins de 1 tige/ha. Par conséquent, entre 150 et 200 espèces/ha sont recensées dans la forêt expérimentale de Paracou (Cirad 2016).

1.2.3. Climat

La Guyane française a un climat tropical humide. La moyenne annuelle de pluviométrie est de 3041 mm à la station de Paracou, proche de Sinnamary, et la moyenne annuelle de température est de 26 °C (Cirad 2016). Une grande saison sèche est présente entre juillet et novembre, ainsi qu'une plus courte et moins marquée au mois de mars (Figure 1).

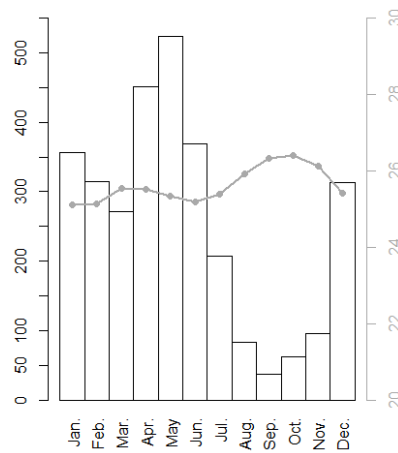


Figure 1. Diagramme ombrothermique pour la station de Paracou, Guyane française (Cirad 2016). Les précipitations mensuelles sont indiquées en mm (en noir) ainsi que la température moyenne mensuelle en °C (en gris).

1.2.4. Vents dominants

La vitesse moyenne annuelle du vent au-dessus de la canopée est de 2,3 m/s avec une moyenne mensuelle allant de 2,8 à 3,4 m/s¹. La direction moyenne annuelle du vent est Est-Sud-Est, avec une variation moyenne mensuelle entre l'Est-Nord-Est et le Sud-Est. La vitesse instantanée de vent maximale enregistrée entre 2003 et 2017 est de 8,1 m/s. Dans une forêt de Nancy en France métropolitaine pour laquelle la vitesse moyenne annuelle est similaire (2,9 m/s), une vitesse instantanée de vent de 13,4 m/s est considérée comme une « tempête intense et rare » et a un effet important sur la forme de l'arbre (Bonnesoeur *et al.* 2016). On peut supposer que des « tempêtes intenses et rares » ne sont pas présentes en Guyane. En outre, vu la densité du nombre de tiges/ha, on peut imaginer que le vent soit négligeable sous la canopée, et n'ait un effet que dans les ouvertures de canopée (chablis).

1.2.5. Dynamique de régénération et tempéraments des espèces

Dans les forêts les plus denses, seul 1 % de la lumière arrive en sous-bois. Le moteur de la régénération des forêts tropicales est le chablis, qui est la chute d'un (de plusieurs) arbre(s) créant une ouverture dans la forêt. Environ 1 % de la couverture forestière est atteinte par des chablis chaque année, permettant une ouverture du couvert et un accès à la lumière des arbres juvéniles en sous-bois. On distingue le chablis primaire, qui concerne l'arbre ou les arbres qui sont tombés lors de la chute du premier arbre, du chablis secondaire, qui concerne les arbres tombés suite à l'ouverture de la canopée. Les chablis secondaires concernent entre-autres les arbres qui mécaniquement ne supportent pas l'ouverture du couvert à cause de leur élancement, faible ancrage racinaire et/ou houppier asymétrique, etc.

¹ Données météorologiques de la tour Guyaflux de Paracou, proche de Sinnamary, prises à 55 m de hauteur entre 2004 et 2016.

Pour faire face à la compétition élevée, différents tempéraments sont observés chez les espèces. Ces tempéraments représentent « l'ensemble des réactions de croissance et de développement que présente un arbre au sein d'un environnement donné (lumière ...) pendant sa vie » (Oldeman & Van Dijk 1991). Chez les espèces guyanaises différents tempéraments sont mis en avant : les pionnières, les cicatricielles qui sont des pionnières à vie longue, les héliophiles et les sciaphiles à vie longue (Riera *et al.* 1990). En réalité les espèces forment un continuum allant de l'intolérance à l'ombre à la tolérance.

L'ouverture de la canopée via un chablis favorise le développement d'espèces héliophiles. Ainsi, des espèces héliophiles de début de succession forestière peuvent se trouver à côté d'espèces sciaphiles de fin de succession, dans la zone non touchée par le chablis. Les jeunes arbres sciaphiles poussent lentement sous la canopée, tandis que les espèces héliophiles se retrouvent préférentiellement dans les ouvertures de canopée. Afin de croître rapidement en hauteur, les espèces héliophiles sont généralement caractérisées par un bois de faible densité, comparé à celui des espèces sciaphiles (Lehnebach 2015).

Parmi les contraintes mécaniques de la régénération de sciaphiles, le vent est considéré comme négligeable en sous-bois, par contre le jeune arbre subit la chute des feuilles/branches venant de la canopée. Pour celles des héliophiles, une contrainte très locale du vent est probable dans les zones de chablis, où le vent peut localement tourbillonner. Outre les comportements mécaniques divergents attendus selon le degré d'héliophilie en terme de vitesse de croissance et peut être d'efficacité du redressement, un effet de l'ontogénie est aussi attendu. Une plantule nécessite une plus grande souplesse de sa tige afin d'éviter de se briser sous la charge d'une chute de branche ou du passage d'un animal alors qu'un arbre mature n'a plus ces contraintes mais doit s'assurer de pouvoir supporter le poids de son houppier.

La biomécanique est rarement prise en compte comme filtre à l'installation des espèces en forêt tropicale, pourtant elle joue probablement un rôle essentiel. Le maintien vertical des arbres est essentiel pour leur accès à la lumière et par conséquent leur survie.

1.2.6. Drainage du sol

Le drainage du sol est un gradient écologique important, et permet de distinguer les bas-fonds ayant des sols hydromorphes des plateaux bien drainés (Sabatier *et al.* 1997; Péliissier *et al.* 2002). Le long du gradient allant du plateau vers les bas-fonds le taux de chablis est doublé. La surface terrière est donc diminuée de 29 %, ce qui permet une ouverture de la canopée et l'installation d'espèces héliophiles à faible densité du bois. La densité de bois moyenne est ainsi diminuée de 10 %. L'ouverture de la canopée en bas-fond s'associe aussi une diminution du ratio diamètre-hauteur par rapport aux plateaux (Ferry *et al.* 2010). En termes de biomécanique de l'arbre, on pourrait s'attendre à un besoin de redressement plus fort dans les bas-fonds, dans lesquels les arbres sont plus sujets au déchaussement.

1.2.7. Modèles architecturaux

La diversité se traduit également par une diversité de modèles architecturaux des arbres (Hallé *et al.* 1978). Plus particulièrement, certains modèles d'architecture présentent au cours de l'ontogénie une courbure naturelle de la tige principale (modèles de Champagnat, Mangenot et Troll). D'un point de vue biomécanique, cela implique soit de laisser l'axe principal se courber naturellement sous le poids du houppier, soit de le maintenir incliné sans pour autant que l'axe ne s'effondre. Dans le modèle architectural Troll, on distingue deux sous-catégories. Dans la première, la partie distale de l'axe courbé se redresse sans cesse au cours de l'ontogénie. Cela induit une forte implication de la biomécanique dans la vie de l'arbre. Dans la seconde, des unités d'axes courbés sont empilées au cours de l'ontogénie. On peut supposer que la biomécanique peut avoir un rôle important pour ces modèles architecturaux à axes naturellement inclinés.

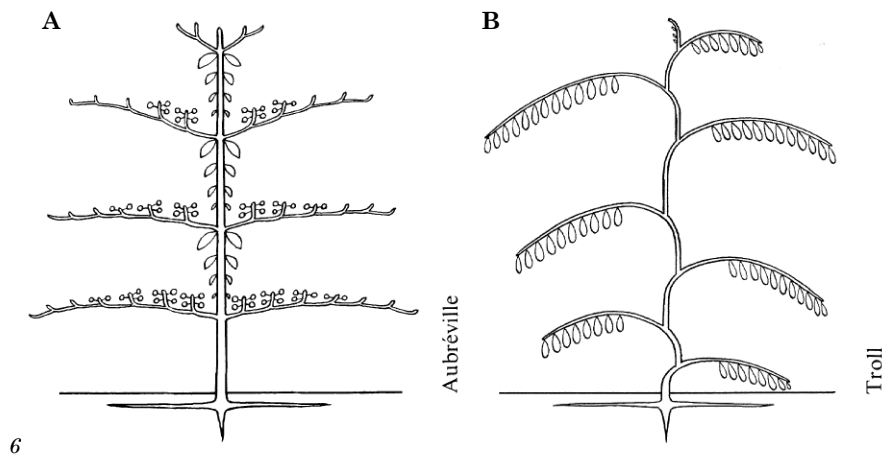


Figure 2. Représentation schématique d'un modèle architectural à axe principal droit (A, Modèle d'Aubréville) et d'un modèle architectural dont l'axe est naturellement incliné (B, Modèle de Troll). Illustrations provenant de Hallé *et al.* (1978).

1.2.8. Conclusion sur l'intérêt de la Guyane pour les études en biomécanique végétale

Les intérêts sont multiples pour étudier la forêt guyanaise. Le principal atout étant l'accessibilité à de nombreuses espèces localement, pour peu que l'on sache les identifier. Les arbres sont soumis à une très forte compétition pour la lumière et les capacités de maintien de la posture d'une tige en sont d'autant plus importantes.

1.3. Biomécanique de l'arbre

Les arbres sont soumis à de nombreuses contraintes, comme la charge de leur propre poids et des charges additionnelles sur leurs houppiers (lianes, épiphytes, animaux) ou encore le vent. La biomécanique permet d'approcher l'arbre d'un point de vue mixte de biologie et de mécanique pour comprendre à la fois comment l'arbre

arrive par sa croissance et sa microstructure à moduler à la fois son matériau bois et sa structure, ainsi que ses contraintes internes, pour lui permettre de vivre malgré les contraintes externes. En effet, l'arbre est capable d'atteindre des hauteurs impressionnantes de plus de 55 m malgré l'élancement de sa tige et ce, en vivant parfois plusieurs centaines d'années.

Un premier point décrit comment l'arbre peut adapter ses propriétés mécaniques. Dans un deuxième point, les contraintes générées au cours de la maturation cellulaire sont abordées, ainsi que leur intérêt pour le maintien de la posture de l'arbre.

1.3.1. Notions de mécanique : matériau bois dans la structure arbre

Un arbre peut modifier ses propriétés mécaniques en modulant d'une part sa structure et d'autre part son matériau. En effet les propriétés mécaniques d'un arbre, par exemple sa rigidité, sont le résultat de la combinaison d'un effet structure et d'un effet matériau. Avant de détailler ces deux effets pour l'arbre, un premier point rappelle quelques notions générales sur les propriétés mécaniques.

1.3.1.1. Propriétés mécaniques : contrainte, déformation et module élastique

Une contrainte est notée σ et est définie comme étant une force par unité de surface (N/m^2) exprimé en Pascal ($1 \text{ N/m}^2 = 1 \text{ Pa}$). Lorsqu'on applique une charge sur une éprouvette, à force égale, la contrainte est d'autant plus grande que la surface est petite. Par convention, une contrainte négative est une compression et une contrainte positive indique une tension.

Selon la loi de Hooke, une contrainte appliquée sur une éprouvette induit une déformation qui dépend de son module de Young (1).

$$\sigma = \varepsilon E \tag{1}$$

Une déformation, notée ε , est mesurée comme une variation de longueur par unité de longueur ($\mu\text{m/m}$ ou microdéformation, μdef). Une déformation positive indique une extension alors qu'une déformation négative indique une contraction.

Le module de Young appelé aussi module élastique et noté E représente la rigidité d'un matériau. Il est d'autant plus élevé que le matériau est rigide. L'acier est plus rigide que le bois : son module élastique est de 210 GPa et en comparaison à environ 14 GPa pour les bois tropicaux (Gérard *et al.* 2016).

Pour une contrainte donnée, l'équation (1) montre qu'un matériau plus rigide se déforme moins qu'un matériau moins rigide. Par exemple, pour une même force, une poutre en acier se déformera moins qu'une poutre en bois de même dimension.

Lors d'une sollicitation mécanique (essai de flexion, traction ou compression), la déformation est réversible tant que la limite du domaine élastique du matériau n'est pas dépassée. Lors du relâchement de la contrainte, l'éprouvette étudiée revient à son état initial (déformation nulle). Si la contrainte dépasse la contrainte seuil du domaine élastique et entre dans le domaine plastique, l'éprouvette s'endommage et ne revient pas à son état initial lors du relâchement de la contrainte. Elle garde une déformation permanente même après relâchement de la contrainte (Figure 3). De ce fait, le lien entre le module élastique, la contrainte et la déformation de l'équation (1) n'est valable que dans le domaine élastique.

Si la contrainte est prolongée, l'éprouvette se déforme jusqu'à la rupture.

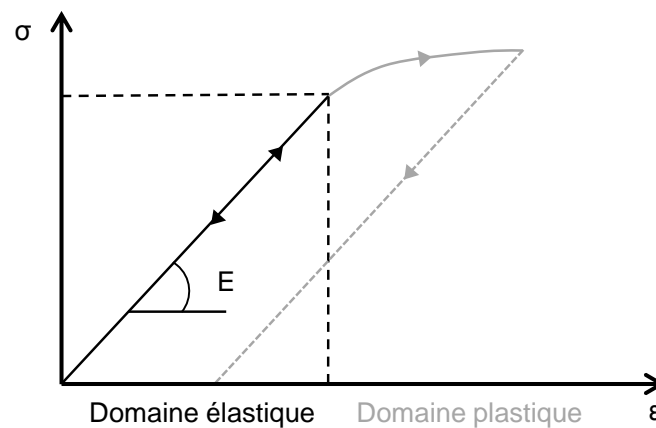


Figure 3. Evolution de la contrainte (σ) en fonction de la déformation (ϵ). Dans le domaine élastique (en noir), le relâchement de la contrainte permet de revenir à une déformation nulle. Dans le domaine plastique (en gris), l'éprouvette étudiée est endommagée et ne revient pas à une déformation nulle lors du relâchement de la contrainte (trait pointillé). Le module élastique (E) est calculé avec la pente de la droite dans le domaine élastique.

1.3.1.2. Effet matériau : propriétés du matériau bois

L'effet matériau sur les propriétés mécanique est intuitif au travers de l'exemple d'une poutre en bois comparé à une poutre de même dimension en acier. Le comportement mécanique du bois ne sera pas le même que celui de l'acier en terme de rigidité et donc de déformation pour une contrainte donnée, sur des éprouvettes de dimensions similaires.

1.3.1.2.1.1. Anisotropie

Le bois est un matériau cellulaire. Les cellules de bois² ont des dimensions et des propriétés qui varient selon le plan étudié. Le matériau bois est par conséquent anisotrope. Le plan ligneux se décompose en un plan radial, un plan tangentiel et un plan transversal (Figure 4). Une fibre allongée dans l'axe longitudinal de l'arbre n'aura pas les mêmes propriétés si elle est testée dans l'axe de l'arbre (longitudinal) ou dans un des axes perpendiculaires (tangentiel ou radial). C'est pourquoi une propriété comme le module élastique du bois en longitudinal est en moyenne 17 fois

² Détaillées au point 1.4.2.1.

plus élevée que celui en tangentiel et 10 fois celui en radial³. Le module élastique du bois en tangentiel est 1,8 fois plus élevée que celui en radial.

Autre conséquence de la structure cellulaire orientée du bois, il a une résistance en traction plus élevée qu'en compression⁴.

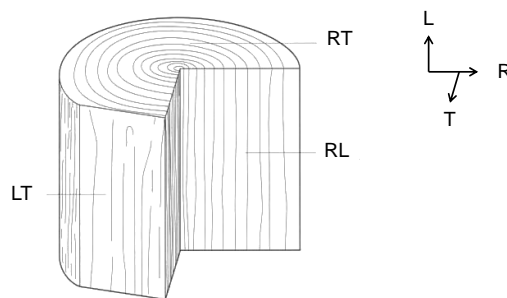


Figure 4. Plan ligneux du bois : plan transversal (RT), plan radial (RL) et plan tangentiel (LT). Adapté de Passas (2008).

1.3.1.2.1.2. Infradensité

Le bois est composé de matière ligneuse, d'eau et d'air. La masse volumique de la matière ligneuse dépend de la composition chimique des parois et est assez stable à environ $1,53 \text{ g.cm}^{-3}$, quelle que soit l'espèce considérée. Un bois qui vient d'être récolté (état vert) contient à la fois de l'eau libre dans les lumens et de l'eau liée aux parois. Afin d'avoir une masse anhydre, il convient de faire sécher le bois à $103 \text{ }^{\circ}\text{C}$. A cette température ne subsistent que l'air et la masse ligneuse.

L'infradensité du bois représente la quantité de matière ligneuse (masse anhydre à $103 \text{ }^{\circ}\text{C}$) par unité de volume à l'état vert, divisé par la masse volumique de l'eau à $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ (Williamson & Wiemann 2010). En fonction de la proportion entre la matière ligneuse et l'air dans le bois, l'infradensité atteint une valeur maximale théorique de 1,53. L'infradensité intervient au premier ordre dans les propriétés mécaniques du matériau bois, vu qu'elle représente la quantité de matière ligneuse par unité de volume. L'infradensité du bois dépend surtout de l'espèce et des conditions de croissance. Le bois de *Bocoa prouacensis* est plus rigide que celui de *Virola* sp. (Figure 5⁵) car sa densité est plus élevée.

³ Selon les données du tableau 5-1 de Kretschmann (2010) sur 15 espèces de feuillus et 19 espèces de résineux.

⁴ Le module d'élasticité en traction du bois est d'environ 7500 MPa (Clair *et al.* 2003b) sur du châtaignier, comparé à environ 45 MPa en compression (Kretschmann 2010) sur diverses espèces.

⁵ En technologie du bois, la densité du bois est habituellement mesurée pour une humidité donnée (habituellement 8 %, 12 % ou 15 %), auquel cas le pourcentage d'humidité de l'air lors de la mesure est indiqué (Williamson & Wiemann 2010). Cette mesure à 12 % d'humidité intègre de l'eau en plus de la matière ligneuse et de l'air et a donc moins de signification biomécanique que l'infradensité.

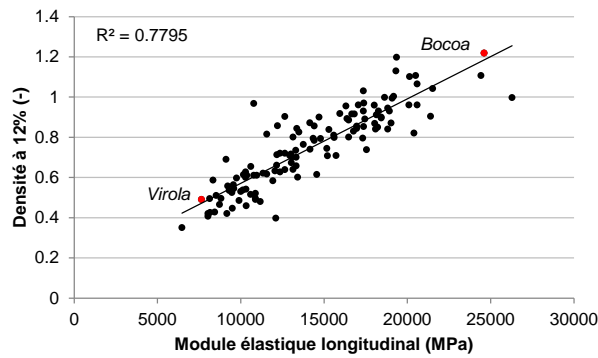


Figure 5. Influence de la densité sur le module élastique longitudinal pour 125 espèces guyanaises (Gérard *et al.* 2016). Les mesures sont réalisées à 12 % d'humidité. Les points rouges indiquent la position de *Virola* sp. et *Bocoea prouacensis*.

1.3.1.2.1.3. Angle des microfibrilles de cellulose⁶

L'angle des microfibrilles de cellulose (AMF) intervient également sur les propriétés mécaniques des bois.

Afin d'observer cet effet, le module élastique est divisé par la densité afin d'avoir un module spécifique indépendant de la densité et propre à la paroi. Les microfibrilles de cellulose sont des macromolécules de rigidité élevée, leur contribution aux propriétés du bois dépend donc de leur orientation. Leur contribution au module spécifique longitudinal du bois est d'autant plus forte que les microfibrilles sont orientées parallèlement à l'axe des fibres, à densité égale. Cela correspond à un AMF proche de 0 ° (Figure 6).

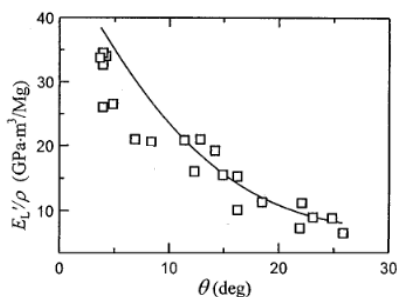


Figure 6. Relation entre le module spécifique (E_L'/ρ) et l'angle des microfibrilles de cellulose (θ) pour du bois de *Chamaecyparis obtusa*. Modifié d'après Norimoto *et al.* (1986) dans Obataya *et al.* (2000).

1.3.1.2.1.4. Angle du fil

L'angle du fil (ou grain) intervient également sur les propriétés mécaniques des bois. L'angle du fil est l'angle entre la verticale et l'orientation des fibres de bois. Cet angle affecte l'orientation des microfibrilles de cellulose dans le bois, sans pour autant changer l'AMF (Figure 7) et affecter les propriétés mécaniques (Figure 8).

⁶ Voir point 1.4.2.2.

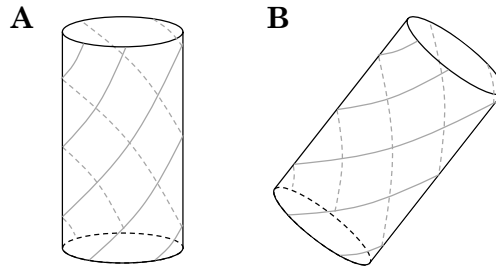


Figure 7. Illustration schématique d'une même fibre d'un bois d'angle de fil nul (A) et d'angle de fil non nul (B). Les microfibrilles de cellulose sont représentées les courbes grises.

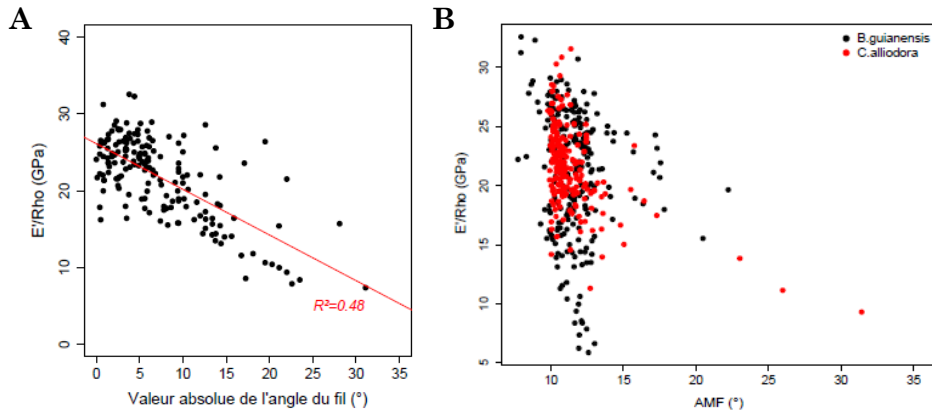


Figure 8. Effet de l'angle du fil sur le module spécifique (E'/ρ) de *Bagassa guianensis* (A), espèce pour laquelle l'angle des microfibrilles de cellulose (AMF) est stable et a peu d'effet sur le module spécifique (B, points noirs). Les graphes sont issus de Bossu (2015).

De nombreuses espèces tropicales mettent en place du contrefil (Kribs 1950 in Hernandez & Almeida 2003), soit un enchainement radial de bois d'angle de fil alternant entre des valeurs positives et négatives. L'intérêt du contrefil n'est pas encore compris, bien qu'on puisse supposer une amélioration résistance à la torsion du tronc et une diminution de la propagation des fentes radiales (Bossu 2015).

1.3.1.3. Effet structure

1.3.1.3.1. Géométrie de la section

La géométrie d'une éprouvette affecte sa rigidité. Par exemple, pour un même matériau et à quantité égale de matériau, une structure en tube ou une poutre en I résistent mieux à la flexion qu'une tige ou une poutre pleine. Pour comprendre cela, il convient d'introduire le moment quadratique ou moment d'inertie (I), qui est une propriété géométrique de la section. Par exemple, l'équation (2) indique le calcul de l'inertie en flexion d'une section circulaire :

$$I = \frac{\pi D^4}{64} \quad (2)$$

La rigidité d'une éprouvette est le produit de la rigidité de son matériau (E) et de la rigidité conférée par la forme les dimensions de sa structure (I). Ainsi, un moment d'inertie élevé permet une meilleure résistance à la flexion. Or le moment d'inertie,

qui s'exprime en m^4 , est proportionnel au diamètre en puissance 4. Par conséquent, le moment d'inertie d'une section sera d'autant plus élevé que le matériau est éloigné du centre de la section (Figure 9). Dans l'exemple du tube creux ou de la poutre en I, le moment d'inertie a été optimisé en plaçant le matériau le plus loin possible du centre de la section et ainsi optimiser la résistance de la structure.

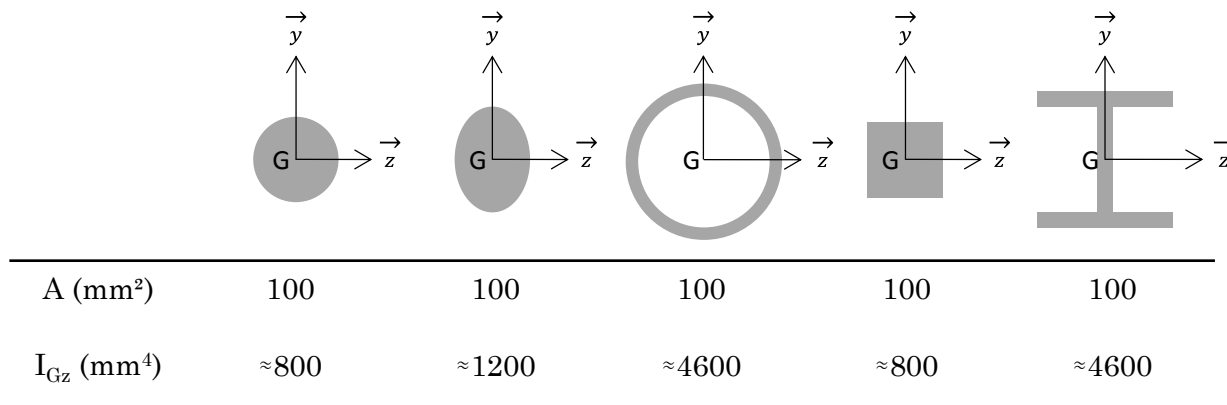


Figure 9. Moment quadratique selon l'axe Gz (I_{Gz}) pour des sections d'aire similaires (A) et de géométries différentes : tube plein de section circulaire, tube plein de section elliptique, tube creux, poutre pleine et poutre en I.

Dans le cas d'un arbre, la section du tronc est majoritairement circulaire. Afin d'améliorer la rigidité de la tige, l'arbre est capable d'ovaliser sa section, en produisant du bois de façon asymétrique. Il en résulte généralement un excentrement de la moelle (Figure 10A).

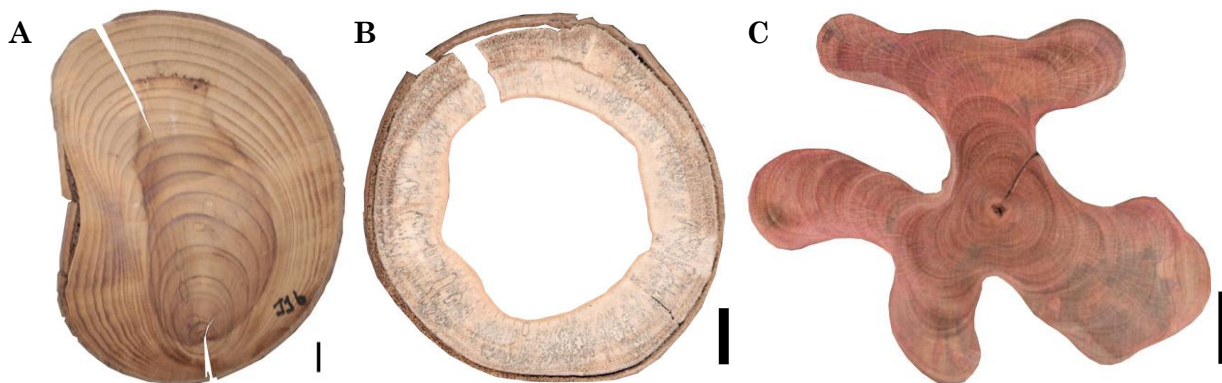


Figure 10. Illustration de différentes géométries de troncs d'arbres. Section elliptique avec excentrement de la moelle chez *Cordia alliodora* (A), section en tube creux pour *Cecropia sciadophylla* (B) et section d'*Aspidosperma* sp. (C). Barre d'échelle = 2 cm.

La section du tronc diffère d'un cercle ou d'une ellipse chez quelques espèces. Les troncs de *Cecropia* sont des tubes creux ce qui fait qu'à surface de bois donnée, leur section est plus résistante que celle d'un tronc plein. Les troncs du bois pagaie (*Aspidosperma* sp.) ou encore la base de troncs ayant des contreforts s'apparentent plus ou moins à des poutres en I, avec un éloignement du matériau du centre.

Le rôle mécanique de l'écorce a souvent été considéré comme étant négligeable, pourtant l'écorce constitue une proportion importante de la tige chez des jeunes arbres. Sa moindre rigidité par rapport au bois peut en effet être compensée par sa

position dans la tige qui lui vaut d'avoir une contribution plus importante au moment d'inertie de la tige (Niklas 1999).

1.3.1.3.2. Hauteur limite

Comme expliqué précédemment, pour un même matériau et une quantité égale de matériau, la rigidité en flexion est améliorée en éloignant la matière du centre de la section. Pour des sections d'aires identiques, la géométrie est dès lors modifiée. Par ailleurs, l'augmentation de la rigidité de la section s'obtient également par une augmentation de l'aire de la section, au détriment de la hauteur, toujours pour un même matériau et une quantité égale de matériau (Figure 11).

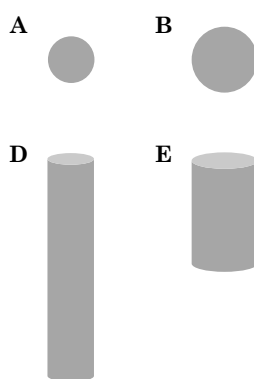


Figure 11. Tubes pleins composés du même matériau et en quantité égale, avec soit une hauteur supérieure (A,D), soit une section d'aire supérieure (B,E).

Afin d'accéder à la lumière, un arbre doit s'assurer d'une croissance en hauteur. Il doit dès lors faire face au compromis hauteur-diamètre afin d'une part d'avoir une hauteur suffisante pour ses besoins physiologiques en lumière et d'autre part de garder un diamètre suffisant pour sa stabilité mécanique. Dans certains cas, l'arbre peut négliger sa stabilité mécanique au profit de la croissance en hauteur afin de d'assurer ses besoins physiologiques en lumière. Le ratio hauteur-diamètre est alors tel que l'arbre n'est pas capable de supporter son poids-propre et maintient sa posture verticale en s'appuyant sur les arbres voisins (Jaouen *et al.* 2007).

1.3.1.4. Effets combinés et compromis

Si une augmentation de densité permet d'augmenter la rigidité du bois, cette augmentation représente un coût. A biomasse égale, un bois de faible densité permet d'augmenter le diamètre par rapport à un bois dense afin d'avoir une même rigidité de son tronc, à un coût de construction plus faible (Larjavaara & Muller-Landau 2010). Par ailleurs, Larjavaara & Muller-Landau (2010) démontrent que les coûts de maintenance sont plus élevés pour les espèces à bois peu denses, vu l'augmentation de la surface de la section du tronc. Ainsi, des pionnières à vie courtes de faible densité préfèrent des coûts de construction faibles vu leur faible durée de vie. Au contraire, des sciaphiles à vie longue et de bois dense ont des coûts de construction élevés (croissance plus lente) pour atteindre une même rigidité du tronc, mais auront moins de coûts de maintenance sur le long terme.

Un arbre fait de bois moins dense a une meilleure résistance au vent (à biomasse donnée et toutes choses égales par ailleurs en terme de propriétés aérodynamiques), bien que son risque d'affaissement dû au poids propre augmente (Fournier *et al.* 2013). Lehnebach (2015) formule l'hypothèse est que cette augmentation de risque d'affaissement pourrait être diminuée grâce à une plus grande variation du profil radial d'infradensité, et donc de module, des espèces héliophiles (Figure 12).

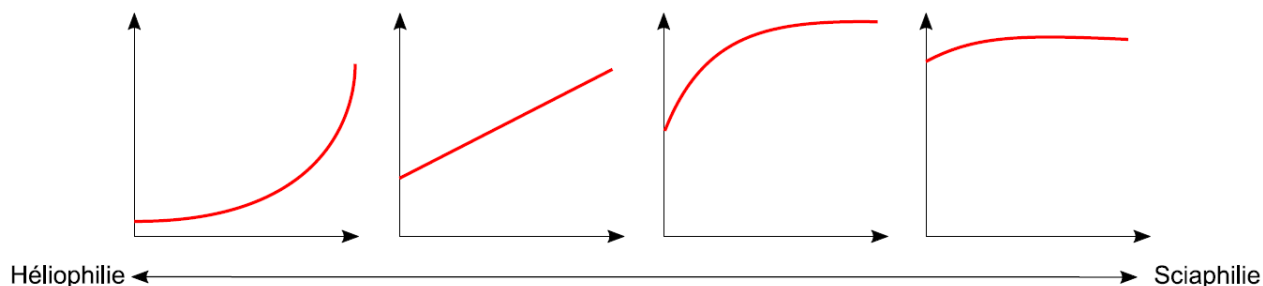


Figure 12. Evolution du type de profil radial d'infradensité en fonction du degré d'héliophilie (Lehnebach 2015). L'axe des abscisses représente l'infradensité et l'axe des ordonnées représente la localisation dans le rayon, de la moelle vers l'écorce.

1.3.2. Contraintes de maturation

1.3.2.1. Précontraintes de tension dans le bois normal

Malgré sa position apparente statique, l'arbre subit de légers mouvements. Le vent ou même la pluie créent de légers mouvements de balancement qui se répercutent dans le tronc. Avec ces balancements, un côté du tronc est comprimé et l'autre côté est tendu. Si le matériau bois résiste bien en tension, il est en revanche plus faible en compression. Les précontraintes de tension mises en place dans le bois de la périphérie limitent la valeur maximale de la compression en cas de sollicitation, ce qui rend a priori l'arbre plus résistant.

Lors de la maturation cellulaire, une cellule de bois isolée tend à se raccourcir longitudinalement et s'allonger en tangentiel (Archer 1986; Fournier *et al.* 1991). Or les cellules de bois sont accrochées aux cellules de bois précédentes qui empêchent ce raccourcissement longitudinal. Ainsi, les cellules de bois entrent en tension longitudinale lors de la maturation cellulaire. Chaque nouvelle couche de bois produite entre en tension lors de la maturation cellulaire et lors de sa mise en tension comprime la couche de bois précédente (Archer & Byrnes 1974). Au fur et à mesure de la croissance en diamètre de l'arbre une couche de bois originellement en tension entre en compression. Il en résulte une périphérie tendue avec un cœur en compression. De cette manière la périphérie reste en tension malgré les balancements du houppier, au lieu de mener à une compression de la périphérie et un risque de rupture du tronc (Figure 13.A).

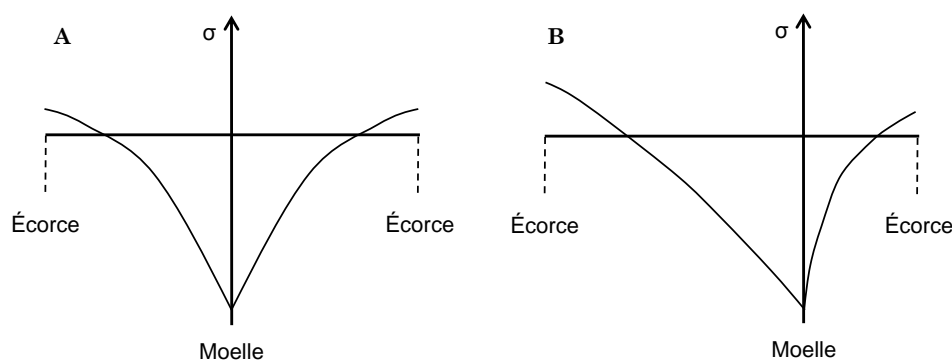


Figure 13. Représentation schématique des contraintes de croissance (σ) en fonction de la position radiale dans le tronc pour un arbre droit (A) et un arbre incliné produisant du bois de tension accompagné d'une excentricité (B).

1.3.2.2. Bois de tension

1.3.2.2.1. Nécessité d'un système moteur pour l'arbre

Les arbres sont rarement symétriques et avec la gravité et l'augmentation de la masse, une légère asymétrie peut induire un affaissement naturel de l'arbre, si ce dernier n'avait pas un système moteur en plus de son système squelettique (Almérás & Fournier 2009; Moulia & Fournier 2009). Chez l'arbre, ces deux fonctions sont remplies par un même tissu, le bois. La résistance et la rigidité du tronc font en effet office de squelette. D'autre part le système moteur du bois va permettre de maintenir la position de l'arbre, voire de se redresser en cas d'inclinaison accidentelle (Fournier *et al.* 2013) par exemple en cas de glissement de terrain, de chablis ou encore de piétinement par un animal pour une plantule. Ce moteur est un tissu appelé bois de réaction, qui regroupe le bois de tension chez les angiospermes et le bois de compression chez les gymnospermes. Le bois de tension est produit sur la face supérieure d'un axe incliné et génère de fortes contraintes de tension longitudinales lors de la maturation cellulaire tandis que le bois de compression est produit sur la face inférieure d'un axe incliné et génère des contraintes de compression longitudinales. Ces tissus s'accompagnent généralement d'une excentricité de la section. De cette manière, le bois de tension a l'effet d'un hauban sur l'arbre. Ces contraintes de maturation se mesurent en isolant le bois du tronc afin qu'il puisse se déformer librement. En fonction du module élastique du bois, la déformation du bois donne une indication sur son état de contrainte *in vivo* dans l'arbre. L'amplitude du relâchement des contraintes est de l'ordre de -3000μ déformations à $+2000 \mu$ déformations pour respectivement du bois de tension et du bois de compression, ce qui correspond à des contraintes élevées, de l'ordre de $+50$ MPa et -20 MPa respectivement (Almérás & Clair 2016). L'asymétrie de contraintes de maturation dans la périphérie de l'arbre permet le maintien de sa position, voire son redressement (Figure 13.B). Dans la suite du document, seul le bois de tension est abordé.

Les contraintes de maturation longitudinales s'accompagnent de contraintes tangentielles en compression (Clair *et al.* 2013). Ces dernières n'ont pas de rôle moteur pour l'arbre mais un rôle de cohésion transverse.

1.3.2.2.2. Mécanisme hypothétique de génération des contraintes

Chez le peuplier, l'espèce modèle pour les études sur l'origine de contraintes de maturation, le bois de tension a une anatomie contrastée par rapport au bois normal⁷. En effet, une couche appelée couche gélatineuse ou couche G remplace la S₃ une partie ou l'entièreté de la S₂. Sur des coupes microscopiques, la couche G apparaît détachée de la couche S₂ et son aspect détaché, gonflé et gélatineux lui a valu son nom. Le niveau des contraintes de tension augmente avec la proportion de la couche G (Fang *et al.* 2008a), ce qui indique que la couche G est impliquée dans le mécanisme de génération des contraintes.

Cette couche G est composée principalement de cellulose dont le taux de cristallinité est plus élevé que le bois normal. L'angle des microfibrilles de cellulose est très faible voire nul. Les microfibrilles de cellulose sont agencées en réseau et baignent dans une matrice de polysaccharide et de protéines (voir point 1.4.3.2.2 pour les références sur la composition de la couche G). La matrice contient des pores de diamètre entre 2 et 50 µm, dits mésopores, qui sont remplis d'eau à l'état vert (Clair *et al.* 2008). La couche G est assimilable à un gel, mêlant des phases solides et fluides. La taille des pores du bois de tension est supérieure à ceux du bois normal et la taille des pores de la couche G augmentent au cours de la maturation cellulaire (Chang *et al.* 2015). De manière synchrone, la distance entre les monomères le long des chaînes de cellulose augmente lors de la maturation cellulaire, ce qui indique que les microfibrilles de cellulose sont mises en tension lors de la maturation cellulaire (Clair *et al.* 2011).

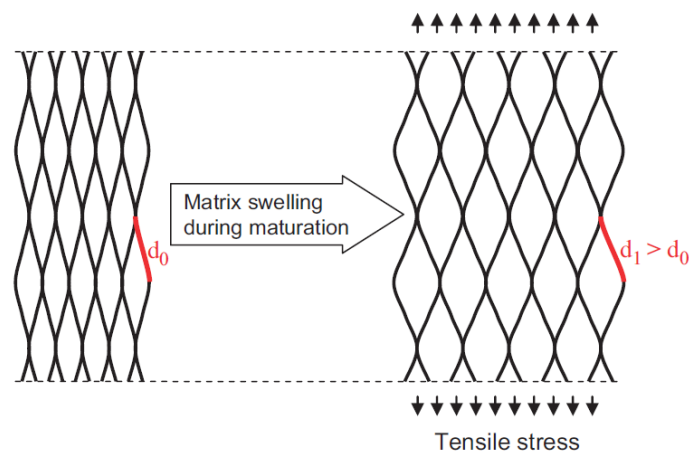


Figure 14. Modèle de génération de la contrainte de tension au travers de la pression de gonflement de la matrice gélatineuse à l'intérieur du réseau de microfibrilles de cellulose (Chang *et al.* 2015).

Dans le cas des bois de tension à couche G, plusieurs hypothèses ont été émises quant au mécanisme de génération des contraintes de maturation du bois de tension et une revue critique écarte plusieurs hypothèses selon leur cohérence avec la structure du bois de tension, d'un point de vue mécanique ainsi qu'avec les contraintes trouvée *in situ* (Alméras & Clair 2016). Selon cette étude, l'hypothèse la plus plausible est celle d'un gonflement de la matrice dans un réseau connecté de

⁷ L'anatomie du bois de tension d'autres espèces sera détaillée au point 1.4.3.

microfibrilles de cellulose (Chang et al. 2015; Figure 14). Lors de la maturation cellulaire, la matrice gonfle et son interaction avec le réseau de microfibrilles de cellulose crée une contrainte longitudinale de tension ainsi qu'une contrainte de compression tangentielle. Ce mécanisme pourrait être combiné à d'autres mécanisme comme la contraction de cellulose amorphe, des liaisons actives entre microfibrilles ainsi que du piégeage de la matrice lors de l'agrégation des microfibrilles de cellulose (Alméras & Clair 2016).

Bien que la couche G soit fortement étudiée, seulement 40% des espèces semblent en avoir dans leur bois de tension (Onaka 1949; Clair *et al.* 2006). Ceci fait l'objet du point 1.4.3. L'anatomie des bois de tension dits « sans couche G » (Onaka 1949) doit dans un premier temps être éclaircie avant de pouvoir proposer un mécanisme de génération de la tension pour ces espèces.

1.3.2.2.3. *Efficiencce du redressement*

Afin de comparer l'efficiencce du redressement chez différents individus ou différentes espèces, plusieurs méthodes ont été développées. Sur des arbres de diamètres supérieurs à 5 – 10 cm, la méthode de relâchement des contraintes est utilisée. Une jauge de déformation (ou autre capteur de déformation) est collée à la surface du tronc et deux traits de scie de part et d'autre de la jauge libèrent localement les contraintes. Néanmoins, cette mesure n'est pas adaptée aux jeunes arbres, pour lesquels le trait de scie risque de libérer une partie de la contrainte de compression à cœur. Une méthode non destructive est mise en place pour estimer les contraintes de maturation du bois de tension chez les jeunes arbres. Des jeunes arbres sont inclinés et la courbure de leur tige sous l'effet d'un redressement libre est enregistrée au cours du temps (Coutand *et al.* 2007). Un modèle mécanique permet de lier la variation de la courbure par incrément de diamètre selon la différence de déformation de maturation entre le bois normal et le bois de tension (Alméras & Fournier 2009) ; l'efficiencce du redressement (e_r) est déduit de la variation de courbure dans l'équations (3) et permet de calculer la différence de déformation de maturation entre le bois normal et le bois de tension ($\Delta\alpha$) au moyen de l'équation (4).

$$\frac{dC}{dD} = -4 \frac{e_r}{D^2} \quad (3)$$

$$e_r = f \frac{E_{ring}}{E_{core}} \Delta\alpha \quad (4)$$

Avec dC/dD la variation de courbure par incrément de croissance, D le diamètre de la section en mm, f le facteur de forme de la section qui dépend de la distribution du bois de tension sur le nouveau cerne et de l'excentricité de la section (Alméras *et al.* 2009) et E_{ring}/E_{core} le ratio entre le module moyen du nouveau cerne et le module du bois avant inclinaison. La variation de courbure par incrément de diamètre sera d'autant plus grande que diamètre de l'arbre est faible et que l'efficiencce de redressement est élevée. L'efficiencce de redressement augmente lorsque le facteur de forme, le ratio de modules et la différence de contraintes de maturation sont élevés.

Le paramètre e_r permet de comparer les espèces en supprimant les effets dimensionnels de premier ordre, à savoir le diamètre et la croissance.

Par ailleurs, la variation de courbure est mesurée en fonction d'un incrément de diamètre. Une variation de courbure par investissement de biomasse ou par unité de temps auraient été intéressants pour comparer les différentes stratégies de redressement des espèces. Cependant dans cette thèse, un objectif principal porte sur l'effet de différentes anatomies de bois de tension sur la génération des contraintes de maturation, et donc sur la comparaison du paramètre de contrainte de maturation du bois de tension. Un nouveau modèle basé sur la variation de courbure par incrément de diamètre est développé au chapitre 2 et permet de calculer les contraintes de maturation du bois de tension sur des jeunes arbres inclinés tuteurés. Le tuteurage permet de s'affranchir des modifications de poids propre durant le redressement (Alméras *et al.* 2009) et de l'effet la courbure inverse de la partie distale de la tige qui permet de continuer à redresser les parties basales de la tige sans que la partie distale ne dépasse son point d'équilibre (Coutand *et al.* 2007), ainsi que de diminuer considérablement le nombre de mesures.

1.4. Anatomie de l'écorce et du bois

1.4.1. Éléments d'anatomie d'écorce

Le tronc d'un arbre est composé de deux compartiments : le bois et l'écorce. Deux assises génératrices de cellules produisent les cellules du tronc : le cambium produit vers l'intérieur des cellules de xylème (bois) et vers l'extérieur des cellules de phloème, un tissu de l'écorce, et le phellogène produit du phelloderme vers l'intérieur de l'écorce et du liège vers l'extérieur de l'écorce (Figure 15).

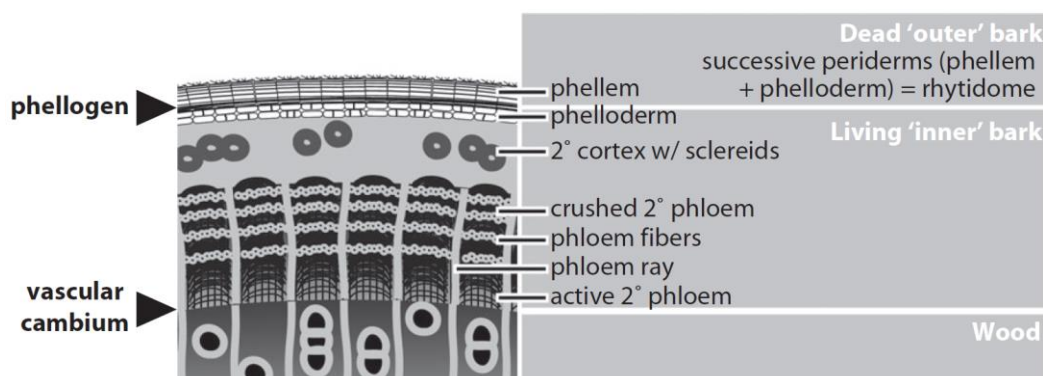


Figure 15. Représentation schématique de l'écorce et d'une portion de bois (Rosell 2016).

L'écorce contient une partie externe morte qui remplit essentiellement une fonction de protection. Elle contient le liège et le phellogène. Chez certaines espèces, des phellogènes successifs peuvent se former et la partie externe morte de l'écorce est alors composée de l'ensemble des phellogènes, lièges et phelloderme. L'écorce vi-

vante interne contient le phloème qui est le tissu conducteur de la sève élaborée, ainsi que le cortex, généré par le phellogène.

1.4.2. Ultrastructure du bois et maturation cellulaire

1.4.2.1. Les différents types cellulaires du bois

Le bois est un matériau complexe et structuré qui remplit les fonctions vitales de l'arbre : soutien mécanique, conduction hydraulique et réserve.

Chez les angiospermes, ces fonctions sont remplies par des types cellulaires distincts. Tout d'abord, les fibres sont de longues cellules effilées avec des parois épaisses; elles remplissent la fonction de soutien mécanique. Ensuite, les vaisseaux sont composés de cellules nommées éléments de vaisseaux et forment les conduits du bois : ils conduisent la sève brute montante. Enfin, les parenchymes sont des cellules rectangulaires qui servent de réserve. Ces cellules sont produites par le cambium, composé de cellules indifférenciées. L'agencement de ces différents types cellulaires est propre à chaque espèce, cependant des variations entre-autres de morphologie de cellule ou de répartition de différents tissus peuvent résulter d'une adaptation de la performance hydraulique ou mécanique d'un individu face aux conditions environnementales et aux contraintes associées (Lachenbruch & McCulloh 2014).

1.4.2.2. Composition de la paroi cellulaire

La matière ligneuse est composée de trois grands types de macromolécules : la cellulose, les hémicelluloses et la lignine. La cellulose se trouve en grande partie sous forme cristalline ce qui explique sa rigidité élevée. Les microfibrilles de cellulose s'agencent en réseau et ont un angle d'inclinaison variable par rapport à l'axe de la fibre. Cet angle appelé angle des microfibrilles de cellulose (AMF) a une influence sur les propriétés mécaniques de la matière ligneuse (voir 1.3.1.2.1.3). Ces microfibrilles de cellulose sont incluses dans une matrice composée d'hémicelluloses hydrophiles et de lignines hydrophobes. Les lignines sont des molécules polyphénoliques d'un poids moléculaire élevé, qui rigidifient la paroi cellulaire.

Les fibres sont séparées les unes des autres par une lamelle mitoyenne. La paroi des fibres est composée d'une paroi primaire et d'une paroi secondaire. La paroi secondaire des fibres est responsable du soutien mécanique de l'arbre de par sa prépondérance en épaisseur. Elle est composée de trois couches différenciables par l'orientation des microfibrilles de cellulose par rapport à l'axe principal de la cellule: S_1 , S_2 et S_3 . Les couches S_1 et S_3 ont des microfibrilles de cellulose presque perpendiculaires à l'axe de la cellule et sont d'épaisseurs fines (0,1 à 0,35 μm et 0,5 à 1,1 μm respectivement). La couche S_2 , se distingue elle par un angle de microfibrilles de cellulose plus faible, de l'ordre de 30 ° et une épaisseur bien plus importante, variant de 1 à 10 μm . De par son épaisseur, la couche S_2 a le plus d'influence sur les propriétés mécaniques de la matière ligneuse.

1.4.2.3. La maturation cellulaire

L'assise génératrice de cellules du bois est le cambium. Il produit à la fois des cellules de bois vers l'intérieur et des cellules de phloème vers l'extérieur, avec une proportion plus importante de cellules de bois produites. Du côté du bois, les cellules filles du cambium vont d'abord se différencier en un des types cellulaires : les initiales fusiformes en vaisseaux, fibre ou en parenchyme axial et les initiales de rayon en parenchyme de rayon. Après la phase de différenciation vient la phase de maturation de la cellule ; la paroi de la cellule va s'épaissir et se lignifier afin que la cellule atteigne ses dimensions adultes. Ces deux phases sont connues comme étant la maturation cellulaire.

Il est important de noter qu'observer la maturation cellulaire sur un individu à un temps donné revient à étudier une variation spatiale de différentes cellules capturées à différents degrés de maturation. Le proxy est souvent fait de considérer cette variation spatiale comme étant une variation temporelle, qui reflète le processus de maturation qu'aurait suivi une cellule en particulier.

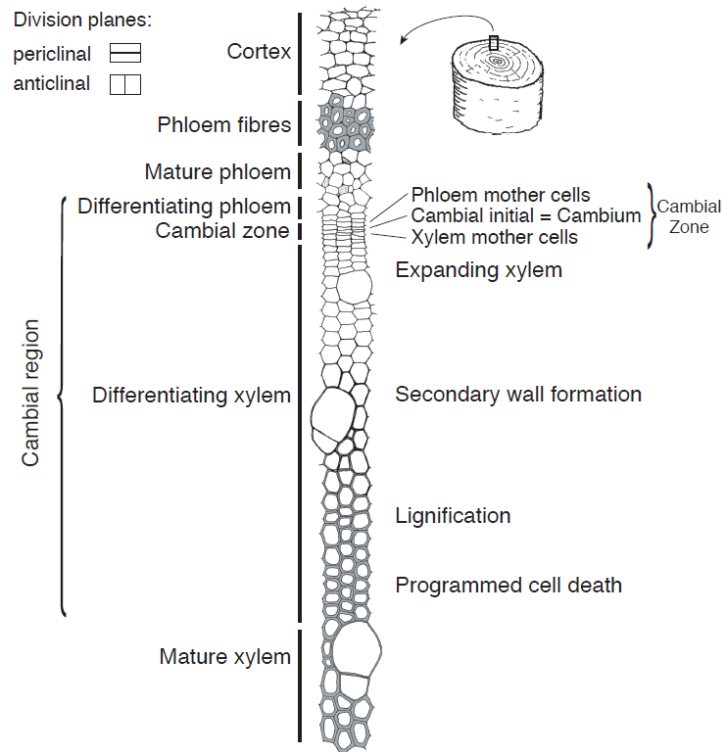


Figure 16. Organisation de la zone cambiale des feuillus et terminologie des tissus de formation du bois et de l'écorce interne (Schrader 2003).

1.4.2.4. Cernes de croissance

En milieu tempéré les arbres ralentissent jusqu'à arrêter leur croissance durant l'hiver. Le cambium est dit « dormant » et les cellules voisines sont des cellules arrivées à maturation. La dormance est levée au printemps où la croissance de l'arbre s'accélère. Des changements anatomiques sont souvent associés à ces phases de ralentissement et d'accélération de croissance, comme un changement de taille de vaisseaux ou une différence d'épaisseur de la paroi des fibres. Ces changements mi-

croscopiques sont souvent visibles à l'œil nu sur une rondelle de bois : ce sont les cernes annuels. En milieu tropical, les phases de ralentissement et d'accélération de croissance peuvent entre-autres être causés par des périodes d'inondations de longue durée ou des périodes de sécheresse (Worbes 2002). Certaines espèces tropicales produisent bien des cernes annuels (Worbes 2002), tandis que d'autres marquent des cernes non annuels ou irréguliers.

1.4.2.5. Duraminisation

Dans le tronc d'un arbre se distingue également l'aubier du duramen. La production de duramen est un mécanisme de défense de l'arbre, mis en place pour protéger le cœur du tronc des attaques d'insectes ou de champignons. Des composés phénoliques sont déposés dans les cellules, des thylls viennent boucher les vaisseaux. A l'œil nu, le duramen est souvent observable par sa coloration distincte.

1.4.3. Anatomie des fibres du bois de tension (article 1)

1.4.3.1. Avant-propos

Le bois de tension se caractérise généralement par une anatomie très contrastée par rapport au bois normal. L'article 1 de cette thèse passe en revue la littérature sur la diversité de l'organisation de la paroi des fibres du bois de tension, à la lumière des résultats récents sur la lignification possible de la couche G (Roussel & Clair 2015). Cet article a été accepté le 4/10/2016 et publié dans *IAWA Journal* (Ghislain & Clair 2017).

1.4.3.2. Article 1: Diversity in the organisation and lignification of tension wood fibre walls – a review

Barbara Ghislain*⁸ & Bruno Clair

CNRS, UMR EcoFoG, AgroParisTech, Cirad, INRA, Université des Antilles, Université de Guyane, 97310 Kourou, France

*Corresponding author

1.4.3.2.1. Abstract

Tension wood, a tissue developed by angiosperm trees to actively recover their verticality, has long been defined by the presence of an unlignified cellulosic inner layer in the cell wall of fibres, called the G-layer. Although it was known that some species have no G-layer, the definition was appropriate since it enabled easy detection of tension wood zones using various staining techniques for either cellulose or lignin. For several years now, irrespective of its anatomical structure, tension wood has been defined by its high mechanical internal tensile stress. This definition ena-

⁸ Contribution: lecture et analyse de la littérature, écriture de la première version du papier, travail en commun jusqu'à la version finale.

bles screening of the diversity of cell walls in tension wood fibres. Recent results obtained in tropical species with tension wood with a delay in the lignification of the G-layer opened our eyes to the effective presence of large amounts of lignin in the G-layer of some species. This led us to review older literature mentioning the presence of lignin deposits in the G-layer and give them credit. Advances in the knowledge of tension wood fibres allow us to reconsider some previous classifications of the diversity in the organisation of the fibre walls of the tension wood.

Key words: Tension wood, fibres, G-layer, $S_1 + S_2 + S_3 + G$, lignification, multi-layered tension wood, diversity

1.4.3.2.2. *Introduction : Definition of tension wood*

1.4.3.2.2.1. **Historical definition of tension wood**

Trees are fascinating slender structures as they can combine reasonable trunk diameter with impressive height. This performance is possible thanks to the ability of the tree to form pre-stressed material (Archer 1986). This internal stress is the result of a process which occurs during cell maturation and enables control of tree posture (Mouliou & Fournier 2009). When the trunk or branches need reorientation, asymmetric stress distribution is induced thanks to a special kind of wood called reaction wood. More precisely, compression wood, which generates compressive stress on the lower part of the tilted stem in gymnosperms, can be distinguished from tension wood, which generates tensile stress on the upper part of the tilted stem in angiosperm trees. This tissue allows the tree to continuously adjust its position to the multiple disturbances that occur throughout its life.

Studies on compression wood were exhaustively summarized by Timell (1986) and recently updated by Gardiner *et al.* (2014a). This most recent book, “The Biology of Reaction Wood” (Gardiner *et al.* 2014a), also dedicated a large section to tension wood in which the structure, function and properties of tension wood are described in detail from the scale of the tree down to that of macromolecules. Ruelle (2014) reported the structure of tension wood from macroscopic scale to nanometric scales. In this paper we thus focus on the organisation and composition of the tension wood cell wall, with particular attention to its diversity in angiosperms (excepting the few angiosperms which form compression wood), and reinterpret old data in the light of recent results.

Today, tension wood is defined by measuring the mechanical strain resulting from the release of stress around the tree circumference, independently of the anatomy of the wood which is formed (Fournier *et al.* 2014). This mechanical definition finally allows the description of the anatomical diversity of tension wood.

However, in the literature, only a few studies included strain measurements on the living tree. Most studies identified tension wood thanks to the tree shape: tilted trees with the trunk recovering verticality or branches where the mechanical effort to maintain branch angle is obvious. Additionally several studies were performed on young trees artificially tilted to ensure the production of tension wood. Unfortunately, we found no literature comparing the tension wood anatomy caused by different mechanical stimuli (artificial or natural) or occurring in trunks or branches. One can however suspect that tension wood cell wall type does not depend on the stimu-

lus based on the numerous studies on *Populus* sp. where the tension wood cell wall is always reported with a similar structure regardless of the type of stimulus or axis studied.

From an anatomical point of view, tension wood has often been defined by the presence of an internal gelatinous layer in the fibres (IAWA 1964). The so-called gelatinous layer, or G-layer, was discovered at the end of the 19th century by Hartig (After Sanio 1860a cited in Potter 1904). Because of its high cellulose content and its anatomically swollen, detached and jelly-like aspect, the layer was originally called cellulosic layer, mucilaginous layer, cartilaginous layer, or gelatinous layer (Sanio 1860a, 1860b, 1863; Potter 1904; Metzger 1908). Ultimately, gelatinous layer or G-layer became the official name. Its detached and jelly-like aspect was later reported to be a border artefact occurring during sectioning due to the high tensile stress in the G-layer compared to the S₂ layer and the weak transverse stiffness of the G-layer (Clair *et al.* 2005a, 2005b). Unless the wood specimen is embedded in resin and the first 100 µm are trimmed, the detachment and swelling of the G-layer should be observable. Therefore, on 20-50 µm unembedded sections, the G-layer is usually swollen and detached from the other layers. Evidence for the presence of a gel in the G-layer was provided much later thanks to the characterisation of its mesoporous texture, with pores ranging from 2 to 50 nm (Clair *et al.* 2008).

1.4.3.2.2. Poplar as a model for studies of tension wood with a G-layer

Although early on it was known that some species lack G-layers (Onaka 1949), most studies were carried out on tension wood with G-layers, but instead of studying the G-layer in different species, the literature converged on poplar as a model tree (Appendix 1 illustrates the increasing focus on poplar in tension wood studies). Poplar was chosen for its many advantages: it is a fast-growing species which makes it possible to obtain results more rapidly; it is a wood of commercial interest in which tension wood is responsible for wood defects including a woolly surface; tension wood is anatomically easy to locate thanks to its thick G-layer: and more recently it has become possible to choose different well-characterised genotypes thanks to the description of the poplar genome (Pilate *et al.* 2004b; Tuskan *et al.* 2004).

The G-layer is an internal layer in the cell wall of fibres, which replaces the S₃ and part of the S₂ in poplar (Wardrop & Dadswell 1955). It was historically described to be mostly, or even only, composed of cellulose. More recently, several authors demonstrated the presence of other polysaccharides and proteins (Lafarguette *et al.* 2004; Andersson-Gunnerås *et al.* 2006; Nishikubo *et al.* 2007; Bowling & Vaughn 2008, whose study was on *Celtis* and *Liquidambar*; Kim & Daniel 2012). The cellulose microfibrils of the G-layer are highly crystalline and are almost aligned with the axis of the fibre (Fujita *et al.* 1974; Chaffey 2000; Daniel *et al.* 2006). In the process of G-layer deposition during cell wall maturation, a strong tensile stress occurs in its cellulose microfibrils (Clair *et al.* 2011) associated with the swelling of the mesopores (Chang *et al.* 2015). And indeed, the thicker the G-layer, the greater the maturation stress (Fang *et al.* 2008a).

The absence of lignin in the G-layer of poplar tension wood has been demonstrated in several studies (Norberg & Meier 1966; Pilate *et al.* 2004a; Yoshinaga *et al.*

2012), whereas other studies reported the presence of lignin (see below). However, the most frequently cited paper providing evidence for lignin (Joseleau *et al.* 2004) only qualifies its presence as ‘traces’. As a result, the lack of lignification has become a strong criterion to define the G-layer of poplar. As this species has been extensively studied, the criterion is used by extension to define tension wood in many other hardwood species. Tension wood thereby became easy to locate thanks to different types of staining which made it possible to distinguish the cellulose G-layer from the other lignified layers. As lignification does not occur in the G-layer, when tension wood did show slight lignin staining, the sample was often discarded (Gartner *et al.* 2003). At that time, stains such as Safranin / Alcian blue were considered to be insufficiently specific and the traces of safranin in the G-layer were often considered as a staining problem. Indeed, observations with UV light (which highlighted the lignin in unstained samples thanks to their auto-fluorescence) or the use of Wiesner or Mäule tests are known to be more specific. However, comparison of Safranin / Alcian blue with observations using UV light demonstrated the reliability of such double staining (Roussel & Clair 2015; personal observations) as long as the sample is sapwood and does not contain heartwood extractives. Therefore, in a number of observations reported in the literature, safranin staining of the G-layer may not have been a staining problem but, in contrast, may have revealed traces of lignin in the G-layer.

It should be noted that the G-layer can also be found in straight trees, scarcely dispersed, or as tangential bands around the circumference of the trunk (Badia *et al.* 2006). These observations reveal that short reactions were needed to maintain the tree upright. The few G-fibres on one side enabled vertical recovery at the time of their development. Then, later in tree growth, an imbalance in another direction made it necessary to produce G-fibres on the other side of the stem, etc.

1.4.3.2.2.3. Different organisation of the cell wall layers in gelatinous fibres

Three types of organisation of the cell wall of G-fibres were proposed by Wardrop and Dadswell (1955): 1) $S_1 + S_2 + G$, 2) $S_1 + G$ and 3) $S_1 + S_2 + S_3 + G$. They found that tension wood of *Eucalyptus gigantea* had $S_1 + S_2 + G$ in latewood and $S_1 + G$ in earlywood. $S_1 + S_2 + G$ is the most common type and occurs in 10 out of the 12 species studied by Saiki and Ono (1971). Only *Cercidiphyllum japonicum* presented two types, $S_1 + G$ and $S_1 + S_2 + G$, in the same portion of tension wood. The third type is quite rare. The only reports we found in the literature were by Wardrop and Dadswell (1955), Saiki and Ono (1971) and Araki *et al.* (1983). Unfortunately, in the first paper, Wardrop and Dadswell (1955) did not mention the position of the sampling, i.e. they did not specify if sampling was done during the process of maturation or in a transition zone between normal wood and tension wood. Furthermore, it cannot be checked, since the observation was made on an unidentified Flacourtiaceae (currently split into two families Achariaceae and Salicaceae *sensu lato*) and, as we now know, many Flacourtiaceae newly classified as Salicaceae *sensu lato* are able to form multi-layered fibre walls in their tension wood (Ghislain *et al.* 2016). The illustration of Wardrop and Dadswell (1955) does not allow us to confirm the

presence of an S_3 layer or a multi-layered G-layer, since Ruelle *et al.* (2007c) described the thin lignified layers in multi-layered tension wood as similar to the S_3 layer. Saiki and Ono (1971) also mentioned the third type of organisation ($S_1 + S_2 + S_3 + G$) in thin sections of resin embedded samples of *Celtis sinensis* for which methacrylate was removed before Pt-Pd shadowing, but were unable to confirm it on thin sections of Epon-embedded samples stained with potassium permanganate. Finally, Araki *et al.* (1983) also found the third type, but only in the transition zone between normal wood and tension wood. This is in agreement with the results of Abedini *et al.* (2015) on poplar, in which the authors reported the establishment of a G-layer on an S_2 layer formed before the tilting of the tree. It could therefore be hypothesised that in the study by Araki *et al.* (1983) the S_3 layer was formed just before tilting and the formation of a G-layer, thus explaining the presence of the organisation $S_1 + S_2 + S_3 + G$ during the transition zone only.

It would thus seem that the type $S_1 + S_2 + S_3 + G$, can only be observed in the transition zone from normal wood to tension wood, and that only two types of cell wall organisation can occur in tension wood: $S_1 + S_2 + G$ and $S_1 + G$. Further investigations are required to clarify this issue.

1.4.3.2.2.4. Tension wood classified as with or without a G-layer

Onaka (1949) was the first to carry out a large study on both compression and tension wood and investigated the latter in 219 species belonging to 84 genera of dicotyledons. His classification, although very interesting, is sometimes a little confusing due to the use of the growth eccentricity as a criterion for classification (Figure 17).

At first, when an eccentricity was present on the upper side, it was classified as being present either both in the wood and in the bark or only in the wood, even if the bark developed more on the upper side. The author then divided the latter according to the presence or absence of the G-layer. Finally, when the G-layer was present, the author defined three types (I, II and III). These three types are not easily distinguishable but Wardrop and Dadswell (1955) presumed the types corresponded to the $S_1 + G$, $S_1 + S_2 + G$ and $S_1 + S_2 + S_3 + G$ types.

Type II looks like $S_1 + G$ type and both Onaka (1949) and Saiki and Ono (1971) confirmed that *Cercidiphyllaceae* belonged to this type. Type III is similar to $S_1 + S_2 + G$ type which is the most common type. Onaka (1949) cites among other families the Salicaceae (at that time only including the genera *Salix* and *Populus*). However type I cannot correspond to $S_1 + S_2 + S_3 + G$ type. Onaka (1949) described “*a lessening of the degree of lignification towards the center, and a gradual change to the gelatinous layer*”.

Several species have been classified in the three classes of eccentricity, or in two types of G-layers. In most cases, eccentricity is an efficient way to detect the formation of tension wood. However, a tree forming tension wood specifically on one side of the stem does not systematically show clear eccentricity, as is the case in *Castanea sativa* (Fig. 9.1 in Gardiner *et al.* 2014b) or *Bagassa guianensis* (Bossu 2015). Furthermore, tension wood serves the biological function of controlling tree posture and may consequently be found in several parts of the trunk depending on

the past history of the tree and the need to reorient the tree axis. Using eccentricity to predict tension wood is thus less easy, which is why eccentricity should be used with caution when classifying tension wood.

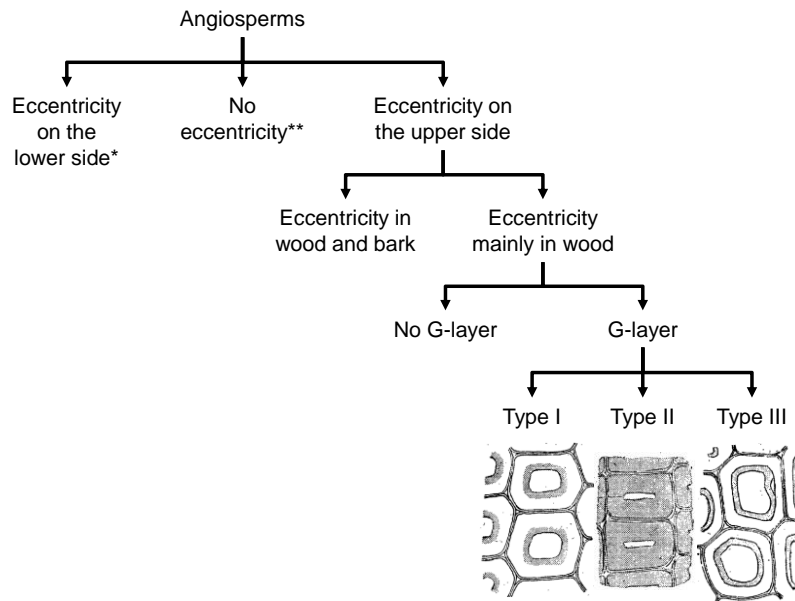


Figure 17. Schematic diagram of the classification proposed by Onaka (1949). *: Class containing only *Gardenia* and *Buxus*. **: Class represented by shrubs or vines and two trees, *Paulownia tomentosa* and *Catalpa ovata*. Pictures of the cells are the original drawings by Onaka (1949), the unlightened G-layers are in grey.

After Onaka (1949) the diversity of tension wood was classified more simply, as either forming G-layers or lacking them, which facilitated the comparison of different studies. Höster and Liese (1966) surveyed the branches of 110 tropical and temperate tree species, and found 75% had G-layers in their tension wood, compared to 35% for shrubs. In tilted branches or young axes, only 46% of the 122 species studied by Fisher and Stevenson (1981) presented tension wood with G-layers. Among buttresses and aerial roots of 48 tropical species however, only 10% had distinct G-layers (Fisher 1982). No G-layer was found in nine Japanese shrub species (Sultana *et al.* 2010). However, do shrubs, branches, buttresses and aerial roots produce high tensile stresses? Preliminary studies suggest that tensile stress in buttresses correspond to those in normal wood (Fig. 5.6 in Fournier *et al.* 2014). Finally, in a study on 21 tropical species from 18 families, 38% were shown to have a G-layer in their tension wood despite the higher growth stresses recorded on the tension wood side of all the trees considered (Clair *et al.* 2006). Thus, although tension wood with a G-layer has been more widely studied, it is much less common than tension wood without a G-layer.

1.4.3.2.3. Unusual observations of tension wood reported in the literature

Figure 18 gives a schematic representation of the anatomy of tension wood fibres described or deduced from the literature. All the observations presented in the text are summarized in Table 1.

Table 1. Summary of the tension wood type, sampling location, tilting condition and occurrence of stress measurement in the cited literature. Axes: T = trunk, B = branch, Bu = buttress, Bo = board, HW = heartwood. – Tilting condition: A = artificially tilted, N = naturally tilted, S = straight tree, NM = tension wood not mentioned. – Stress meas.: Y indicates a study where measurements of maturation stress were performed. – Classif. Figure 18: Tension wood type (A – F) is given according to the classification pictured in Figure 18; H: tension wood without G-layer. Letters in parenthesis refers to less common types. Question mark indicates uncertain classification. – References *: additional observations to the cited study.

Family	Species	Axes	Tilting condition	Stress meas.	Classif. Fig. 18	References
Altingiaceae	<i>Liquidambar styraciflua</i>	T	N		A1	Bowling & Vaughn 2008
Annonaceae	<i>Annona</i>	B, T	N, S		H ?	Fisher & Stevenson 1981
Annonaceae	<i>Annona</i>				H	Onaka 1949
Betulaceae	<i>Alnus pendula</i>	T	A		C	Araki et al. 1983
Bignoniaceae	<i>Catalpa</i>	B, T	N, S		H ?	Fisher & Stevenson 1981
Cannabaceae	<i>Celtis sinensis</i>	T	N		A1	Bowling & Vaughn 2008
Cannabaceae	<i>Celtis sinensis</i>	B, T	N		A1	Saiki & Ono 1971
Casuarinaceae	<i>Casuarina equisetifolia</i>				F ?	Sanio 1863
Cercidiphyllaceae	<i>Cercidiphyllum japonicum</i>	T	A		A (C)	Araki et al. 1983
Cercidiphyllaceae	<i>Cercidiphyllum japonicum</i>	B, T	N		A (C)	Saiki & Ono 1971
Cornaceae	<i>Cornus controversa</i>	T	A		A (C)	Araki et al. 1983
Daphnaceae	<i>Daphne odora</i>				H	Onaka 1949
Euphorbiaceae	<i>Hevea brasiliensis</i>	T			A & B	Encinas & Daniel 1997
Euphorbiaceae	<i>Hevea brasiliensis</i>	T	N		B	Sujan et al. 2015
Euphorbiaceae	<i>Mallotus japonicus</i>	T	A		B	Nakagawa et al. 2012
Fabaceae	<i>Caragana korshinskii</i>	T	S		A1, A2, A3	Furukawa & Ohashi 1999
Fabaceae	<i>Carmichaelia arborea</i>				B	Butterfield & Meylan 1980
Fabaceae	<i>Hedysarum scoparium</i>	T	S		A1, A2, A3	Furukawa & Ohashi 1999
Fabaceae	<i>Inga marginata</i>	T	N	Y	A1 & A3	Clair et al. 2006

<i>Family</i>	<i>Species</i>	<i>Axes</i>	<i>Tilting conditio n</i>	<i>Stress meas.</i>	<i>Classif . Fig. 18</i>	<i>References</i>
Fabaceae	<i>Inga marginata</i>	T	N	Y	A1 & A3	Ruelle et al. 2006
Fabaceae	<i>Koompassia malaccensis</i>	T, HW			B	Schmitt et al. 1995
Fabaceae	<i>Koompassia malaccensis</i>	Bo, Heart wood	NM		B	Singh et al. 2004
Fabaceae	<i>Robinia pseudo-acacia</i>	T	A		A1 (B1 or D)	Araki et al. 1982
Fabaceae	<i>Robinia pseudo-acacia</i>	T	A		E	Araki et al. 1982
Fabaceae	<i>Robinia pseudo-acacia</i>	B, T	N		A1 (F)	Saiki & Ono 1971
Fagaceae	<i>Fagus crenata</i>	B, T	N		E	Saiki & Ono 1971
Fagaceae	<i>Fagus sylvatica</i>				B ?	Wardrop & Dadswell 1955
Fagaceae	<i>Fagus sylvatica</i>				A (B ?)	Wardrop 1964
Fagaceae	<i>Fagus sylvatica</i>	T	N		A1 & E	Lehringer et al. 2009
Fagaceae	<i>Fagus sylvatica</i>	T	N		A1 (A2 & A3)	Schwarze & Fink 1998
Fagaceae	<i>Quercus ilex</i>	T	A		A1 & A2	Gartner et al. 2003
Fagaceae	<i>Quercus lyrata</i>	Bo			A & E	Wahlgren 1957
Fagaceae	<i>Quercus robur</i>	B, T			D	Casperson 1967
Fagaceae	<i>Quercus robur</i>	B			E	Lehringer et al. 2008
Fagaceae	<i>Quercus robur</i>	B			D	Lehringer et al. 2009
Irvingiaceae	<i>Irvingia</i>	Bu			A3 ?	Fisher 1982
Lauraceae	<i>Ocotea indirectinervia</i>	T	N	Y	A1 & A3	Ruelle et al. 2006
Lauraceae	<i>Sextonia rubra</i>	T	N	Y	A1 (B1)	Chang et al. 2009 and additional observation to their study
Lauraceae	<i>Sextonia rubra</i>	Bo			A1 (F)	Jutte 1956

<i>Family</i>	<i>Species</i>	<i>Axes</i>	<i>Tilting conditio n</i>	<i>Stress meas.</i>	<i>Classif . Fig. 18</i>	<i>References</i>
Lecythidaceae	<i>Eschweilera sago- tiana</i>	T	N	Y	A3	Clair et al. 2006
Lecythidaceae	<i>Eschweilera sago- tiana</i>	T	N	Y	A3	Ruelle et al. 2006
Lecythidaceae	<i>Eschweilera</i> sp.	Bu			A1 & A3	Fisher 1982
Magnoliaceae	<i>Liriodendron tuli- pifera</i>	T	A		A3 ?	Hiraiwa et al. 2014
Magnoliaceae	<i>Liriodendron tuli- pifera</i>	T		Y	A3 ?	Okuyama et al. 1994
Magnoliaceae	<i>Liriodendron tuli- pifera</i>	T	N	Y	A3 ?	Yoshida et al. 2002
Magnoliaceae	<i>Magnolia kobus</i>	B			A3 ?	Yoshizawa et al. 2000
Magnoliaceae	<i>Magnolia obovata</i>	T	A		A3 ?	Yoshizawa et al. 2000
Magnoliaceae	<i>Magnolia vere- cunda, Michelia compressa</i>				H ?	Onaka 1949
Malvaceae	<i>Apeiba, Heliocar- pus, Tilia</i>	B, T	N, S		H	Fisher & Steven- son 1981
Malvaceae	<i>Entelea arbo- rescens</i>				H	Patel 1988
Malvaceae	<i>Lagunaria pater- sonii</i>	T	A		H	Bland & Scurfield 1964
Malvaceae	<i>Lagunaria pater- sonii</i>				H	Scurfield 1973
Malvaceae	<i>Ochroma and Du- rio zibethinus</i>	B, T	N, S		H ?	Fisher & Steven- son 1981
Malvaceae	<i>Tilia cordata</i>	B	N		H	Böhlmann 1971
Malvaceae	<i>Tilia, Hibiscus syriacus, Firma- nia platanifolia</i>				H	Onaka 1949
Myrtaceae	<i>Eucalyptus an- dreana</i>	T	S	Y	A1, A2, A3	Hirohashi et al. 2012
Myrtaceae	<i>Eucalyptus bi- costata</i>	T	A		A (B or D)	Scurfield 1972
Myrtaceae	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	T	A		A (B or D)	Bland & Scurfield 1964
Myrtaceae	<i>Eucalyptus elae- ophora</i>				E	Wardrop 1964

<i>Family</i>	<i>Species</i>	<i>Axes</i>	<i>Tilting conditio n</i>	<i>Stress meas.</i>	<i>Classif . Fig. 18</i>	<i>References</i>
Myrtaceae	<i>Eucalyptus maid- enii</i>	T	S	Y	A1, A2, A3	Hirohashi et al. 2012
Myrtaceae	<i>Eucalyptus nitens</i>	T	N, S	Y	A1, A2, A3	additional obser- vation to the study published by Clair et al. 2013
Myrtaceae	<i>Eucalyptus reg- nans</i>	T	S	Y	A3 ?	Chafe 1977
Myrtaceae	<i>Eucalyptus smithii</i>	T	S	Y	A1, A2, A3	Hirohashi et al. 2012
Myrtaceae	<i>Eucalyptus</i> sp.	T	A		A1 & A2 ?	Scurfield & Wardrop 1963
Myrtaceae	<i>Lophostemon con- fertus</i>	T	A		B ?	Scurfield & Wardrop 1963
Myrtaceae	<i>Lophostemon con- fertus</i>	T			B ?	Scurfield 1973
Myrtaceae	<i>Lophostemon con- fertus</i>				B ?	Wardrop 1964
Oleaceae	<i>Fraxinus sieboldiana</i>	B, T	N		A (C)	Saiki & Ono 1971
Oleaceae	<i>Osmanthus fra- grans</i>	T	A		A3 ?	Hiraiwa et al. 2007
Oxalidaceae	<i>Averrhoa</i>	B, T	N, S		H	Fisher & Steven- son 1981
Proteaceae	<i>Grevillea robusta</i>	T	A		B ?	Scurfield & Wardrop 1963
Proteaceae	<i>Grevillea robusta</i>	T			B ?	Scurfield 1973
Proteaceae	<i>Grevillea robusta</i>				B ?	Wardrop 1964
Proteaceae	<i>Hakea laurina</i>	T	A		A1 & A2 ?	Scurfield & Wardrop 1963
Salicaceae	<i>Casearia ja- vitensis</i>	T	N	Y	B	Clair et al. 2006
Salicaceae	<i>Homalium foet- idum</i>		NM		B	Bailey & Kerr 1935
Salicaceae	<i>Homalium lu- zoniense</i>	Bo	NM		B	Daniel & Nilsson 1996
Salicaceae	<i>Laetia procera</i>	T	N	Y	B1 & B2	Ruelle et al. 2007c

Family	Species	Axes	Tilting conditio n	Stress meas.	Classif . Fig. 18	References
Salicaceae	<i>Olmediella betschleriana</i>	Bo	NM		B	Daniel & Nilsson 1996
Salicaceae	<i>Populus x euramericana</i>	T	N, S		A1	Badia et al. 2006
Salicaceae	<i>Populus deltoides</i>	T			A1 ?	Joseleau et al. 2004
Salicaceae	<i>Populus deltoides x nigra</i>	T	N		A1	Chang et al. 2015
Salicaceae	<i>Populus deltoides x nigra</i>	T	A		A1	Yoshinaga et al. 2012
Salicaceae	<i>Populus eurameri- cana</i>	T	A		A1	Fujita et al. 1974
Salicaceae	<i>Populus I4551</i>	T	N	Y	A1	Fang et al. 2008
Salicaceae	<i>Populus nigra x Populus deltoides</i>	T	A		E	Gierlinger & Schwanninger 2006
Salicaceae	<i>Populus sp.</i>				A1	Pilate et al. 2004
Salicaceae	<i>Populus tremula</i>	T	N		A1	Kim & Daniel 2012
Salicaceae	<i>Populus tremula</i>	T	N		A1	Norberg & Meier 1966
Salicaceae	<i>Populus tremula and P. alba</i>	B, T	N		A1	Nishikubo et al. 2007
Salicaceae	<i>Populus tremula x alba</i>	T	A		A	Lafarguette et al. 2004
Salicaceae	<i>Populus tremula x tremuloides</i>	T	N		A1	Chaffey 2000
Salicaceae	<i>Populus tremula x tremuloides</i>	T	N		A1	Daniel et al. 2006
Salicaceae	<i>Populus tremula x tremuloides</i>	T	A		A1	Nishikubo et al. 2007
Salicaceae	<i>Populus tremula x tremuloides and Populus tremula</i>	T	A		A1	Andersson- Gunnerås et al. 2006
Salicaceae	<i>Salix lucida</i>	B, T	N		A1, A2 & A3	Ghislain et al. 2016
Sapindaceae	<i>Acer</i>	Bo			A1, B1 & E	Lehringer et al. 2009
Sapindaceae	<i>Acer</i>	T	S		A (B ?)	Morey & Cronshaw 1968

<i>Family</i>	<i>Species</i>	<i>Axes</i>	<i>Tilting conditio n</i>	<i>Stress meas.</i>	<i>Classif . Fig. 18</i>	<i>References</i>
Sapindaceae	<i>Aesculus hippocastanum</i>				D	Casperson 1961
Simaroubaceae	<i>Simarouba amara</i>	T	A, N		A3	Roussel & Clair 2015
Siparunaceae	<i>Siparuna bifida</i>		NM	D		Bailey & Kerr 1935
Tetramerista- ceae	<i>Tetramerista glabra</i>		NM	D		Bailey & Kerr 1935
Thymelaceae	<i>Wikstroemia trichotoma, Edgeworthia papyrifera</i>				H	Onaka 1949
<i>Trochodendraceae</i>	<i>Trochodendron araloides</i>	T	A		A1 & B1	Hiraiwa et al., 2013

1.4.3.2.3.1. *Simarouba amara*: from lacking G-layer to having a G-layer with late lignification

The tension wood of several species without a G-layer has been characterised thanks to measurements of growth stress combined with anatomical observations. Amongst these species, *Simarouba amara* has been extensively studied (Ruelle 2006; Ruelle *et al.* 2007a, 2007b, 2011). Strong tensile stress was recorded on the upper side of leaning trunks, but neither the development of G-layers, nor a difference in cell wall thickness was observed. The angle of the microfibrils of cellulose and the size of cellulose aggregates were the only parameters which differed between opposite wood and tension wood (Ruelle *et al.* 2007b).

However, Roussel & Clair (2015) recently demonstrated that in *Simarouba amara* tension wood, a G-layer is visible during cell wall maturation, and that it becomes lignified at a later stage than in normal wood. The G-layer starts its lignification after more than 60 days of tilting in saplings. These authors also documented other species with similar patterns. This means that the usual unligified nature of the G-layer may be masked by late deposition of lignin, and that the usual staining no longer identifies tension wood fibres. Therefore, to assess the occurrence of a G-layer in tension wood, one needs to look at the maturation process. The tension wood of *Simarouba amara*, thought to be without a G-layer, is now known to develop a G-layer, which later becomes lignified (Figure 18.A).

1.4.3.2.3.2. *Laetia procera*: multi-layered G-layers

A peculiar multi-layered fibre structure has been described in the xylem fibres of Salicaceae *sensu lato*: *Homalium foetidum*, *Homalium luzoniense* and *Olmediella betschleriana* (Bailey & Kerr 1935; Daniel & Nilsson 1996). A similar multi-layered structure with an “S₂” composed of two to five thick and thin layers were observed in the fibre walls in a heartwood sample of a member of the Fabaceae, *Koombassia*

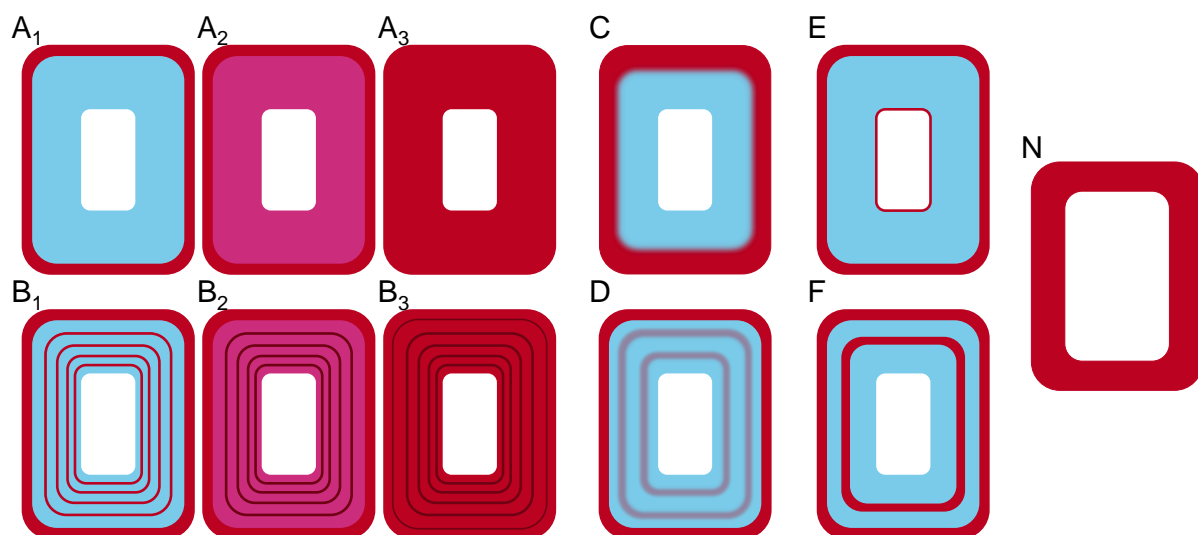


Figure 18. Schematic representation of the anatomy of tension wood fibres presenting S and G-layer (S_1 layer and S_2 layer - if any - are presented as a single layer) (A-F), compared to a normal wood fibre (N). - A₁-A₃: Unlignified to highly lignified G-layer. - B₁-B₃: Unlignified to highly lignified multi-layered G-layer. - C: Progressive decrease in lignin content from the S_1 or the S_2 layer to the G-layer. - D: Concentric lignin deposition in the G-layer. - E: Inner thin lignified ring in the G-layer. - F: Thick lignified ring inside the G-layer. - N: Normal wood fibre, including S_1 , S_2 , S_3 .

malaccensis (Schmitt *et al.* 1995; Singh *et al.* 2004). This multi-layered structure was later linked to the occurrence of tension wood in *Casearia javitensis* and *Laetia procera* thanks to measurements of maturation strain (Clair *et al.* 2006; Ruelle *et al.* 2007c). These multi-layered fibres occur in the tension wood of most of the former Flacourtiaceae now classified as Salicaceae *sensu lato* (Ghislain *et al.* 2016). They not only occur in tension wood but have also been reported in reaction phloem fibres (Nanko *et al.* 1982; Nakagawa *et al.* 2012, 2014). The fibre cell wall is composed of thick layers with a low cellulose microfibril angle separated by thin lignified layers. This peculiar tension wood has been reported in *Carmichaelia arborea* (Fabaceae) (Butterfield & Meylan 1980), *Hevea brasiliensis* (Euphorbiaceae) (Encinas & Daniel 1997) and *Mallotus japonicus* (Euphorbiaceae) (Nakagawa *et al.* 2012).

1.4.3.2.3.3. Early reports of lignin deposition in the G-layer: what do we know?

Even though the presence of lignin in the G-layer has long been rejected in the literature, its occurrence has nevertheless been suggested several times. Bailey and Kerr (1935) already described lignin deposition in the G-layer, even if this layer was not yet related to tension wood. Jutte (1956) discussed the definition of G-layers as being unlignified. Casperson (1967) described lignin deposition in G-layers of tension wood.

We reviewed all the reports of lignin in G-layers. It is always important to consider the sampling location in the sapwood or heartwood, which is, alas, not always specified in the papers we reviewed. It is important since the cellulose/lignin staining used to locate G-layers is not specific to lignin but may also stain other polyphenolic compounds, especially from heartwood extractives which have to be distinguished from lignin deposited in the G-layer during maturation, in the vicinity of the cambium. It is known that the G-layer of *Fagus sylvatica* can be encrusted by lignin or

other polyphenolic compounds during the formation of the false heartwood (Baum *et al.* 2000) and the G-layer of *Schinopsis balansae* (Anacardiaceae) has been reported to display encrustations of tannins during heartwood formation (Streit & Fengel 1995). So particular care should be taken when tension wood is taken from a piece of wood in the absence of any other specification concerning its location.

1.4.3.2.3.3.1. More lignin in the latewood of temperate species

In temperate species, only traces of lignin have been found in the G-layer of *Populus deltoides* tension wood (Joseleau *et al.* 2004). However, a larger proportion of lignin is present in the G-layer of latewood fibres: its deposition in the G-layer of *Quercus robur* (Fagaceae) is either scattered or concentric (Casperson 1967) while it is confined to the outer part of the G-layer in the latewood of *Cercidiphyllum japonicum* and *Fraxinus sieboldiana* (Saiki & Ono 1971). This is why the two last rows of latewood cells in a tension wood sample of *Fagus sylvatica* (Fagaceae) presenting a higher content in lignin were said to be normal wood (Schwarze & Fink 1998). This may also explain why Ruelle (2014) noted that “*tension wood is preferentially observed in earlywood of temperate species*”.

1.4.3.2.3.3.2. Inner thin lignified layer and outer gradual change from S₁ to G

A thin inner lignified layer in the G-layer (Figure 18.E) has been observed in the following temperate species: *Fagus crenata* (Saiki & Ono 1971), *Robinia pseudoacacia* (Araki *et al.* 1982), *Quercus lyrata* (Wahlgren 1957), *Eucalyptus elaeophora* (Wardrop 1964), *Populus nigra* x *Populus deltoides* (Gierlinger & Schwanninger 2006), *Quercus robur* (Lehringer *et al.* 2008), *Acer* sp. and *Fagus sylvatica* (Lehringer *et al.* 2009).

Within the G-fibre itself, Prodhan *et al.* (1995a) proposed two types of microfibril deposition in *Fraxinus mandshurica* var. *japonica*. Cellulose microfibrils are progressively deposited from the S₂ layer to the G-layer with an angle either ceasing at 0° or passing by 0° and ending at maximum 25°. Interestingly, in the second type of microfibril deposition, the inner part of the G-layer has a varying angle. In addition, the transition between the S₁ layer and the G-layer is progressive and the G-layer stained weakly for lignin in this outer zone (Prodhan *et al.* 1995b; Figure 18.C); this resembles in fact the type I of Onaka (1949), with a gradual change from S₁ to G. Saiki and Ono (1971) made a similar observation concerning the G-layer of *Fraxinus sieboldiana*. Araki *et al.* (1983) also reported lignin staining in the outer G-layer, in what the authors called the G', which shows a gradual change of the orientation of the microfibrils from an angle similar to the one in an S₂ to an angle close to 0° as in G in *Cercidiphyllum japonicum*, *Cornus controversa* and *Alnus pendula*.

1.4.3.2.3.3.3. Broad distribution of lignin in G-layers

In *Lophostemon confertus* (Myrtaceae, formerly *Tristania conferta*), lignin precursors penetrate the G-layer when the fibre is far enough away from the cambium (Scurfield 1973). This author suggested that these lignin precursors may be released during the terminal stage of cell senescence (Scurfield 1972).

Irregular lignin deposition has been observed in the tension wood of *Eucalyptus* sp. (Myrtaceae) and *Hakea laurina* (Proteaceae) (Scurfield & Wardrop 1963). Some ten-

sion wood cells differ in the intensity of deposition. Only some G-layers of *Salix lucida* (Salicaceae) stained strongly for lignin while in some other species, all the G-layers stained for lignin (Ghislain *et al.* 2016).

G-layers are also present in various shrubby Fabaceae. In *Caragana korshinskii* and *Hedysarum scoparium* three types of G-layers in tension wood have been distinguished: unligified, partly lignified and lignified (Furukawa & Ohashi 1999). Lignified G-layers have also been described in *Ephreda aspera* and *E. viridis* (Ephedraceae), although the authors doubt their role in stem reorientation (Montes *et al.* 2015). The lignin content in the G-layer of these shrubs increases with stem age.

1.4.3.2.3.4. Multi-layered fibre walls and lignification

Jutte (1956) observed tension wood with abnormal fibres in a board of *Ocotea rubra* (currently *Sextonia rubra*, Lauraceae). This author defined three types of tension wood fibres. Type I: fibres with an inner unligified layer (G-layer). Type II: fibres like type I but with an additional inner lignified layer which can be thick or thin. Type III: fibres like fibre II but with an additional inner unligified layer. In this species, Chang *et al.* (2009) described the tension wood as having a thick unligified G-layer. In the same sample, we also observed a few fibres exhibiting unligified multi-layered G-layers (additional observation to the study published by (Chang *et al.* 2009).

Ruelle *et al.* (2007c) showed that some multi-layered G-layers of *Laetia procera* are slightly lignified in some fibres and not in others in the same portion of tension wood. Ghislain *et al.* (2016) added that in some species, all multi-layered G-layers become lignified (Figure 18.B). But types II and III of Jutte (1956) are the first reports of lignification in only one thick layer while others remained unligified. As Jutte (1956) did not mention where in the tree the samples came from, we do not know if this observation can be attributed to heartwood formation.

In tension wood of *Robinia pseudoacacia* thin concentric rings within G-layers were stained with KMnO_4 and divided into two or more sublayers (Araki *et al.* 1982). In this species, an extraordinary sublayer, thicker than the thin layer in a multi-layered G-layer, was stained with KMnO_4 (Saiki & Ono 1971; Figure 18.F). The authors do not specify if the fibre was located in latewood and/or heartwood. A lignified ring has been observed in the G-layer of *Casuarina equisetifolia* (Casuarinaceae) (Sanio 1863). The G-layer of *Eucalyptus camaldulensis* (Myrtaceae) is divided into two sublayers by a thin lignified ring (Bland & Scurfield 1964).

1.4.3.2.3.4. Does tension wood lacking G-layers really exist?

Do some species develop a kind of tension wood, with no unligified or lignified G-layers? Onaka (1949) described tension wood with thin cell walls and no difference in lignification from normal wood in *Annona* (Annonaceae), *Firmania platanifolia*, *Hibiscus syriacus*, *Tilia* (Malvaceae), *Daphne odora* (Daphnaceae), *Edgeworthia papyrifera* and *Wikstroemia trichotoma* (Thymelaceae), *Magnolia verecunda*, *Michelia compressa* and *Liriodendron tulipifera* (Magnoliaceae). However, in recent observations on *Liriodendron tulipifera* (Hiraiwa *et al.* 2014) the cell wall in tension wood

was reported to be rather thick, so this sample probably had G-layers masked by late lignification.

Lagunaria patersonii (Malvaceae) has thinner fibre walls in tension wood than in normal wood fibres (Bland & Scurfield 1964; Scurfield 1973). Böhlmann (1971) observed *Tilia cordata* (Malvaceae) and found no G-layers in its tension wood. Instead, this author observed the phloem and proposed a stress generation mechanism based on phloem instead of wood. Indeed, Onaka (1949) observed greater development of bark on the upper side of *Tilia* and even proposed a class called “eccentricity in wood and bark” (Figure 17).

Fisher and Stevenson (1981) assumed that the same mechanism of reaction phloem could occur in *Apeiba*, *Heliocarpus*, *Tilia* (Malvaceae), *Averrhoa* (Oxalidaceae) and possibly in *Annona* (Annonaceae), *Catalpa* (Bignoniaceae), *Durio zibethinus* and *Ochroma* (Malvaceae).

Furthermore, these authors noted that *Cananga* (Annonaceae), *Alstonia angustiloba* (Apocynaceae), *Cordia alliodora*, *C. lutea*, *C. panamensis* (Boraginaceae), *Garcinia nigrolineata* (Clusiaceae), *Apeiba*, *Durio zibelhinus*, *Ochroma*, *Sterculia ceramic*, *Sterculia foetida* (Malvaceae), and *Hamelia* (Rubiaceae) have enlarged unlignified parenchyma in their tension wood. However, *Sterculia foetida* was said to have either no G-layer or G-layers on the upper side of the leaning branch.

Patel (1988) described a non-homogenous distribution of what the author called pith-like parenchyma in a tree of *Entelea arborescens* (Malvaceae) with high eccentricity, and concluded it was reaction wood.

It therefore appears that tension wood really lacking G-layers does exist, with fibres with thinner cell walls, different distribution/size of parenchyma cells and a thicker phloem. However, growth stress measurements coupled with anatomical studies are necessary to conclude on the mechanism underlying such tension wood lacking a G-layer.

1.4.3.2.4. *New light on old data*

Acknowledging the occurrence of late lignification in the G-layers of *Simarouba amara*, of lignin deposits in the G-layer of many species, of multi-layered G-layers, and of tension wood with thin cell walls and no G-layers, throws new light on reports in the literature on tension wood previously considered to be unusual. Indeed species previously believed to be lacking G-layers might actually have lignified ones, while others really do lack them.

1.4.3.2.4.1. **Observations of late lignification such as in tension wood of *Simarouba amara***

Unusual fibres of *Eschweilera sp.* (Lecythidaceae) with delayed lignification of their inner wall were observed by Fisher (1982) in tension wood. *Eschweilera sagotiana* is not reported to have G-layers although a strong tensile stress has been observed on the upper side of the leaning trunk (Clair *et al.* 2006; Ruelle *et al.* 2006). However the swollen aspect of a G-layer and its weak adherence to outer layers is clearly visible, even though it is lignified. Similarly *Irvingia* (Irvingiaceae) has been described

as having an inner layer that becomes lignified in mature wood but remains separate from the other layers (Fisher 1982). These observations suggest that late lignification masks the expected unlignified aspect of the G-layer as described by Rousset and Clair (2015). *Osmanthus fragrans* (Oleaceae) tension wood has no G-layer but the cell wall fibres lack an S₃ and have an S₂ with a reduced microfibril angle (MFA) and less lignin than normal wood (Hiraiwa *et al.* 2007). Similar observations have been reported in *Magnolia kobus* and *Magnolia obovata* (Magnoliaceae) (Yoshizawa *et al.* 2000) and *Liriodendron tulipifera* (Magnoliaceae) (Yoshida *et al.* 2002; Hiraiwa *et al.* 2014). These species might thus all have lignified G-layers. Increasing maturation stresses have indeed been linked to decreasing MFA, increasing α -cellulose content and increasing cellulose crystallinity in *Liriodendron tulipifera* (Okuyama *et al.* 1994).

1.4.3.2.4.2. Irregular deposition of lignin

Trees of *Eucalyptus regnans* with high maturation stresses might have gelatinous layers partly hidden by lignification (Chafe 1977). This would explain the anatomical differences with the fibres of normal wood. Although the authors did not describe it in that way, autofluorescent photographs of *Eucalyptus andreaana*, *E. smithii* and *E. maidenii* showed the occurrence of unlignified G-layers next to lignified G-layers and partly lignified G-layers, with either the outer or the inner part of the G-layer containing lignin (Hirohashi *et al.* 2012). Similar observations were made in *E. nitens* (additional observation to the study published by Clair *et al.* 2013).

A confocal fluorescence micrograph of *Populus nigra* was overexposed in order to visualize the G-layer, yet it is interesting to note the heterogeneity of staining of the G-layer, with the inner part looking brighter (Donaldson 2001). In *Ocotea indinetinervia* (Lauraceae), lignified G-layers can be seen in the vicinity of unlignified ones (Ruelle *et al.* 2006). In *Inga marginata* (Fabaceae), no G-layer was mentioned (Clair *et al.* 2006; Ruelle *et al.* 2006), although lignified and unlignified G-layers appear in the figure.

1.4.3.2.4.3. Concentric deposition of lignin and/or multi-layered tension wood fibre walls

The concentric deposition of aromatic compounds or lignin described in the G-layer of *Quercus sp.* and *Aesculus sp.* (Casperson 1961, 1967; Lehringer *et al.* 2009) appear to be an intermediate stage between the usual G-layer and a multi-layered G-layer in which the alternating deposition of thick and thin layers is regular (Figure 18.D). It is not clear whether *Eucalyptus bicostata* has multi-layered G-layers in its tension wood or whether it has concentric deposition like in *Quercus sp.* (Scurfield 1972). In tension wood of *Trochodendron aralioides* (Trochodendraceae) (figure 5 in Hiraiwa *et al.*, 2013) a few multi-layered G-layers can be seen among the usual G-layers (Hiraiwa *et al.* 2013).

The occurrence of two sublayers in some G-layers of *Acer* species (Lehringer *et al.* 2009) can also be observed in some fibres in the figures of Morey and Cronshaw (1968). Two sublayers are also present in the G-layer of *Hevea brasiliensis* var.

Gondang Tapen in which maturation stresses and MFA were measured (Sujan *et al.* 2015). The lamellae of the G-layer of *Lophostemon confertus*, (Myrtaceae, formerly in *Tristania*), and *Grevillea robusta* (Proteaceae) (Scurfield & Wardrop 1963; Wardrop 1964; Scurfield 1973) appears to correspond to multi-layered tension wood fibres, as does *Fagus sylvatica* (Wardrop & Dadswell 1955; Wardrop 1964).

1.4.3.2.5. Conclusions

After reviewing the diversity of tension wood reported in the literature, we are now able to look at tension wood with fresh eyes, and advances in our understanding of tension wood allow us to re-interpret past observations.

This study confirms that tension wood shows a wide range of anatomical structures which make it impossible to use anatomical criteria to define it, but require instead the use of stress measurement in the living tree. Indeed, tension wood can have lignified or unlignified G-layers or even no G-layer at all. To determine if tension wood has formed, it is thus indispensable to know the history of the tree sampled. In the ideal case, we should work with artificially inclined material. If this is not possible, we should either be able to retrace the history of the material under study or measure its stresses, or at least be aware of the limitations of our methods.

In future studies on tension wood diversity, we will still maintain at least two classes, considering the mechanisms that produce stress. The first group will include species which produce tension wood with G-layers. These G-layers may be unlignified or contain varying amounts of lignin and/or have many layers, even in temperate species. In unlignified G-layers, the generation of stress during maturation was shown to occur during the thickening of the G-layer. When the G-layer is lignified, lignification occurs late, after wall thickening is complete, and one would expect that the maturation stress has already been generated and that lignification will not produce additional stresses but only fix the tensile stress while causing reinforcement of the cell wall. In this group, knowledge of the mechanism behind the generation of maturation stress is progressing and poplar will probably continue to be the model used to advance our understanding of its functioning. The second group includes the species with tension wood with fibres which do not produce G-layers, with thin cell walls, and with apparently different size and distribution of parenchyma cells. In these species, the mechanism (or mechanisms) behind the generation of tensile stress remain(s) unknown and studies combining stress measurements and developmental anatomical description are needed to propose a classification able to incorporate more species.

1.4.3.2.6. Acknowledgements

We wish to thank Miho Kojima (Kyoto University) for her help in providing and translating some Japanese papers and Pieter Baas for the critical reading of an early draft of our manuscript. This work was supported by the French National Research Agency in the framework of the project “StressInTrees” (ANR-12-BS09-0004). BG benefits from an “Investissements d’Avenir” grant managed by French National Research Agency (CEBA, ANR-10-LABX-25-01).

1.4.3.2.7. Appendix 1

Number of publications mentioning (1) “tension wood” and (2) “tension wood” and or poplar or *Populus* or aspen in the text. The ratio (2):(1) illustrates the increasing focus on poplar in research on tension wood (sources: Web of Science, 04/04/2016).

	(1) "tension wood"	(2) "tension wood" and (poplar or <i>Populus</i> or aspen)	Proportion (2)/(1)
1950 - 1995	36	8	22%
1996 - 2005	106	39	37%
2006 - 2013	247	129	52%
2014 - 2016	62	41	66%

2.1. Avant-propos

Cette thèse repose sur un large matériel végétal, dont il convient de spécifier les origines. C'est l'objet de la première partie de ce chapitre.

Dans un second temps, ce matériel végétal est observé ou étudié au moyen de différentes méthodes propres aux domaines de l'anatomie végétale et de la physiologie végétale en passant par de la mécanique. Elles sont présentées dans la deuxième partie de ce chapitre.

La Figure 19 représente de manière schématique l'ensemble du matériel végétal et l'essentiel des méthodes utilisées pendant cette thèse. Cette figure présente également le pourcentage approximatif de ma contribution aux différentes expérimentations.

2.2. Matériel végétal

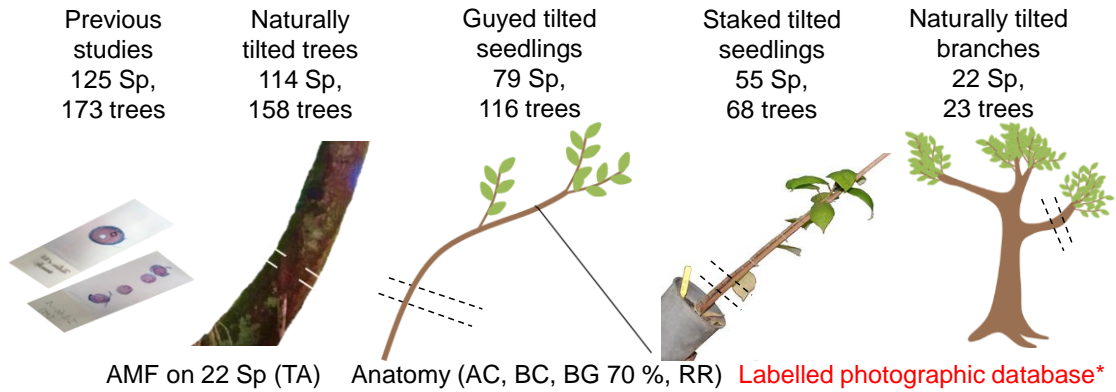
2.2.1. Matériel végétal issu d'études antérieures

Des coupes anatomiques de bois normal et de bois de tension, déjà colorées et montées sur lame, provenant d'études antérieures sur du bois de tension d'espèces d'arbres de Guyane française sont observées et rajoutées au matériel de cette thèse. Les lames des articles de Clair *et al.* (2006) et Ruelle *et al.* (2006) représentent 24 arbres de 20 familles. Seulement 21 de ces arbres avaient été publiés. Ces arbres inclinés naturellement ont été échantillonnés sur la Piste de Saint-Elie, situé proche de Sinnamary. Les lames de l'article d'Alméras *et al.* (2009) contiennent 8 jeunes arbres élevés en serre et inclinés sans tuteurage (redressement libre), issus de 4 familles. Enfin, les lames réalisées lors du terrain Module Forêts Tropicales Humides (FTH) en septembre 2013⁹ concernent des petits arbres de diamètre inférieur à 3 cm naturellement inclinés en forêt tropicale sur la Piste de Saint-Elie. Lors de ce terrain 88 individus de 36 familles avaient été échantillonnés.

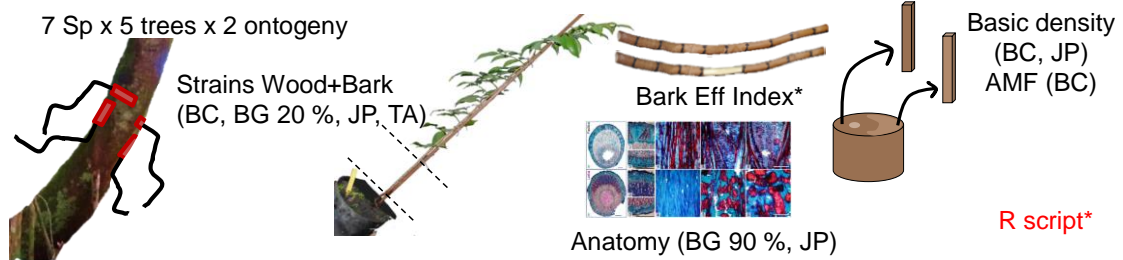
En outre s'ajoute le matériel végétal issu du stage de R. Romain en 2014 qui comporte 52 individus de 36 espèces. La majorité des coupes anatomiques a été réalisé lors de son stage et le reste est complété au début de cette thèse. Grâce à la coopération avec A. Yoshinaga de l'Université de Kyoto lors de mon passage au Japon pour

⁹ Terrain organisé par Bruno Clair avec 4 étudiants : Agnès Burgers, Gauthier Crépy, Emma Lord, et Clémence Ogéron ; et le botaniste Julien Engel.

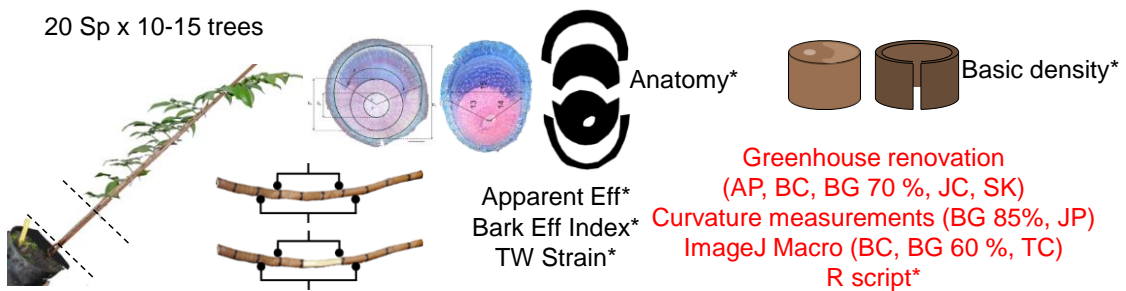
Chapter 3: Diversity of tension wood anatomy



Chapter 4: Mechanisms of strain generation



Chapter 5a: Efficiency of uprighting



Chapter 5b: Carbon allocation

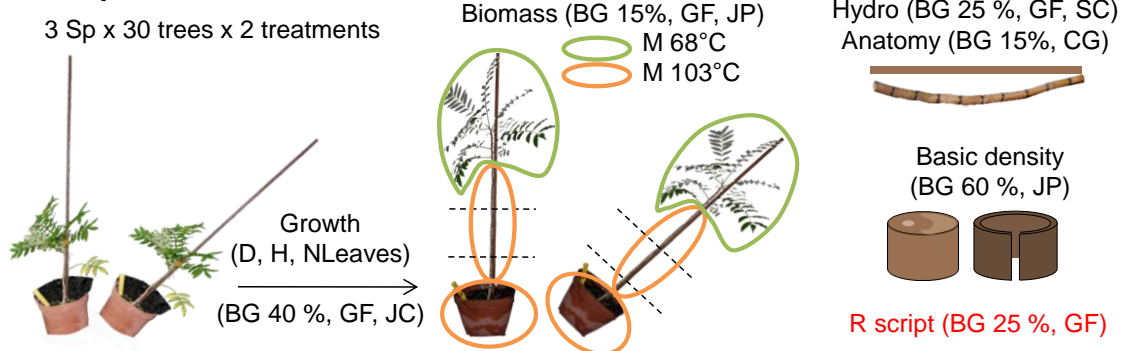


Figure 19. Représentation schématique du matériel et méthodes de cette thèse. En rouge sont représentés les « méthodes » mises au point durant cette thèse. * indique une contribution de 100 %. Dans le cas contraire, un pourcentage approximatif de contribution est indiqué entre parenthèse, en plus du nom des autres personnes ayant contribué à la mesure : AC, Aurélie Cuvelier ; AP, Audin Patient ; BC, Bruno Clair ; BG, Barbara Ghislain ; CG, Camille Gérard ; GF, Gregory Faure ; JC, Jocelyn Cazal ; JP, Jonathan Prunier et RR, Raïssa Romain ; SC, Sabrina Coste ; SK, Soepe Koese ; TA, Tancrède Alméras. Abréviations : AMF, angle des microfibrilles de cellulose ; D, diamètre ; Eff, efficacité ; H, hauteur ; Hydro, conductance ; M, dry mass ; Nleaves, nombre de feuilles ; Sp, nombre d'espèces d'arbres étudiées ; TW, bois de tension.

un JSPS Summer Program en 2015, nous avons rajouté un individu d'*Idesia polycarpa* incliné tuteuré afin de compléter le jeu de données et co-écrire l'article 3 (Ghislain *et al.* 2016). Les herbiers de l'ensemble des Salicaceae provenant de Guyane sont déposés à l'herbier de Cayenne avec l'aide d'E. Nicolini¹⁰. Le jeu de données de cette étude comporte au final 50 individus de 4 familles : Achariaceae, Goupiaceae, Lacistemataceae, et essentiellement des Salicaceae. Les individus prélevés hors Guyane, proviennent de branches naturellement inclinées prélevées par les conservateurs ou jardiniers de plusieurs jardins botaniques en France métropolitaine. Les échantillons d'arbres issus de forêt tropicale en Guyane française ou en Guadeloupe ont été prélevés sur des branches ou troncs naturellement inclinés. Un échantillon est prélevé sur un individu incliné tuteuré au Japon.

2.2.2. Matériel végétal sur pied récolté en forêt naturelle

La forêt guyanaise est localement riche en espèces (150 à 200 espèces/ha). Afin d'avoir un premier aperçu de la diversité des bois de tension sur un grand nombre d'espèces nous avons choisi de récolter des individus ou des branches naturellement inclinés en forêt. Afin de s'assurer de la production de bois de tension, un examen visuel complète une mesure de l'inclinaison du tronc à la hauteur du prélèvement. Des morceaux de bois et d'écorce sont prélevés sur la partie supérieure et inférieure de l'axe incliné. Deux terrains successifs en septembre et novembre 2014 pour le Module Forêts Tropicales Humides (FTH)¹¹ et la rencontre bi-annuelle de l'ANR StressInTrees¹², ont permis d'échantillonner des arbres sur la Piste de Saint-Elie. Ces arbres sont numérotés et géoréférencés par un point GPS. Le bois et l'écorce de 137 individus de 40 familles ont ainsi été récoltés.

Au même endroit sur la Piste de Saint-Elie, des petits arbres de diamètre inférieur à 3 cm au collet sont haubanés à environ 45 ° pendant 17 mois afin de s'assurer de la production de bois de tension. Ils sont récoltés le 18 avril 2016 à l'occasion du stage de Nicolas Gentis¹³. Les 116 individus de 29 familles sont répartis sur 3 milieux : plateau, pente et bas-fond. L'ensemble de la tige est récolté en vérifiant que le bois de tension se trouve bien sur la partie supérieure.

Un terrain sur le fleuve Kourou en septembre 2015 pour le Module Forêts Tropicales Humides (FTH)¹⁴ a permis de réaliser des mesures sur bois et écorce sur des

¹⁰ L'ensemble des Salicaceae prélevées en Guyane sont identifiées par E. Nicolini, ponctuellement secondé de Pascal Petronelli.

¹¹ Terrain effectué le premier mois de ma thèse, organisé par B. Clair avec 4 étudiants : Aurélie Cuvelier, Hélène Fargeon, Cécilia Gauvin et B. Ghislain ; ainsi que le botaniste J. Engel.

¹² Terrain organisé avec B. Clair avec la participation de J. Engel, une stagiaire Aurélie Cuvelier (Stage césure ingénieur forestier) et une partie des membres de l'ANR StressInTrees : Tancrede Alméras, Olivier Arnould, Marie Capron, Gilles Pilate et Amra Šecerović.

¹³ Terrain organisé avec B. Clair, accompagné de Nicolas Gentis (L3), deux étudiants en 1STL Edris Appolinaire et Enrick Girod, accompagnés par un de leur professeur Cédric Andriot. Les arbres avaient été identifiés par J. Engel et haubanés lors d'un précédent terrain.

¹⁴ Terrain organisé avec B. Clair avec la participation d'Hélène Morel et 2 étudiantes : Virginie Lambertucci et Rozenn Monnier.



Figure 20. Matériel végétal récolté en forêt tropicale (A-F) et élevé en serre (G-H) durant la thèse. A,B, arbres naturellement inclinés ; C,D, petits arbres haubanés ; E,F, *Pachira aquatica* naturellement incliné en bord de fleuve ; G, germination et croissance de graines et plantules récoltées en forêt ; H, inclinaison avec tuteur de plus de 400 petits arbres en serre. Source photographique : A, Amra Šecerović ; B,C, Olivier Arnould ; D,E,G,H, Barbara Ghislain ; F, Bruno Clair.

individus adultes de *Pachira aquatica*. L'étude des écorces est poursuivie sur des arbres complémentaires mesurés lors d'un terrain en mai 2016¹⁵. Huit espèces supplémentaires sont ajoutées lors d'un terrain en septembre 2016 pour le Module FTH¹⁶ sur la Piste de Saint-Elie et aux alentours de Kourou.

Un matériel plus divers est également récolté tout au long de la thèse afin d'élargir la palette d'espèces étudiée. Des branches ou des troncs naturellement inclinés sont récoltés en Guyane française, en France métropolitaine ou encore au Japon et représentent 51 individus de 24 familles différentes.

2.2.3. Matériel végétal élevé en serre

Des graines et des plantules sont récoltées en forêt tropicale et élevés en serre afin d'avoir des conditions de croissance similaires. Les jeunes arbres sont rempotés et acclimatés environ un mois en serre avant d'être inclinés. Les arbres sont maintenus inclinés à 45° par un tuteur afin de maximiser la production de bois de tension.

Le matériel végétal élevé en serre répond à 3 objectifs distincts. Une première étude sur un nombre limité d'espèces vise à décrire les stratégies d'allocation de croissance entre les différents organes de la plante et les conséquences de l'inclinaison sur la photosynthèse et la conduction. Cette expérience réalisée en collaboration avec les écophysiologistes de l'UMR EcoFoG est appelée « Biomecophy » vu le lien entre la biomécanique et l'écophysiologie. Cette étude concerne 3 espèces avec environ 56 individus par espèce. Une deuxième étude sur un nombre plus large d'espèces porte sur l'efficacité du redressement de la tige en fonction de l'anatomie de leur bois de tension. Cette expérience est appelée « Efficience » et concerne 23 espèces avec environ 10 individus par espèce. Une dernière étude permet d'avoir des espèces complémentaires pour l'étude de la diversité anatomique de bois de tension ou de confirmer des observations faites sur du matériel prélevé en forêt tropicale. Cette dernière étude est appelée « Diversité » et contient 30 espèces avec 1 à 3 individus par espèce. Le plan de serre se trouve en annexe.

Pour la mise en place de ces expériences, la serre est complètement rénovée. Une ombrière à 10 % d'ombrage est mise en place et un coupe-vent est installé autour de la serre afin d'éviter une production de bois de tension due au vent. Des cales pour incliner les pots à 45° sont réalisées par Soepe Koese. Les pots sont arrosés par un système de goutte à goutte à raison de 2 fois 5 minutes par jour. Ainsi arrosés, les arbres sont toujours en condition hydriques non limitantes. L'expérience « Biomécophy » qui est plus sensible au vent est placée au centre de la serre et est entourée de l'expérience « Efficience ». L'expérience « Diversité » est placée à l'avant de la serre, proche de la porte, car elle est moins sensible aux éventuels passages et coups de vent.

¹⁵ Terrain organisé avec B. Clair avec la participation de Jonathan Prunier et T. Alméras.

¹⁶ Terrain organisé avec B. Clair avec la participation de 4 étudiants : Krystel Corsagni, Marc Gomes, Kathy Jaffredo et Elodie Lhuer. Les arbres de Saint-Elie sont identifiés par Onoefe N'Gwete et ceux aux alentours de Kourou par Pascal Petronelli.

2.3. Méthodes

2.3.1. Observation des cellules de bois

2.3.1.1. La microscopie optique

Pour tous les individus prélevés en forêt ou en serre, des sections de 25-50 μm de bois sont découpées avec un microtome. Selon le tissu étudié, l'écorce est parfois enlevée avant la coupe. Vu le nombre de coupes à produire, nous utilisons au laboratoire un outil de coloration par série appelé « colorospeed » mis au point par Frédéric Petitclerc (EcoFoG). Il s'agit de 10 tubes eppendorfs dont le fond a été percé avec une aiguille, attachés à une structure qui permet aisément de remplir et vider les eppendorfs de colorants. Les colorants utilisés sont la safranine pour mettre en évidence les tissus lignifiés et le bleu astra qui colore les parties contenant des polysaccharides en bleu (le protocole détaillé est donné en annexe). Les coupes sont habituellement réalisées dans le plan transversal du bois (plan RT), mais pour certaines études des coupes longitudinales - tangentielles (LT) à plusieurs épaisseurs de l'écorce ainsi que des coupes longitudinales - radiales du bois ont été ajoutées. Après coloration, les coupes sont montées entre lames et lamelles et observées en microscopie optique. Un appareil photo monté sur le microscope permet de créer une base de données photographique des bois et des écorces étudiés.

Les colorants en safranine et bleu astra sont souvent décrits comme étant peu fiables dans le domaine de l'étude du bois de tension, car jugés peu spécifique pour la lignine. Cependant la couche G du bois de tension a été majoritairement connue pour son aspect non lignifié (Ghislain & Clair 2017) et les traces de lignine apparaissant dans la couche G étaient considérées comme des erreurs de colorations. Ces colorants pourraient donc être fiables. En guise de vérification, les sections de 25-50 μm en coloration safranine et bleu astra sont comparées à des coupes bien plus fines (2-3 μm) non colorées en utilisant l'autofluorescence de la lignine, qui est une propriété naturelle des lignines (Figure 38). Les échantillons doivent être inclus dans de la résine, selon la méthode décrite dans Clair et al. (2005a). Puis des sections de 2-3 μm sont découpées à l'aide d'un couteau diamant monté sur un microtome rotatif (LEICA RM2255). La coupe est observée simultanément avec la microscopie optique classique afin d'apprécier l'épaisseur de la paroi, et avec une lampe excitant les lignines qui vont renvoyer un signal lumineux en épiscopique. Une lampe UV USH102D est utilisée avec un filtre U-MNU2 (Excitation filter BP 360-370 nm, Dichromatique mirror DM 400 nm, Emission filter LP 420 nm). L'excitation se fait entre 360 et 370 nm, des valeurs comparables à la littérature (Donaldson & Radotic 2013), bien que selon le spectre d'absorbance des lignines, l'excitation optimale serait entre 270 et 300 nm. Néanmoins le signal obtenu est suffisamment clair que pour tirer des conclusions.

Outre l'utilisation pour la vérification de l'efficacité de la double coloration safranine/bleu astra, cette technique est utilisée pour l'observation des couches G multi-

couches. En effet les couches fines sont parfois difficiles à observer sur des coupes de 25-50 μm .

2.3.1.2. La microscopie confocale à balayage laser tridimensionnel (3D)

Une autre technique de microscopie a été utilisée spécialement pour l'étude des bois de tension contenant des couches G multicouches : la microscopie confocale à balayage laser tridimensionnel (Keyence VK-9710K). Elle permet d'observer la topographie de la surface d'un échantillon avec une résolution de 10 nm. La surface d'échantillons de bois sec non traités est rafraîchie par un couteau diamant afin d'obtenir une surface presque parfaite. Les changements d'organisation ou de composition entre deux couches de la paroi des fibres produisent des traces topographiques qui permettent d'identifier facilement les couches ou sous-couches de la paroi.

2.3.1.3. La microscopie électronique

La microscopie électronique permet d'observer la paroi même des fibres de bois. Afin d'observer l'organisation du réseau de microfibrilles de celluloses de la couche G, j'ai eu l'occasion de visiter le laboratoire Tree Cell Biology du Prof. K. Takabe de l'Université de Kyoto dans le cadre d'un JSPS Summer Program pendant l'été 2015. Le laboratoire est muni d'un microscope en transmission électronique (TEM) ainsi qu'un microscope électronique à balayage à émission de champ (FE-SEM). La préparation pour le TEM nécessite la technique de « Rapid Freeze and Deep Etching » (RFDE). Cette technique consiste à couper un échantillon à froid, entre -106 et -150 °C, afin de ne pas modifier sa structure. Elle est habituellement utilisée sur des cultures de cellules et des difficultés ont été rencontrées pour découper un matériau bien plus dense comme le bois.

L'étude de l'organisation du réseau de microfibrilles de celluloses a été mise en place sur trois espèces inclinées tuteurées à 45°: *Populus carolinensis* x *P. nigra*, I-214 de 4 ans récolté en juillet 2015 à Kyoto¹⁷ après 21 jours d'inclinaison, *Laetia procera* et *Simarouba amara* récoltés à l'UMR EcoFoG à Kourou.

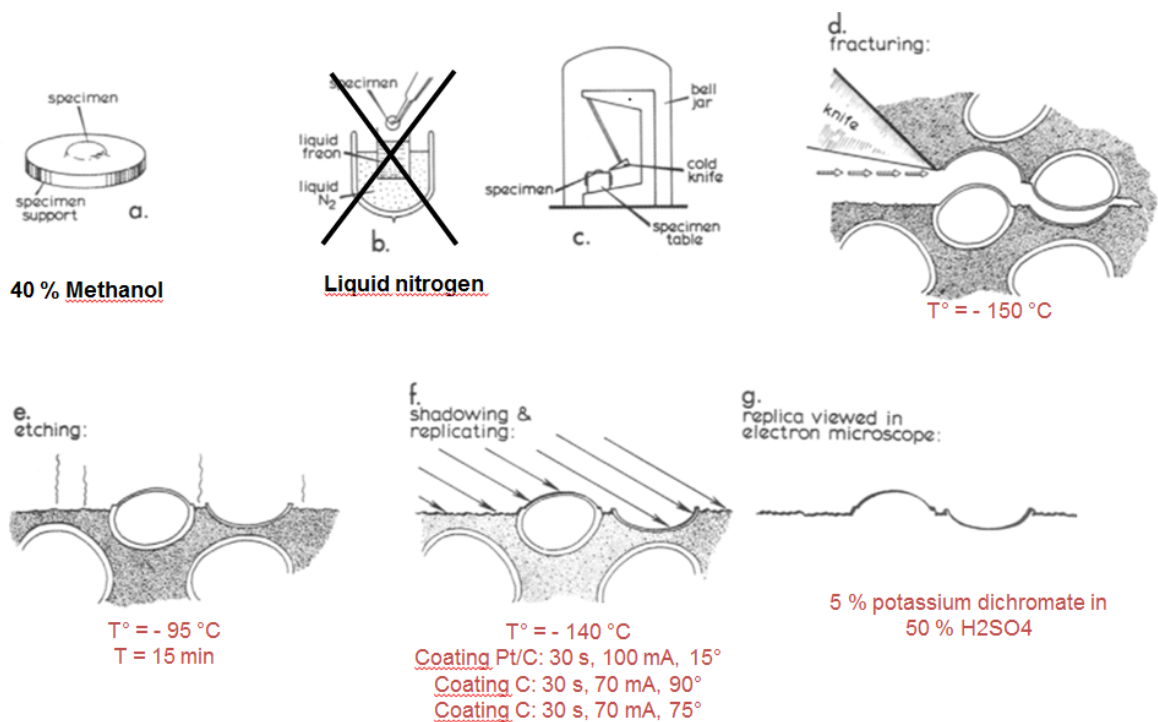
2.3.1.3.1. Préparation "Rapid Freeze and Deep Etching" (RFDE) et observation en microscopie à transmission électronique (TEM)

La congélation rapide de la RFDE se réalise normalement avec du propane à l'état liquide préparé via du propane gazeux passé dans de l'azote liquide (-196 °C). La méthode alternative utilisée lors de mon JSPS Program est de mettre les échantillons de 2 mm x 0,1 mm x 2,5 mm (radial x tangentiel x longitudinal) dans une solution 40 % méthane et le reste d'eau distillée dès qu'ils sont coupés. Ils sont ensuite plongés dans de l'azote liquide au moins 30 s, dans un bac préparé en papier filtre. Les échantillons sont alors transvasés dans un petit tube marqué et percé (sinon le

¹⁷ Station Expérimentale de Kitashirakawa du "Field Science Education and Research Center" de l'Université de Kyoto

tube risque d'explorer sous la pression de l'azote) qui baigne toujours dans l'azote liquide.

La fracture de l'échantillon par une lame rasoir se fait idéalement entre -106 et -150 °C (McCann *et al.* 1990; Fujino & Itoh 1994; Nakashima *et al.* 1997; Hafren *et al.* 1999) au moyen d'un JFD-9010. Le « etching » se déroule pendant 15 min à -95 °C (Fujino & Itoh 1994; Hafren *et al.* 1999). La surface de l'échantillon est ensuite enrobé de Pt/C à un angle de 15 ° et à 2,5 kV, de C à un angle de 90 ° à 70 mA et encore de C à 70 ° et 70 mA (Figure 21).



(Shotton 2006) (Fujino and Itoh, 1994; Nakashima *et al.* 1997; Hafren *et al.* 2000)

3

Figure 21. Schéma du protocole de « Rapid Freeze and Deep Etching » (RFDE) utilisé, modifié d'après Shotton (2006). Les étapes du protocole qui ont été modifiées sont décrites en gras. Les réglages indiqués en rouges ont été suivis (Fujino & Itoh 1994; Nakashima *et al.* 1997; Hafren *et al.* 1999).

Le réplica métallique est isolé par digestion du bois. Pour cela, du collodion 1 % dans de l'isoamyl acétate met un film de protection sur le métal. Du Potassium dichromate 5 % dans 50 % H₂SO₄ est ajouté pendant une nuit entière dans le but de digérer le bois. Les répliques métalliques sont rincés à l'eau (3 x 15 min) puis à 3 x à l'isoamyl acétate pour enlever le collodion. Ils sont posés sur un fin porte objet (copper grid F-200 avec film de solution 1 % FORMVAR dans du chloroforme chauffé dessus) et mis au four.

Des photographies sont ensuite prises avec le TEM.

Après 2 mois d'essais infructueux, le protocole de préparation pour l'observation au microscope à transmission électronique (TEM) n'était pas au point et le réplica métallique se cassait en plusieurs morceaux lors de sa récolte sur le porte objet. Plusieurs morceaux du réplica se superposaient, de sorte qu'il était impossible de localiser une cellule observée par rapport au cambium. En outre, la phase de « etching »

devait probablement être améliorée car certaines cellules étaient remplies d'un liquide lors de l'enrobage métallique, masquant ainsi la couche G. Les observations au TEM n'ont donné aucun résultat satisfaisant.

2.3.1.3.2. Microscopie électronique à balayage à émission de champ (FE-SEM)

L'échantillon est conservé dans de l'eau distillée. Un microtome adapté permet de découper une section radiale de 50 μm d'épaisseur de l'échantillon gelé dans une goutte d'eau. Cette section est transvasée dans de l'eau distillée dégelée. Elle est ensuite déshydratée par des séries de 15 min d'éthanol (30 %, 50 %, 70 %, 80 %, 90 %, 3 x 95 %, 99,5 %), suivies de séries au t-Butanol de 15 min (3 x 100 %). Le pot contenant les sections est couvert d'un bout d'aluminium transpercé et plongé 1 à 2 minutes dans de l'azote liquide (-196 °C) avant de rester 6 h dans le « Freeze Drying » afin d'être mis sous vide.

Certaines sections se courbent lors des manipulations. Les sections les plus planes sont sélectionnées et une lame de rasoir lavée à l'éthanol permet de découper une surface de 5 mm x 5 mm. L'échantillon est collé sur un porte objet à l'aide de scotch double face et couvert d'une couche de Platine (Pt) au moyen d'un Ion Sputter (e-1045) pendant 15 s et avec 30 mA.

Des photographies sont ensuite prises au moyen d'un FE-SEM. Dans le but de décrire le réseau de microfibrilles de cellulose, l'intérieure de la paroi de la couche G est observée depuis le cambium jusqu'à la maturation complète de la fibre.

2.3.1.4. Diffraction par rayon X

L'angle des microfibrilles de cellulose (AMF) est mesuré sur des échantillons de la taille d'une allumette de bois de tension et de bois opposé de 22 individus de 22 espèces différentes via la méthode de diffraction par rayon X (Cave 1966; Yamamoto *et al.* 1993). L'AMF est mesuré par T. Alméras au LMGC de Montpellier. Un deuxième lot de 27 individus de 6 espèces différentes est mesuré par B. Clair. Outre le bois, l'écorce du côté tension et opposé est étudié.

2.3.2. Mesure des contraintes de maturation sur arbres adultes

La déformation consécutive au relâchement des contraintes de maturation est mesurée sur l'écorce et le bois des arbres adultes. Pour la mesure sur écorce, l'écorce externe (suber) est pelée pour atteindre le phloème. Des jauges de déformation biaxiales 0 °/90 ° collées en rosette (Kyowa KFG-5-120-D16-11L1M2S (Kyowa KFG-10-120-C1-11 L1M2R) sont collées sur la face supérieure et inférieure de l'axe incliné et relié à un pont de jauge (P3 Vishay). La méthode de mesure est celle décrite par Clair *et al.* (2013). Les contraintes tangentielles sont libérées en premier, en découpant deux profondes entailles avec un couteau aiguisé, à 5 mm de part et d'autre de la jauge. Ces entailles ne doivent pas entamer le bois. Les contraintes longitudinales sont libérées par deux traits de scie en haut et en bas de chaque

jauge. Ces mesures sont répétées sur le bois, après avoir pelé le cambium. Les mesures sur bois ne se font pas directement sous la mesure d'écorce afin d'éviter une erreur de mesure, au cas où les traits de scie dans l'écorce auraient légèrement entaillé le bois et partiellement relâché les contraintes.

2.3.3. Mesures de contraintes sur les arbres juvéniles (article 2)

2.3.3.1. Avant propos

Pour les arbres juvéniles, le relâchement des contraintes est difficilement mesurable au moyen de jauges de déformation. En effet, lors du relâchement des contraintes les entailles risquent d'entamer du bois normal ou pire, la moelle, sur des petits diamètres. En outre, la mesure est très fluctuante en fonction du mouvement du houppier ou de la tige. L'article 2 propose une méthodologie d'estimation de la contrainte de maturation du bois de tension sur base d'un modèle. Ce modèle nécessite des mesures de courbure de la tige, ainsi que des paramètres morphologiques de la section et du ratio de module du bois de tension sur le bois opposé. Cet article est en cours de préparation, il sera publié après l'ajout de données supplémentaires (Alméras *et al.* in prep.).

Avant de passer à l'article 2, le point 2.3.3.2 expose la mise au point de la partie expérimentale.

2.3.3.2. Compléments de l'Article 2

La méthode détaillée dans l'article 2 pour estimer la contrainte de maturation du bois tension nécessite entre autres des mesures de modules et de courbures. La méthodologie de mesure des modules et des courbures sur des arbres juvéniles a été mise au point durant cette thèse avec l'aide de T. Alméras et B. Clair. Elle est expliquée dans les points suivants.

2.3.3.2.1. Estimation conjointe des modules de bois et d'écorce côtés tendus et opposés

En complément de l'article 2, le protocole initial comprenait un calcul du module de l'écorce de tension et de l'écorce opposée. Deux essais de flexion avec et sans écorce sont réalisés avec 2 jauges collées sur la face inférieure et la face supérieure de respectivement l'écorce puis le bois. Des mesures d'inerties des 4 zones considérées, à savoir écorce normale et écorce de tension et bois normal et de tension, viennent compléter ces essais.

Lors d'un essai de flexion en 4 points, le moment (M) appliqué est uniforme sur la partie entre les bras internes, quels que soient l'hétérogénéité et le défilement de l'échantillon :

$$M = F (L_A - L_F)/4 \quad (5)$$

Avec F la force appliquée (N), L_A la longueur entre les bras externes (mm) et L_F la longueur entre les bras internes (mm) (Figure 22).

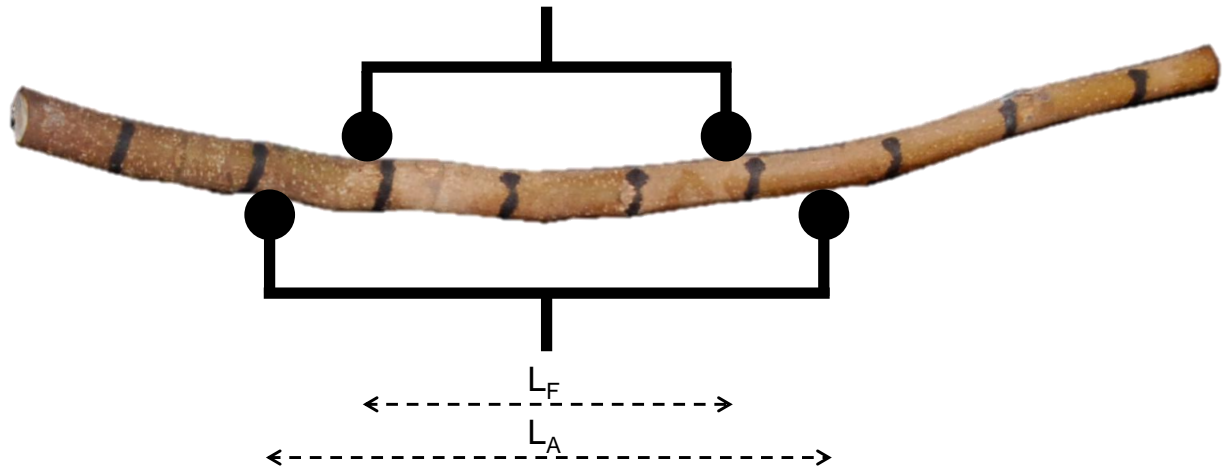


Figure 22. Représentation schématique d'un essai de flexion sur un tronçon de tige de 20 cm. L_F , longueur entre les bras internes et L_A , longueur entre les bras externes.

Durant les essais mécaniques sur bois et sur écorce, 4 déformations sont enregistrées (ε_{BT} , ε_{BO} , ε_{ET} , ε_{EO}), qui donnent directement accès à la position des centres de flexion (x_B^* , x_E^*) et aux courbures (C_B , C_E) durant les essais. Ensuite, les modules de chaque zone sont calculés à partir de ces courbures ainsi que du moment des efforts appliqué, connu via l'équation (5), et des moments d'inertie des zones, calculés à partir des coupes anatomiques.

Les courbures se calculent grâce aux déformations du côté opposé et du côté tension, enregistrées par les jauges de déformation :

$$C_B = (\varepsilon_{BT} - \varepsilon_{BO})/D \quad (6)$$

$$C_E = (\varepsilon_{ET} - \varepsilon_{EO})/D \quad (7)$$

Le Théorème de Thalès permet de calculer les centres de flexion des tronçons avec et sans écorce, x_E^* et x_B^* :

$$x^*/(D - x^*) = \varepsilon_O/\varepsilon_T$$

$$x^* = D\varepsilon_O/(\varepsilon_O + \varepsilon_T) \quad (8)$$

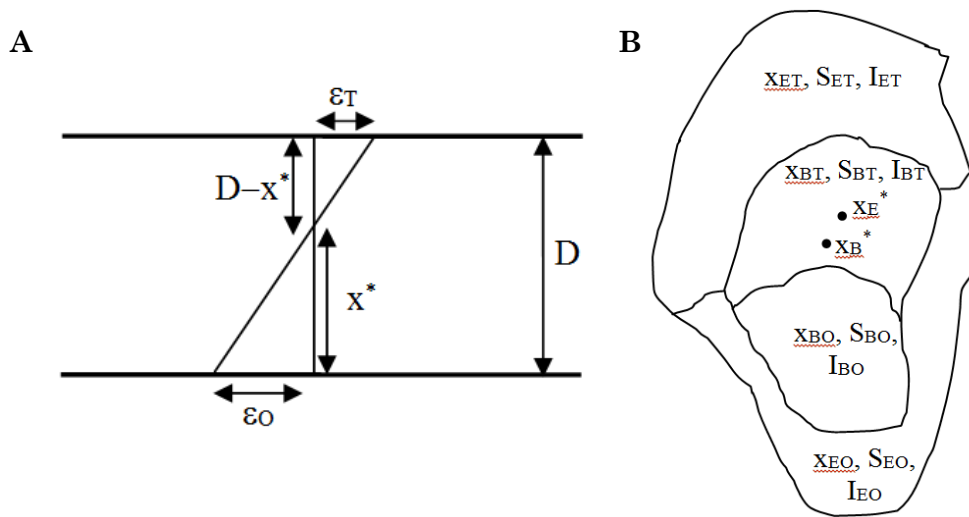


Figure 23. A, Représentation schématique d'un essai en flexion sur un segment hétérogène. B, représentation schématique d'une section hétérogène avec quatre zones : écorce de tension, écorce opposée, bois de tension et bois opposé. ϵ_T , déformation sur le côté tension ; ϵ_O , déformation sur le côté opposé ; D, diamètre de la section ; x^* , centre de flexion de l'essai avec ou sans écorce ; x, centre de gravité d'une zone ; S, surface d'une zone ; I, Inertie d'une zone.

Pour chaque zone, à savoir écorce et bois côté tension ou opposé, le centre de gravité, les surfaces et les moments d'inertie sont connus (notés x_{AB} , S_{AB} et I_{AB} , où A= Bois ou Ecorce, B = Tension ou Opposé). Les inerties sont données ici par rapport à leur repère propre, i.e. par rapport au centre d'inertie de chaque zone

L'inertie dans le repère attaché au centre de flexion est donné par :

$$I_{AB}^* = I_{AB} + S_{AB}(x_{AB} - x_A^*)^2$$

Le moment d'ordre 1 est :

$$J_{AB}^* = S_{AB}(x_{AB} - x_A^*)$$

Et les rigidités associées sont :

$$E_{AB}I_{AB}^* = E_{AB}I_{AB} + E_{AB}S_{AB}(x_{AB} - x_A^*)^2$$

$$E_{AB}J_{AB}^* = E_{AB}S_{AB}(x_{AB} - x_A^*)$$

Le centre de flexion se définit par le fait que $\sum E_{AB}J_{AB}^* = 0$, soit :

$$\sum E_{AB}J_{AB}^* = \sum E_{AB}S_{AB}(x_{AB} - x_A^*) = 0$$

$$\sum E_{AB}S_{AB}x_{AB} - x_A^* \sum E_{AB}S_{AB} = 0$$

$$x_A^* = \sum E_{AB} S_{AB} x_{AB} / \sum E_{AB} S_{AB} \quad (9)$$

Par essai, la somme se fait sur les zones concernées.

Chaque zone contribue à la rigidité totale de la section au travers de l'équation suivante :

$$EI^* = \sum E_{AB} I_{AB}^*$$

En parallèle, l'essai de flexion nous donne $EI^*=M/C$, où M et C sont connus via les équations (5), (6) et (7), d'où :

$$\sum E_{AB} I_{AB}^* = M/C \quad (10)$$

Les inconnues des équations (9) et (10) sont les modules E_{AB} . Pour le cas de l'essai sans écorce, les inconnues E_{BT} et E_{BO} se trouvent dans un système de deux équations à deux inconnues :

$$E_{BT} S_{BT} (x_{BT} - x_B^*) + E_{BO} S_{BO} (x_{BO} - x_B^*) = 0$$

$$E_{BT} I_{BT}^* + E_{BO} I_{BO}^* = M_B / C_B$$

Pour deux équations $ax+by=e$ et $cx+dy=f$, les valeurs de x et y sont données par $x=(ed-fb)/(ad-bc)$ et $y=(af-ce)/(ad-bc)$. Les modules E_{BT} et E_{BO} peuvent donc être calculés.

Pour l'essai avec écorce, les équations (9) et (10) deviennent :

$$E_{BT} S_{BT} (x_{BT} - x_E^*) + E_{BO} S_{BO} (x_{BO} - x_E^*) + E_{ET} S_{ET} (x_{ET} - x_E^*) + E_{EO} S_{EO} (x_{EO} - x_E^*) = 0$$

$$E_{BT} I_{BT}^* + E_{BO} I_{BO}^* + E_{ET} I_{ET}^* + E_{EO} I_{EO}^* = M_E / C_E$$

En prenant x_E^* comme centre de flexion, les deux premiers termes sont connus par le calcul précédent. Les inconnues E_{ET} et E_{EO} se calculent au travers du système à deux inconnues :

$$E_{ET} S_{ET} (x_{ET} - x_E^*) + E_{EO} S_{EO} (x_{EO} - x_E^*) = E_{BT} S_{BT} (x_E^* - x_{BT}) + E_{BO} S_{BO} (x_E^* - x_{BO})$$

$$E_{ET} I_{ET}^* + E_{EO} I_{EO}^* = M_E / C_E - E_{BT} I_{BT}^* - E_{BO} I_{BO}^*$$

2.3.3.2.1.1. Protocole alternatif de mesure de module

Dans la suite des compléments de l'article 2, un protocole alternatif de mesure du module d'élasticité du bois de tension et du bois normal a été utilisé sur 3 échantillons, suite à une panne du logiciel (BOSE). Les déformations du bois opposé et du bois de tension sont toujours enregistrées au moyen de jauges (Kyowa KFG-10-120-C1-11 L1M2R) collées après pelage du cambium. Par contre la charge appliquée (N) est calculée au moyen de quantité d'eau ajouté (L), avec une précision au mL grâce à l'utilisation d'une éprouvette graduée, multiplié par la pesanteur

($g=9,81 \text{ m.s}^{-1}$). L'échantillon est suspendu par des fils de fer passant par un morceau de tuyau métallique afin de minimiser la détérioration de l'échantillon aux appuis. Les distances entre les appuis supérieurs et inférieurs sont respectivement de 43,5 mm et 89 mm. Durant l'expérience, il faut s'assurer que l'échantillon ne tourne pas. En effet, il est moins bien maintenu que dans la machine Bose et a tendance à se tourner légèrement. Après s'être assuré de la stabilité de l'échantillon, 8 points sont pris, pour des quantités d'eau rajoutées allant de 0 à 0,5 L. Les régressions entre la charge et les mesures des jauges inférieure et supérieure montrent des R^2 entre 99 % et 100 % pour chacun des individus. La mesure est très stable.



Figure 24. Protocole alternatif de mesure de module. La force appliquée est calculée selon le volume d'eau rajouté et de la gravité. Des morceaux de tuyau métallique évitent la détérioration de l'échantillon aux appuis.

2.3.3.2.1.2. Résultats des mesures de module d'écorce et de bois

Les mesures de modules d'écorces ont été réalisées sur 41 des 62 individus pour lesquels le module de bois a été mesuré (Figure 25).

Les valeurs de modules d'écorces sont élevés, de l'ordre de 10.000 voire 40.000 MPa, alors que les valeurs de rigidité de l'écorce devraient valoir environ 50 % de ceux du bois, soit environ 600 MPa chez des branches d'espèces tempérées (Niklas 1999). Certains modules d'écorce normale ont en outre des valeurs négatives, alors qu'un module est par définition positif. Certaines valeurs obtenues sont par conséquent aberrantes. La suite de ce point traite les différentes hypothèses permettant d'expliquer les erreurs de mesures pouvant expliquer ces valeurs aberrantes.

L'essai de flexion comprend une compression sur la face supérieure et une traction sur la face inférieure. Normalement, les propriétés élastiques d'un matériau ne dépendent pas du mode de sollicitation, un essai de traction est considéré comme ayant le même effet qu'un essai de compression. Cependant, si on sort du domaine élastique, le bois est moins résistant en compression qu'en tension et il va y avoir un endommagement sur la face comprimée qui va décaler la ligne neutre au cours de l'essai (Figure 26). Afin de vérifier si le domaine élastique n'a pas été dépassé, un essai en dehors de la machine de flexion avec le côté tension sur la face supérieure,

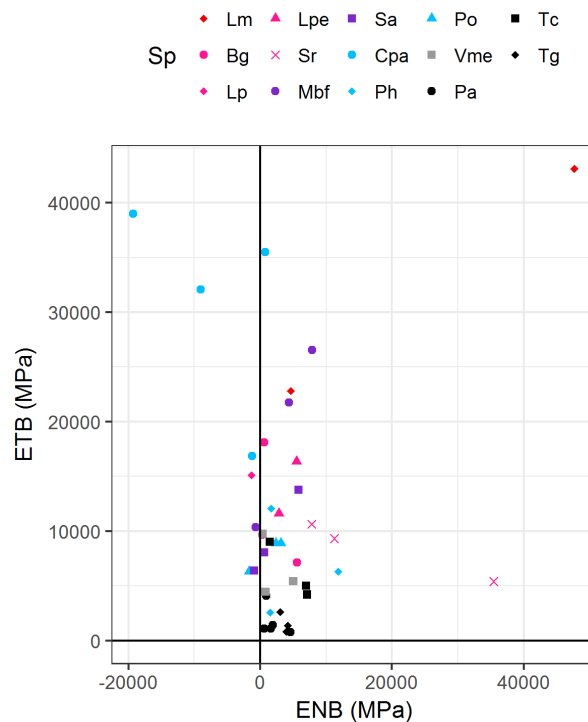


Figure 25. Module de l'écorce de tension (ETB) en fonction du module de l'écorce normale (ENB).

suivi du même essai avec cette fois-ci le côté opposé sur la face supérieure. L'hypothèse à vérifier est que l'écorce pourrait s'endommager ou se décoller au cours de l'essai, ce qui équivaut à dépasser le domaine élastique. Ce double essai a été réalisé sur 9 individus sur écorce et sur 27 individus sur le bois. Sur chaque essai, une bonne linéarité du comportement en tension et en compression est observée sur la gamme de déformation appliquée (points alignés sur la droite grise de la Figure 26). L'hypothèse d'un endommagement ou du décollement de l'écorce est donc écartée.

Pour valider la mesure de déformation par jauge nous l'avons doublé par une mesure de courbure pendant l'essai mécanique grâce à des photos prises durant l'essai. La mesure de courbure sur image a été comparée à la mesure calculée sur base des valeurs de déformation des jauges afin de voir si les deux techniques donnent des courbures similaires, auquel cas la mesure serait correcte et l'écorce aurait un comportement atypique. La comparaison des mesures montre une surestimation systématique d'un facteur deux pour le bois, et une différence très dépendante de l'espèce pour l'écorce (Figure 27). Il y a donc bien un problème de mesure de la déformation pendant l'essai.

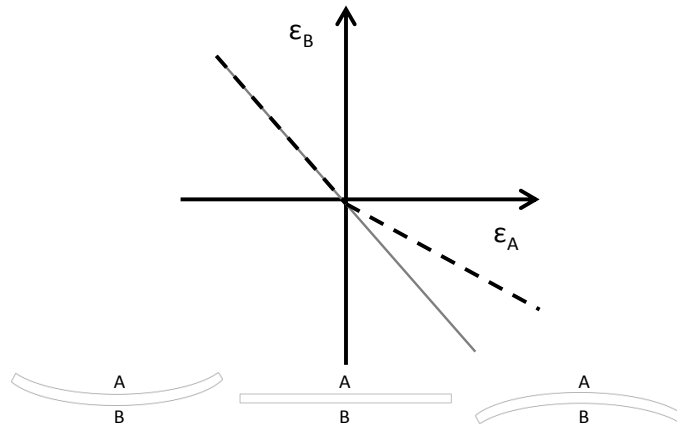


Figure 26. Représentation schématique d'un double essai de flexion, dans un sens puis dans l'autre. ϵ_A , déformation longitudinale sur le côté A et ϵ_B , déformation longitudinale sur le côté B. La droite grise représente un matériau dont la ligne neutre est stable durant le double essai. La droite en pointillé représente un matériau ayant dépassé le domaine élastique et dont la ligne neutre varie au cours de l'essai.

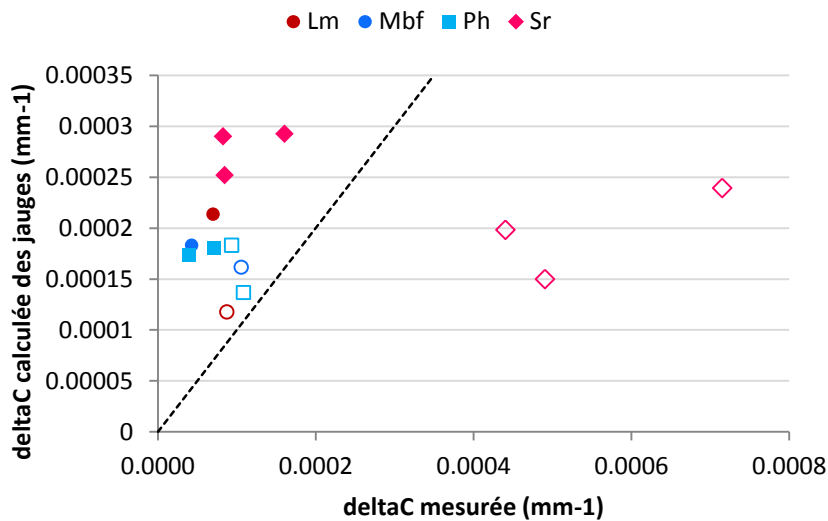


Figure 27. Comparaison de la variation de courbure mesurée sur photographie (deltaC mesurée) et de celle estimée selon les jauges de déformations (deltaC calculée des jauges). Le bois est représenté par des symboles plein et l'écorce par des symboles vides. La droite en pointillés représente la droite $y=x$.

L'hypothèse finale qui pourrait expliquer les valeurs des modules aberrantes est que les appuis provoquent une indentation dans du bois ou de l'écorce lors de l'essai et que cette indentation est perçue par les jauges comme une déformation. En effet, les appuis ont été rapprochés pour la nécessité de la mesure, notamment pour les individus de faible diamètre. Une indentation de l'écorce entraînerait une surévaluation de la contrainte de l'écorce de tension et pourrait expliquer ces valeurs des modules d'écorce. Afin de s'affranchir de ce problème, il faudrait faire des essais de flexion en éloignant les bras internes des jauges.

En conclusion, le module d'écorce de tension et de l'écorce normale n'a pas pu être mesuré. Les valeurs anormales de modules obtenues sont probablement dues à

l'indentation aux appuis. Le ratio de module du bois de tension sur le bois opposé varie entre 0,3 et 4 dans nos mesures, alors que dans la littérature il se situe entre 0,8 et 1,5 (Ruelle *et al.* 2007a). Vu la faible variation de la contrainte de maturation du bois de tension en fonction du ratio de module (Alméras *et al.* in prep.), la décision a été prise d'utiliser un ratio de module théorique de 1 au lieu du ratio de modules mesuré expérimentalement.

2.3.3.2.2. Méthode de mesure de la courbure

Une courbure se définit comme un angle rapporté à une longueur. L'angle en un point d'une courbe se calcule grâce à la tangente à la courbe en ce point.

Le protocole de mesure de courbure que nous avons mis au point a subi quelques améliorations au fil des mesures. Cette mesure se fait sur des arbres artificiellement inclinés et tuteurés pour maximiser la production de bois de tension.

Les mesures sont réalisées à la base de la tige, sur un segment prélevé à moins de 30 cm du sol. Ceci afin d'avoir un segment proche de la base, pour maximiser la formation de bois de tension, tout en ayant la possibilité d'éviter certains défauts (graine qui dépasse du sol, bourrelet, etc). Afin de mesurer la courbure, 9 traits sont tracés sur un segment de 20 cm de la tige. Une première photo est prise du segment dans l'arbre encore tuteuré et incliné. Puis l'arbre est coupé et le segment découpé est posé à terre, afin de supprimer les effets de poids propre. Une deuxième photo est prise. La différence de courbure entre les deux états permet de calculer la courbure affectée à la libération du tuteur ou autrement dit, la courbure de Spring-back. L'échantillon est amené au laboratoire dans un sachet hermétique, afin d'éviter tout dessèchement de la tige. Les photos avant et après écorçage d'une portion de 5 cm du segment servent à calculer la courbure due à l'écorçage. Des photos additionnelles ont été prises pour vérifier que la courbure ne soit pas affectée par l'acheminement vers le laboratoire, ou par la mesure du module de l'écorce pour les 3 échantillons par espèces concernés.

Une première méthode de mesure de la courbure consistait à localiser 9 points le long du segment, correspondant aux 9 traits tracés, en utilisant ImageJ et à ajuster une fonction polynomiale dessus. L'angle utilisé pour calculer la courbure est calculé grâce à la tangente en un point de la fonction polynomiale, dans une feuille de calcul Excel mise au point par T. Alméras. La seconde méthode ne prend en compte que 4 points le long du segment et utilise l'angle entre l'intersection des deux tangentes pour calculer la courbure.

La comparaison de ces deux méthodes montre que la courbure calculée au moyen de la fonction polynomiale, plus complexe, sous-estime la courbure par rapport à la méthode en 4 points, et calcule même quelques courbures négatives malgré une réaction positive de toutes les espèces. En effet certaines espèces ont des tiges tortueuses et la fonction polynomiale s'ajuste mal pour ces individus. La deuxième méthode est donc préférée.

2.3.3.3. Article 2: Quantifying the motor power of trees¹⁸

Tancrede Almeras¹, Barbara Ghislain², Bruno Clair², Amra Secerovic³, Gilles Pilate³, Meriem Fournier⁴

¹Laboratoire de Mécanique et Génie Civil (LMGC), CNRS, Université de Montpellier, cc 048, Place E. Bataillon, 34095 Montpellier, France

²CNRS, UMR EcoFoG, AgroParisTech, Cirad, INRA, Université des Antilles, Université de Guyane, 97310 Kourou, France

³AgroParisTech, UMR 1092 LERFOB, 54000 Nancy, France

2.3.3.3.1. *Abstract*

Trees need a motor system to grow upright in the field of gravity. This motor function is taken on by reaction wood, a special kind of wood that typically develops in leaning axes and generates mechanical force during its formation, curving up the stem and counteracting the effect of gravity or other mechanical disturbances. Quantifying the mechanical stress induced in wood during maturation is essential to many areas of research ranging from tree architecture to functional genomics. Here we present a new method for quantifying wood maturation stress. It consists in tilting a tree, tying it to a pole, letting it grow in tilted position, and recording the change in stem curvature that occurs when the stem is released from the pole. A mechanical model is developed to make explicit the link between the change in curvature, maturation strain and morphological traits of the stem section. A parametric study is performed to analyse how different parameters influence the change in curvature. This method is applied to the estimation of maturation strain in two different datasets. Results show that the method is able to discriminate between genotypes. As predicted by the model, we observe that the change in stem curvature is correlated to stem diameter and diameter growth. In contrast, wood maturation strain is intrinsically independent from these dimensional effects, and is suitable as an intensive parameter characterizing the magnitude of the plant's gravitropic reaction.

2.3.3.3.2. *Introduction*

Trees are tall slender vertical structures. Their stability is challenging different external forces, such as wind and gravity. Their mechanical design is adapted to withstand these constraints. This is achieved for example by a strong anchorage and a stiff trunk, made of a stiff and light material, namely wood. These features are part of the tree “skeletal system” (Mouliat *et al.* 2006), and are a necessary condition for its stability in the terrestrial environment. This is not, however, a sufficient condition. Growing straight and vertical also involves the action of a “motor system” (Mouliat *et al.* 2006). This is related to the way of growing of the tree. The diameter

¹⁸ Contribution: récolte des données sur les arbres tropicaux pour l'étude paramétrique. Collecte de graines et des plantules et croissance des arbres; installation expérimentale en serre; mesures de courbures, des paramètres anatomiques et des inerties; organization de la base de données; discussion et amélioration du manuscrit.

growth of the stem is achieved by the addition of new wood layers at its external surface. During growth, the load applied on the tree by gravity (i.e. the self-weight) increases at the same time the structure itself increases in size. Because a tree is never perfectly symmetric, the increase in load induces a downward bending movement of the stem. Later growth increments will be added on a bent structure, acting with a larger lever arm, thus inducing further increase in bending moment and change in stem curvature. This situation would always lead to a weeping structure if the effect of gravity was not actively counteracted by the action of a motor system (Fournier *et al.* 2006; Alméras & Fournier 2009).

Trees are able to induce forces in their wood, in a way similar to the muscles of animals, although the underlying mechanism differs (Alméras & Clair 2016). Normal wood induces forces of low magnitude, while large magnitude is achieved by the production of a special kind of wood, called reaction wood. This wood tends to contract (tension wood) or expand (compression wood) after it is formed. Because this dimensional change is impeded, mechanical stress is induced in wood (Archer 1986). As reaction wood is produced only either on the upper side (tension wood) or on the lower side (compression wood) of a tilted stem, the formation of a new wood layer induces asymmetric distribution of stress. This reaction is generally accompanied with eccentric growth (faster radial growth on the side with reaction wood) and changes in wood elastic properties (Alméras *et al.* 2005; Clair & Thibaut 2014), increasing the asymmetry of forces and thus the bending moment. This results in an upward bending moment, able to bend up the tree or just compensate for the effect of increasing weight (Alméras & Fournier 2009; Huang *et al.* 2010).

The magnitude of the mechanical stress induced in wood is quantified through the so called “maturation strain”. This parameter can be defined as the strain that would have been induced during its formation if it were not impeded by surrounding material. Quantifying this parameter is of major importance in different kinds of studies. In forest and wood sciences, the mechanical stresses induced in wood have important economic consequences. They are cumulated over time within the stem (Archer 1986; Kubler 1987), and cause cracks and deformations when felling the tree or sawing the logs. In ecology, this parameter is important to quantify the diversity in this major function of trees (Clair *et al.* 2006; Alméras *et al.* 2009; Fournier *et al.* 2013) and possible trade-offs with other functions (Alméras *et al.* 2009). In botany, accounting for the action of tension wood is necessary to understand how tree architecture is achieved (Fisher & Stevenson 1981). In plant physiology, this parameter is relevant to studies of gravitropism (Coutand *et al.* 2007; Bastien *et al.* 2013), i.e. the way by which plant perceive and react to gravity, in order to quantify the response (mechanical stress) to a stimulus (gravity). Tension wood expression has been taken as a model for functional genomics of wood formation (Pilate *et al.* 2004b). Quantifying tension wood maturation stress is also essential to studies aiming at understanding, at molecular scale, the mechanism by which the plant is able to generate forces (as reviewed in Alméras & Clair 2016).

The usual method for quantifying maturation strain is the released strain method. It consists in releasing the stress at the tree surface and recording subsequent

strains. Practically, this is done by setting a LVDT or strain gage at the stem surface, and cutting two grooves above and below the sensor. The released strain is assumed equal to maturation strain. This assumption is based on the fact that the wood layer at the outermost surface of the stem have been deposited recently. If the trunk is stiff enough and radial growth quick enough, associated increment in external loads has induced negligible stress increment on this layer, so that it is in a nearly native state i.e. loaded by maturation strain only. Theoretically, this would be true for any tree in active diameter growth, provided the strain is measured at the tree surface and completely released. However, practically, the operation of strain release is made with a sensor of finite length and making grooves of finite depth (Yoshida 2002). If the grooves are too shallow, not all the stress can be released so that maturation strain is underestimated. If the grooves are too deep, then older layers are also released and the mean state of stress of the probed wood layers is not native. Experiments and calculations show that, because of maturation strains and their accumulation over time, the field of stress in a tree stem has a specific shape (Kubler 1987). In particular, below the tree surface there is a stress gradient, so that the mean stress on a finite depth differs from the surface stress. Moreover, if the changes in tree self-load are quicker than the increase in diameter, the increment of mechanical stress due to external action is no more negligible, so that the outer layer is not in a native state, and the released strain differs from maturation strain.

These metrological issues are particularly important when young stems or branches are studied, as is the case for most studies in a biological context (e.g. Lafarguette et al. 2004; Alméras et al. 2006; Nishikubo et al. 2007; Clair et al. 2011; Coutand et al. 2014; Gorshkova et al. 2015; Roussel & Clair 2015). For small trees, scaling effects make the stem more sensitive to changes in external weight, and the finiteness of the experimental method is more constraining, so that measurement of maturation strains with the released strain method fails. An alternative method has been proposed to quantify maturation strains during up-righting movement of tilted plant (Coutand *et al.* 2007). The method consists in tilting a plant and recording its free up-righting movement. Using a mechanical model, we (Fournier *et al.* 2006; Alméras & Fournier 2009) made explicit the relation between the variation in curvature (in response to the development of asymmetric maturation strains), dimensions of the section, growth rate, characteristics of the section and reaction wood maturation strain. This model can be used to deduce the maturation strain from the measured change in curvature and the morphological parameters of the stem, as done in Coutand et al. (2007) and Alméras *et al.* (2009). This method does not face the same metrological issues as the released strain method, and has the great advantage to be non-destructive as it can be applied during the reaction. It has however some drawbacks. The change in stem curvature on a finite period of time actually depends on the effect of maturation strain and the change in self-weight, and a correction has to be used to cancel the latter (Alméras *et al.* 2009). Moreover, another problem is that during the up-righting movement of the stem, the reaction is not constant in space nor in time. Indeed, the up-righting movement is accompanied by a straightening movement (Coutand *et al.* 2007; Bastien *et al.* 2013) involving pro-

duction of reaction wood on the opposite side of the distal parts of the stem (Coutand *et al.* 2007). Therefore, this method has to be used locally on the stem and for small periods of time, making it heavy to use.

Here we propose an alternative method, aiming at being more precise and less time-consuming than existing methods. The method consists in tilting a stem, fasten it to a pole, and let it grow in this constrained configuration. At the end of the experiment, the stem is released from the pole and the spring-back movement of the stem is recorded as a change in curvature. Then, a mechanical model can be used to infer the maturation strain from this change in curvature and morphological parameters of the stem (such as its size, growth rate, and eccentricity). The mathematical formulation of this model will be first shown and then used to perform a parametric study analysing the dependence between morphological parameters and change in stem curvature. In order to demonstrate its potential in comparison to other existing methods, this new method has been applied onto two datasets.

2.3.3.3.3. Modelling stem reaction

2.3.3.3.3.1. Summary of this section

In this section we make explicit the relation between the change in curvature at the level of a stem section, the value of reaction wood maturation strain, and other parameters describing the section, such as initial diameter, diameter increment, eccentricity and variations in elastic modulus. This derivation is shown for three representations of the stem section: a general representation, a model based on sine circumferential variations of properties, and a model based on step variations in properties (as described in next section, Figure 28). For each representation of the section, two cases will be considered. In the first case, we compute the change in curvature of the stem freely up-righting during growth. In the second case, the stem is restrained during growth by tying it to a pole, and we compute the change in curvature of the stem when releasing it from the pole.

Formulation of the problem is based on beam theory and its application to a growing structure (Archer 1986). For the sine model (similar to Fournier *et al.* 2006; Alméras & Fournier 2009), explicit formulae are provided to link maturation strain and curvature, in the free up-righting case (eq. (37)) and in the restrained case (eq. (41)). For the step-variation model, the basic equations enabling numerical computation of the model are provided. The reader not interested in mathematical developments may jump to the “Parametric study” section.

2.3.3.3.3.2. Representations of a growing stem section

Three representations will be used to derive the model. The first (Figure 28.A) is suitable for the derivation of a general formulation, and later applied to parametric representations. The second representation (Figure 28.B) is based on that used by Alméras & Fournier (2009), with an eccentric growth ring with sinusoid variations of properties. These sine variations have interesting mathematical properties enabling the development of an explicit analytic formulation, but are not completely realistic to describe circumferential variations in maturation strain. The real situation is not antisymmetric between the side with reaction wood and the opposite

side, particularly in the case of tension wood: reaction wood is generally located in a sector, and the circumferential variations in maturation strain are not as smooth as described with the sine model. The last representation (Figure 28.C) is therefore considering a sector of reaction wood, and will be used to derive a more accurate representation as described later. In present study, we illustrate the case of tension wood, but formulations remain correct when compression wood is considered.

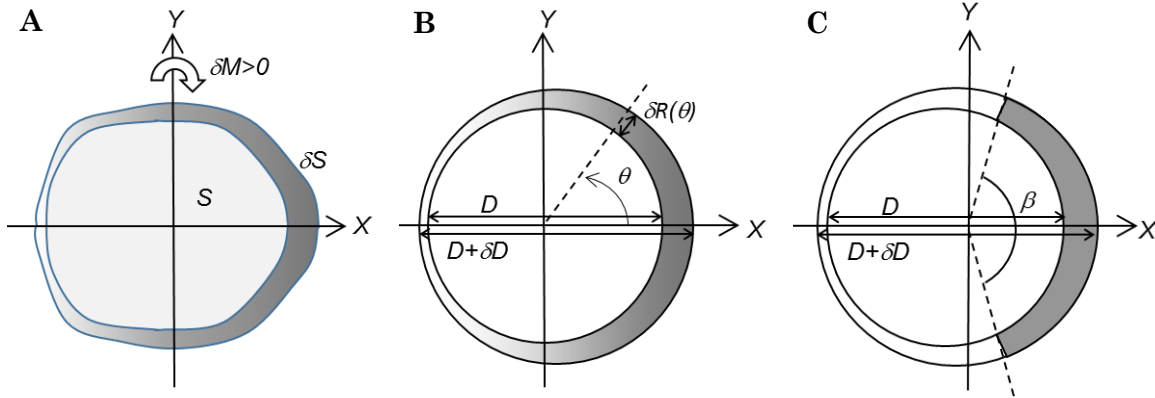


Figure 28. Representations of a growing stem section. (A) Section of any shape with bilateral symmetry. The initial section is S and the section increment is δS . Variation in grey level represent any variations in mechanical properties around the circumference of the section. Tissues with larger tension on the right side generate a bending moment δM whose sign is indicated on the figure. (B) Representation with circular shape and sine variations in material properties. The initial section has diameter D and the newly grown ring $D + \delta D$. The growth ring is supposed eccentric and the ring thickness at angle θ is $\delta R(\theta)$. Variation in grey level represent sine variations in mechanical properties around the circumference of the section. (C) Representation with circular shape, step variations in material properties and eccentric growth ring. Grey area represents the sector of reaction wood (here tension wood), with angular extension β and specific mechanical properties.

2.3.3.3.3. General formulation

The formulation of the problem is based on beam theory. As the problem is assumed to have bilateral symmetry, only one component of the curvature (namely around Y, Figure 28) is considered.

Let us consider a section growing between t and $t + \delta t$ by adding a section increment δS . The section is submitted to internal loads increment due to impeded maturation strains $\delta\alpha$ distributed over the section, and external loads increment inducing a normal resultant force δN_{ext} and a bending moment δM_{ext} . These loads generate strains $\delta\varepsilon$ and stresses $\delta\sigma$ distributed within the section, resulting in an axial contraction $\delta\varepsilon_0$ and a change in curvature δC at the section level.

We consider that wood has elastic behaviour with prescribed strain, so that it follows Hooke's law:

$$\delta\sigma = E(\delta\varepsilon - \delta\alpha) \quad (11)$$

where E is the elastic modulus of the material.

According to Bernoulli hypothesis underlying beam theory, the strain at a given position in the section is:

$$\delta\varepsilon = \delta\varepsilon_0 - x\delta C \quad (12)$$

Where x is the distance to the centre of the section and $\delta\varepsilon_0$ is the strain at the level of the centre of the section.

The condition for static equilibrium is:

$$\delta N_{ext} = \iint_S \delta\sigma ds \quad (13)$$

$$\delta M_{ext} = - \iint_S x\delta\sigma ds$$

Combining equations (11) and (13) we obtain:

$$\delta N_{ext} = \iint_S E\delta\varepsilon ds - \iint_S E\delta\alpha ds \quad (14)$$

$$\delta M_{ext} = - \iint_S xE\delta\varepsilon ds + \iint_S xE\delta\alpha ds$$

We consider that the maturation strain is non-zero only on the newly produced wood ring, hence:

$$\delta\alpha = 0 \text{ on } S \quad (15)$$

$$\delta\alpha = \alpha \text{ on } \delta S$$

Combining equations (14) and (15) we obtain:

$$\delta N_{ext} = \iint_S E\delta\varepsilon ds - \iint_{\delta S} E\alpha ds \quad (16)$$

$$\delta M_{ext} = - \iint_S xE\delta\varepsilon ds + \iint_{\delta S} xE\alpha ds$$

We define the axial force and bending moment induced by maturation as:

$$\delta N_{mat} = \iint_{\delta S} E\alpha ds \quad (17)$$

$$\delta M_{mat} = - \iint_{\delta S} x E \alpha ds$$

We define the terms of stiffness of the section as:

$$K_0 = \iint_S E ds \quad (18)$$

$$K_1 = - \iint_S x E ds$$

$$K_2 = \iint_S x^2 E ds$$

Combining equation (8), (16), (17) and (18) and considering an infinitesimal growth increment ($\delta S \rightarrow dS$) we obtain:

$$\frac{d\varepsilon_0}{dS} K_0 + \frac{dC}{dS} K_1 = \frac{dN_{ext}}{dS} + \frac{dN_{mat}}{dS} \quad (19)$$

$$\frac{d\varepsilon_0}{dS} K_1 + \frac{dC}{dS} K_2 = \frac{dM_{ext}}{dS} + \frac{dM_{mat}}{dS}$$

2.3.3.3.3.1. Case of free up-righting

In the case of free up-righting, the external loads are zero:

$$\frac{dN_{ext}}{dS} = 0 \quad (20)$$

$$\frac{dM_{ext}}{dS} = 0$$

The elementary variation in curvature can be deduced from (19) and (20):

$$\frac{dC}{dS} = \frac{K_0 dM_{mat}/dS - K_1 dN_{mat}/dS}{K_0 K_2 - K_1^2} \quad (21)$$

The total variation in curvature for a section growing from S_0 to S_1 is obtained by integration:

$$\Delta C = \int_{S_0}^{S_1} \frac{dC}{dS} dS \quad (22)$$

2.3.3.3.3.2. Case of restrained stem

In the restrained case, the external resultant force and the change in curvature are zero:

$$\frac{dN_{ext}}{dS} = 0 \quad (23)$$

$$\frac{dC}{dS} = 0$$

The increment in external bending moment can be deduced from (19) and (23):

$$\frac{dM_{ext}}{dS} = \frac{K_1}{K_0} \frac{dN_{mat}}{dS} - \frac{dM_{mat}(t)}{dS} \quad (24)$$

The total variation in bending moment for a section growing from S_0 to S_1 can be obtained by integration:

$$\Delta M_{ext} = \int_{S_0}^{S_1} \frac{dM_{ext}}{dS} dS \quad (25)$$

The final change in curvature when releasing the stem from the pole is:

$$\Delta C = -\Delta M_{ext} \frac{K_0(S_1)}{K_0(S_1)K_2(S_1) - K_1^2(S_1)} \quad (26)$$

Note that this model, although general, neglects the effect of bark, whose stiffness and thickness are generally low.

2.3.3.3.3.4. Simplified analytical model with sine variations of material properties

The first model is based on the representation of a stem section similar to Alméras & Fournier (2009).

The section is assumed circular, with sine variations of material properties:

$$\alpha(\theta) = \bar{\alpha} + \frac{\Delta\alpha}{2} \cos(\theta) = \bar{\alpha}(1 + k_\alpha \cos\theta) \quad (27)$$

$$\alpha E(\theta) = \bar{E} + \frac{\Delta E}{2} \cos(\theta) = \bar{E}(1 + k_E \cos\theta) \quad (28)$$

With:

$$k_\alpha = \frac{\Delta\alpha}{2\bar{\alpha}} = \frac{\alpha(0) - \alpha(\pi)}{\alpha(0) + \alpha(\pi)}$$

$$k_E = \frac{\Delta E}{2\bar{E}} = \frac{E(0) - E(\pi)}{E(0) + E(\pi)}$$

Variations in ring thickness due to eccentric growth are defined by:

$$\delta R(\theta) = \delta\bar{R}(1 + k_O \cos\theta) \quad (29)$$

With:

$$k_O = \frac{\delta R(0) - \delta R(\pi)}{\delta R(0) + \delta R(\pi)}$$

Combining equations (17), (27), (28) and (29), the bending moment induced by maturation can be computed as:

$$\begin{aligned} \delta M_{mat} &= -\delta\bar{R}\bar{E}\bar{\alpha} \int_0^{2\pi} R \cos\theta (1 + k_O \cos\theta)(1 + k_E \cos\theta)(1 + k_\alpha \cos\theta) R d\theta \\ &= -\pi R^2 \delta\bar{R}\bar{E}\bar{\alpha} \left(k_\alpha + k_E + k_O + \frac{3}{4} k_\alpha k_E k_O \right) \end{aligned} \quad (30)$$

(integrals of cosine power functions are provided in appendix)

2.3.3.3.4.1. Case of free up-righting

Assuming that the neutral line is at the geometric centre of the section, $K_1 = 0$, equation (21) reduces to:

$$\delta C = \frac{\delta M_{mat}}{K_2} \quad (31)$$

For a circular cross section with mean modulus of elasticity \bar{E} , the bending stiffness is given by:

$$K_2 = \bar{E} \frac{\pi R^4}{4} \quad (32)$$

Combining equations (30), (31) and (32), the curvature increment is:

$$\delta C = -4\bar{\alpha} \frac{\delta\bar{R}}{R^2} \left(k_\alpha + k_E + k_O + \frac{3}{4} k_\alpha k_E k_O \right) \quad (33)$$

Considering that $D = 2R$ and $\delta D = 2\delta\bar{R}$, this can be put in the same form as in Alméras & Fournier (2009):

$$\delta C = -4\Delta\alpha f \frac{\delta D}{D^2} \quad (34)$$

With the form factor f defined as:

$$f = 1 + (k_E + k_O)/k_\alpha + \frac{3}{4}k_E k_O \quad (35)$$

From equation (34) and considering an infinitesimal diameter increment ($\delta D \rightarrow dD$) it comes that:

$$\frac{dC}{dD} = -\frac{4\Delta\alpha f}{D^2} \quad (36)$$

The total variation in curvature is obtained by integrating:

$$\Delta C = \int_{D_0}^{D_1} \frac{dC}{dD} dD = 4\Delta\alpha f \left(\frac{1}{D_1} - \frac{1}{D_0} \right) \quad (37)$$

2.3.3.3.4.2. Case of restrained stem

Assuming the neutral line is at the geometric centre of the section, $K_1(t) = 0$, equation (24) reduces to:

$$dM_{ext} = -dM_{mat} \quad (38)$$

Considering that $D = 2R$ and $\delta D = 2\delta\bar{R}$ and rearranging (30), we obtain:

$$\frac{dM_{mat}}{dD} = -\frac{\pi}{16} D^2 \bar{E} \Delta\alpha f \quad (39)$$

Applying equations (25), we obtain:

$$\Delta M_{ext} = -\int_{D_0}^{D_1} dM_{mat} = -\frac{\pi}{16} \bar{E} \Delta\alpha f \frac{D_1^3 - D_0^3}{3} \quad (40)$$

Considering (19) and (32), the variation in curvature when releasing the stem from the pole is:

$$\Delta C = \frac{\Delta M_{ext}}{K_2(t_1)} = -\frac{4}{3} \Delta\alpha f \frac{D_1^3 - D_0^3}{D_1^4} \quad (41)$$

2.3.3.3.3.5. Model with step distribution of material properties

Reaction wood is here assumed to be located in a sector of the ring, given by angular extension β . The remaining of the section is supposed to be made of normal wood.

The distribution of material properties E and α is assumed uniform over each sector.

The maturation loads are then given as:

$$\begin{aligned}
N_{mat} &= \iint_{\delta S} E\alpha \, ds = \alpha_{RW}E_{RW} \iint_{\delta S_{RW}} ds + \alpha_{NW}E_{NW} \iint_{\delta S_{NW}} ds \\
&= \alpha_{RW}E_{RW}\delta S_{RW} + \alpha_{NW}E_{NW}\delta S_{NW} \\
\delta M_{mat} &= - \iint_{\delta S} xE\alpha \, ds = -\alpha_{RW}E_{RW} \iint_{\delta S_{RW}} xds - \alpha_{NW}E_{NW} \iint_{\delta S_{NW}} xds \\
&= -\alpha_{RW}E_{RW}\delta J_{RW} - \alpha_{NW}E_{NW}\delta J_{NW}
\end{aligned} \tag{42}$$

S and J are the area and the first moment of area, with subscript RW for reaction wood and NW for normal wood, and δ indicates their increment. Let I be the second moment of area. For each radius increment δR , the increment in area and moments of area relative to the centre of the ring of an eccentric sector limited by angle θ_1 and θ_2 are:

$$\begin{aligned}
\delta S_{\theta_1, \theta_2}^* &= R\delta\bar{R} \int_{\theta_1}^{\theta_2} (1 + k_o \cos\theta) d\theta = R\delta R(\phi_0(\theta_1, \theta_2) + k_o\phi_1(\theta_1, \theta_2)) \\
\delta J_{\theta_1, \theta_2}^* &= R^2\delta\bar{R} \int_{\theta_1}^{\theta_2} \cos\theta(1 + k_o \cos\theta) d\theta = R^2\delta R(\phi_1(\theta_1, \theta_2) + k_o\phi_2(\theta_1, \theta_2)) \\
\delta I_{\theta_1, \theta_2}^* &= R^3\delta\bar{R} \int_{\theta_1}^{\theta_2} \cos^2\theta(1 + k_o \cos(\theta)) d\theta = R^3\delta R(\phi_2(\theta_1, \theta_2) + k_o\phi_3(\theta_1, \theta_2))
\end{aligned} \tag{43}$$

Where ϕ_0 , ϕ_1 , ϕ_2 and ϕ_3 are integrals of cosine powers provided in appendix.

Area and moments of area for the computation of loads and stiffness must be computed relative to a fixed reference. For an eccentric case, the centre of the section is not fixed. The fixed reference is taken at the pith, i.e. the centre of the initial section of radius R_0 . The position of the centre of a ring with radius R relative to the pith is given by:

$$x_0 = k_o(R - R_0) \tag{44}$$

Increments in moments of area computed at the pith δS , δJ , δI can be deduced from those computed at the centre of the section δS^* , δJ^* , δI^* :

$$\delta S = \delta S^*$$

$$\delta J = \delta J^* + x_0\delta S^*$$

$$\delta I = \delta I^* + x_0^2 \delta S^* \quad (45)$$

Moment of area for reaction and normal wood sectors can be computed from these equations. The loads (normal force and bending moment) can be deduced using (41). Stiffness increments for an increment in section are given by:

$$\begin{aligned} \delta K_0 &= \iint_{\delta S} E ds = E_{RW} \delta S_{RW} + E_{NW} \delta S_{NW} \\ \delta K_1 &= \iint_{\delta S} xE ds = E_{RW} \delta J_{RW} + E_{NW} \delta J_{NW} \\ \delta K_2 &= \iint_{\delta S} x^2 E ds = E_{RW} \delta I_{RW} + E_{NW} \delta I_{NW} \end{aligned} \quad (46)$$

Total stiffness terms K_0 , K_1 , K_2 can be computed by integration. Any radial pattern of variations in modulus of elasticity and eccentricity can be considered with this formulation. In particular, the presence of a pith with finite diameter and negligible stiffness can easily be taken into account.

The variations in curvature in the free up-righting and restrained cases can be deduced from equations (21)-(22) and (25)-(26) respectively.

2.3.3.3.6. Model implementation and inversion

Above described models enable the calculation of the variation in curvature ΔC as a function of section's parameters, and in particular the value the maturation strain of reaction wood. For the sine model, the solution can be obtained analytically from equations (37) and (41). The step-variation model has to be computed numerically. It was simply implemented using Microsoft Excel and Visual Basic. The estimation of reaction wood maturation strains α_{RW} can be obtained by inversion of the model. As the dependence of ΔC in α_{RW} is linear, this inversion is trivial.

2.3.3.3.4. Parametric study: influence of section parameters on the magnitude of reaction

This parametric study aims on one hand at analysing the influence of the section parameters on the performance of the reaction, namely the variation in curvature, and on the other hand at comparing the result of the analytical sine model and the numerical step model. This analysis will be conducted on the two cases considered, namely free up-righting and restrained stem. The section parameters are illustrated in Figure 31. The central values used for the study (Table 2) are close to the mean value measured in the experimental study described later. For each parameter, the range of variation represents a reasonable range of biologically meaningful values for broad-leaf trees, i.e. trees with tension wood. The response to each parameter is computed for fixed value of other parameters.

Table 2. Range of values used for the parametric study. TW: tension wood, NW: normal wood, MOE: modulus of elasticity.

	<i>Unit</i>	<i>Central value</i>	<i>Range</i>
Initial diameter	mm	5	1-10
Relative diameter increment	-	0.5	0 – 3
Pith relative radius	-	0.4	0 – 0.95
TW extension	°	135	0 – 180
Eccentricity	-	0.67	0 – 0.95
NW MOE	MPa	2800	1000 – 10000
TW/NW MOE	-	1.2	0.5 – 2
Maturation strain TW	μstrain	-5000	-500 – -10000

2.3.3.3.4.1. Analysis of the influence of sections parameters

Results are shown on Figure 29. In this section, only the results of the model with step variations in properties (solid lines) will be commented. The comparison with the sine model (dashed lines) will be commented in next section.

Results show that in all cases the variation in curvature is lower in the restrained case compared to the free up-righting case. This can be easily explained considering the difference between the two cases. In the restrained case, the bending moment accumulated during growth is applied on the final structure, with large stiffness. In contrast, in the case of free up-righting, each moment increment is applied to the structure at the time it appears, so that early increment are applied on a structure with lower stiffness, inducing a larger change in curvature.

Figure 29-a shows that the variation in curvature has strong inverse response to the section diameter, as could be predicted from equations (37) and (41). Figure 29-b shows that for the free up-righting case the reaction increases as the relative radius increment increases, due to the fact that variations in curvature are cumulated during growth. By contrast, in the restrained case, the response presents optimum for a relative increment close to 50%. The occurrence of this optimum can be deduced from equation (41). This has consequences on the practical application of this model, i.e. experimental determination of tension wood maturation strain. Obtaining a maximal reaction by setting a 50% diameter increment improves the accuracy of this measurement as it decreases the relative error on the estimation of curvature.

Figure 29-c shows that the response of the curvature is linear in the value of tension wood maturation strain for both cases, as predicted from the equations. This strong response shows that, as previously stated (Fournier *et al.* 2006), tension wood maturation strain acts as a first-order effect, being the motor of the reaction. The extension of tension wood (Figure 29-d) is also a first order effect, although it

has concave shape in both cases, so that the response is less sensitive for large values of tension wood extension (typically values larger than usually observed).

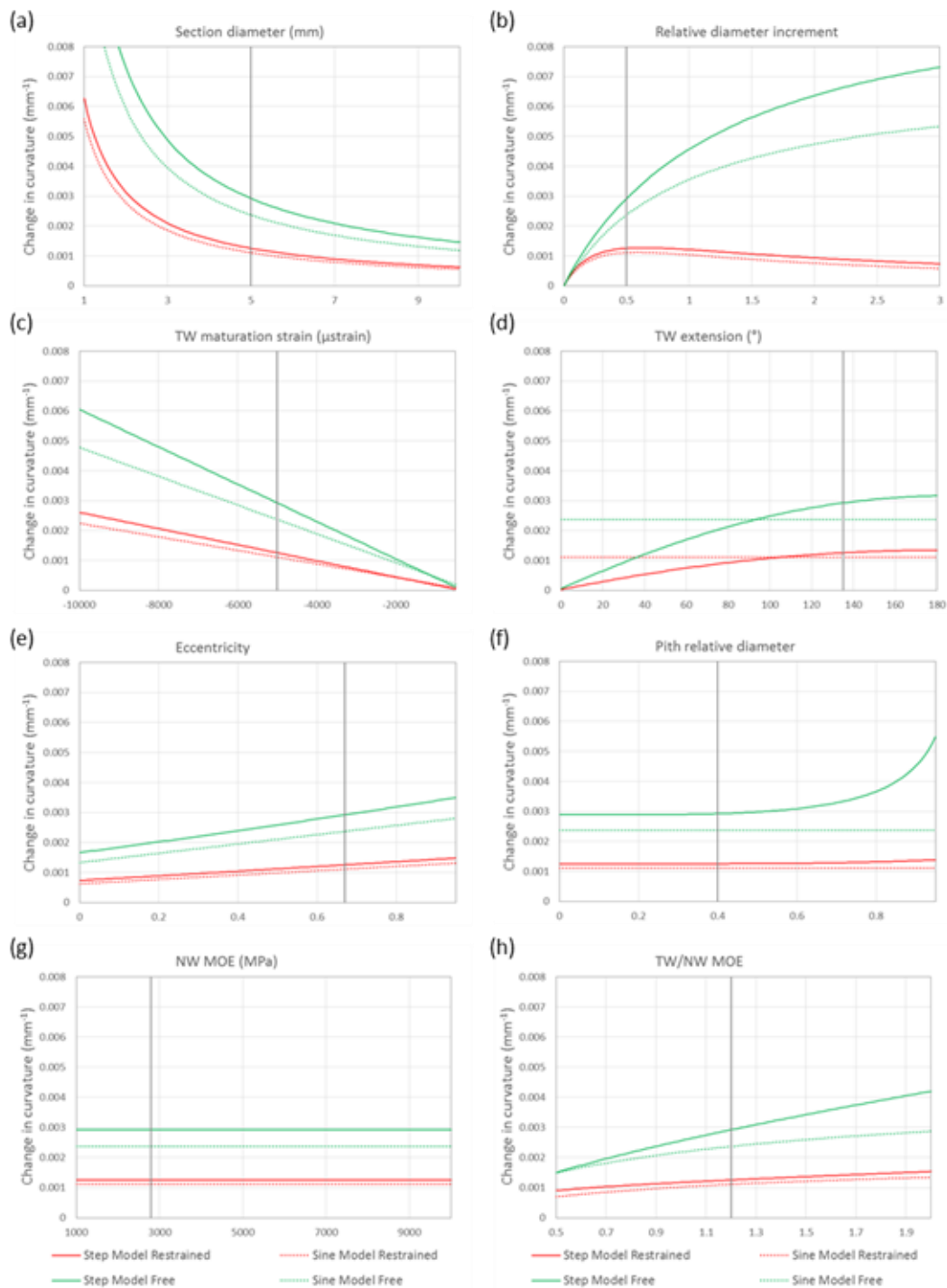


Figure 29. Results of the parametric study. Results are given for the two representations (step model and sine model) and for the two cases (free up-righting and restrained reaction). Vertical lines indicates the central value used when varying other parameters.

Other parameters are second-order effects, with less sensitive variations and non-zero values of change in curvature for the minimal values set for the parameter. Effect of eccentricity (Figure 29-e) is linear, and that of the MOE ratio (Figure 29-h) almost linear. In the restrained case, it can be noticed that the effect of MOE ratio is weak, so that small variations in this parameter can be neglected. For the free

up-right model, pith dimension may have a large effect if it has large values (Figure 29-f), typically in the case where the stem is very young. This is due to the reduction in stiffness of the stem when pith is large, so that early increments in bending moment act on a compliant structure yielding large changes in curvature. In contrast, pith always has a negligible effect in the restrained case, because its contribution to the stem stiffness after growth is always negligible, due to the dependence between second moment of area and diameter at power 4. Finally, normal wood MOE (for a given TW/NW MOE ratio, Figure 29-g) has no effect on the performance of the reaction, because both the bending moment and the stiffness are proportional to it. Only the MOE ratio (Figure 29-h) plays a role, by increasing the bending moment for a given maturation strain.

2.3.3.3.4.2. Comparison between the sine and step-variation models

The step-variation model will be taken as a reference, because it is more accurate (by taking into account the changes in neutral line when MOE is heterogeneous) and closer to reality (as variations in maturation strain are closer to a step variation than a sine variation).

Figure 29 shows that the sine model always underestimates the curvature compared to the step-variation model. This underestimation of approximately -10% for the restrained case and -20% for the free up-righting case implies an equivalent overestimation when the reverse model is used to estimate the maturation strain of tension wood. The sine model as derived does not reflect the effects of the pith and tension wood extension (Figure 29-d). For other parameters, the trend of the curve is the same as for the step-variation model.

Further parametric analyses (not shown) show that the results of the sine model are exactly equivalent to the step-variation model when there is no variations in MOE and a tension wood sector of 103° is considered. This critical value actually depends parameters such as MOE ratio and eccentricity. As stated by Alméras & Fournier (2009), this equivalence is explained by the fact that the sine model can be considered as the first-order development of a Fourier series describing any variation in properties, for which higher order terms vanish when integrated.

2.3.3.3.5. Experimental validation of the method

The method was applied on two different datasets. Results presented in this section aim at validating the method by demonstrating its capacity to discriminate between different plant genotypes and to suppress first order dimensional effects. The biological interpretation of the results will not be commented further as it is not the focus of this paper.

2.3.3.3.5.1. Plant material

The first study aimed at studying the diversity of the motor function among tropical species. It was conducted on 172 young trees from 20 tropical species belonging to 15 botanical families. Trees were grown in a greenhouse from seeds or seedlings collected in the forest. The species chosen represent a wide diversity of morphology, their diameter at the beginning of the experiment ranging from 2.8 mm to 12.6 mm

and height from 24 cm to 165 cm. After 4 weeks of growth, stems were tied to a pole and tilted at an angle of 45° from vertical. Thereafter, trees were grown in tilted position until their external diameter reached approximately 1.5 times the initial diameter to maximize the change in curvature (see section “parametric study”). They reached this diameter after variable time, due to the diversity of growth rates between species. Finally, plants were collected and measured as described in next section.

The second study aimed at unravelling the mechanism of maturation strain generation in tension wood. It was conducted on 3 different poplar transgenic lines modified for a gene potentially involved in tension wood formation, as well as the wild type untransformed line, the hybrid *Populus tremula x Populus alba* clone INRA 717-1B4 . Three replicate trees per line were grown from microcuttings in a greenhouse during 4.5 months, until they reached a height of 1.2m, with little variations between trees. Then they were tied to a pole and tilted at 35° degrees from vertical, grown during 10 weeks in this position and finally collected and measured as described below.

2.3.3.3.5.2. Measurements

The measurement protocol was similar for both studies. Trees were released from the pole, generating an instantaneous spring-back movement, so that the stem was curved, and sometimes passed the vertical (Figure 30). A segment of the stem located at its middle was then cut and placed in horizontal position on the floor, to suppress the effect of self-weight. A picture of the segment was taken in order to quantify the change in curvature due to stem reaction. Curvature was measured by locating points along the segment using an image analysis software, and fitting them to a polynomial function, from which curvature was derived analytically.

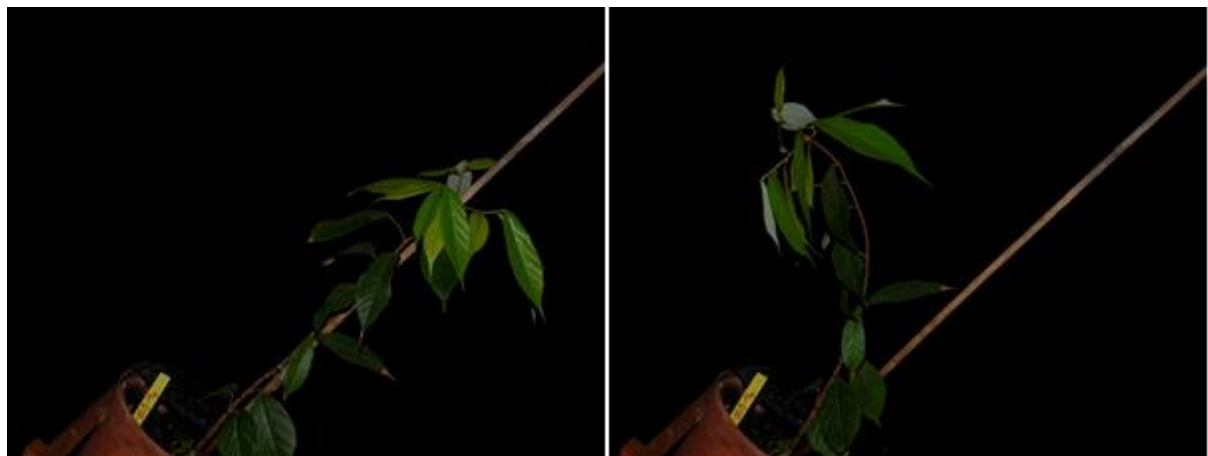


Figure 30. Illustration of the tree reaction. Left: Stem tied to a pole that has grown tilted. Right: Spring-back movement after releasing the stem from the pole.

In both studies, a thin section was cut from the middle of the segment to analyse the morphology of the section. All sections showed a sector of tension wood located on the upper part of the section (Figure 31), with more or less pronounced eccentric growth depending on species. Different parameters were measured to describe the section: diameter of the initial section D_0 (before tilting), final dimension of the sec-

tion D_1 , diameter of the pith, location of the pith centre (to quantify the eccentricity parameter k_0) and extension of the tension wood sector β (Figure 31). As the maturation strain of normal wood α_{NW} is low and has low variability, a value -500 μ strain was assumed for this parameter, close to experimentally measured values (Clair et al. 2006, Clair et al. 2013, Fournier 1994). Other parameters were set at their measured value.

The model with step variation of material properties was used to compute the maturation strain of tension wood (α_{TW}) from the change in curvature ΔC .

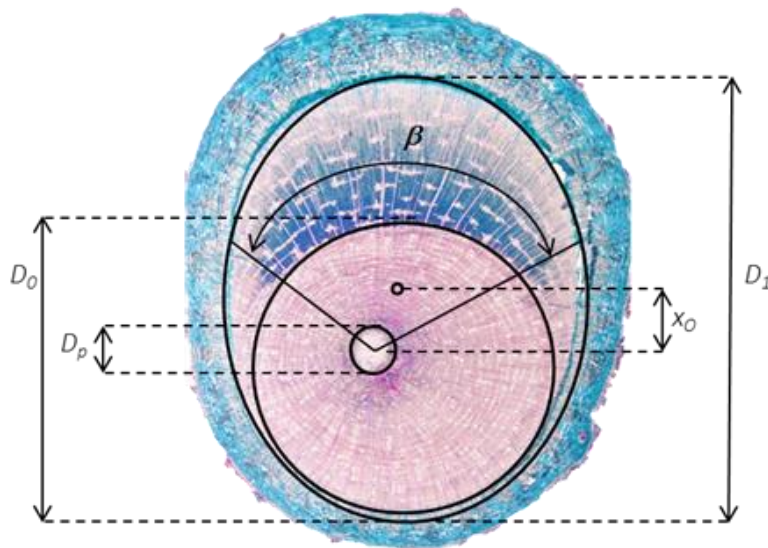


Figure 31. Parameter describing section's morphology. D_0 : Initial wood diameter; D_1 : Final wood diameter; D_p : Diameter of the pith; x_0 : Position of the centre of the final wood section relative to the pith; β : Extension of the tension wood sector.

2.3.3.3.5.3. The model is able to discriminate between genotypes

Estimated maturation strains ranged between -1300 and -7200 μ strains, with variations between specimens and between species. One-way analysis of variance evidences significant differences between species for the first study ($P < 0.001$, Table 3), and between transgenic lines for the second study ($P < 0.001$, Table 4). This demonstrates the discriminating power of the method and therefore its suitability to analyse variations in tension wood maturation strain intensity for various research purposes.

Table 3. Analyses of variance of the effect of genotype on tension wood maturation strain on the first study (Poplar transgenic lines).

Source	DOF	Sum Sq	Mean Sq.	F	Pr>F
Model	4	7.60E-06	1.90E-06	5.330	0.001
Error	46	1.64E-05	3.56E-07		
Total	50	2.40E-05			

Table 4. Analyses of variance of the effect of genotype on tension wood maturation strain on the first study (Tropical diversity of tree species).

Source	DOF	Sum Sq	Mean Sq.	F	Pr>F
Model	15	5.51E-04	3.67E-05	10.951	< 0.0001
Error	116	3.89E-04	3.36E-06		
Total	131	9.40E-04			

2.3.3.3.5.4. Scaling effects are suppressed by the model

Figure 32.A shows the relation between the change in curvature ΔC and computed maturation strain α_{TW} . These parameters are correlated ($R^2=0.48$, $P<0.0001$) because, as mentioned earlier, the maturation strain has a first-order effect on the change in curvature. However, more than 50% of the variance of the change in curvature is not explained by the maturation strain. Figure 32.B shows that change in curvature is also dependant on the initial radius of the stem R_0 ($R^2=0.18$, $P<0.0001$). This is directly related to the size effect on curvature previously mentioned. In contrast, the maturation strain is not correlated to stem dimension (Figure 32.C, $R^2=0.002$, $P>0.05$). This demonstrates that the analysis of curvature is not appropriate for estimating the magnitude of the reaction, because it includes effects of section dimensions that are not directly related to the magnitude of the reaction itself: the smaller the section, the larger the change in curvature, irrespective of the magnitude of maturation strain.

Figure 32.D shows that the change in curvature is practically uncorrelated ($R^2=0.013$, $P>0.05$) to the relative radius increment. This is consistent with the weak dependence shown in Figure 29.B. The correlation between maturation strain and relative radius increment (Figure 32.E) is even lower ($R^2<0.001$, $P>0.05$), showing that the model captures this weak effect size effect.

2.3.3.3.6. Discussion and conclusion

2.3.3.3.6.1. Magnitude of estimated strains

The range of maturation strain values encompass values usually measured with the strain release method on adult trees (Fournier *et al.* 1994; Clair *et al.* 2006, 2013), but values larger than usual (namely larger than $\sim 4000 \mu\text{strains}$) are also found. At least two reasons justify that measured values are larger than those measured with the strain release method on adult trees. First, the strain release method intrinsically tends to underestimate the magnitude of real maturation strains as argued in introduction. Second, measurements performed in current study are made on severely tilted and restrained stems, so that the expression of the reaction is maximal, and likely larger than in naturally tilted adult trees.

Values measured here are globally twice lower than the values of efficiency estimated with the free up-righting method in Alméras *et al.* (2009). This is related to the fact that in instance the free up-righting method was used to estimate a global

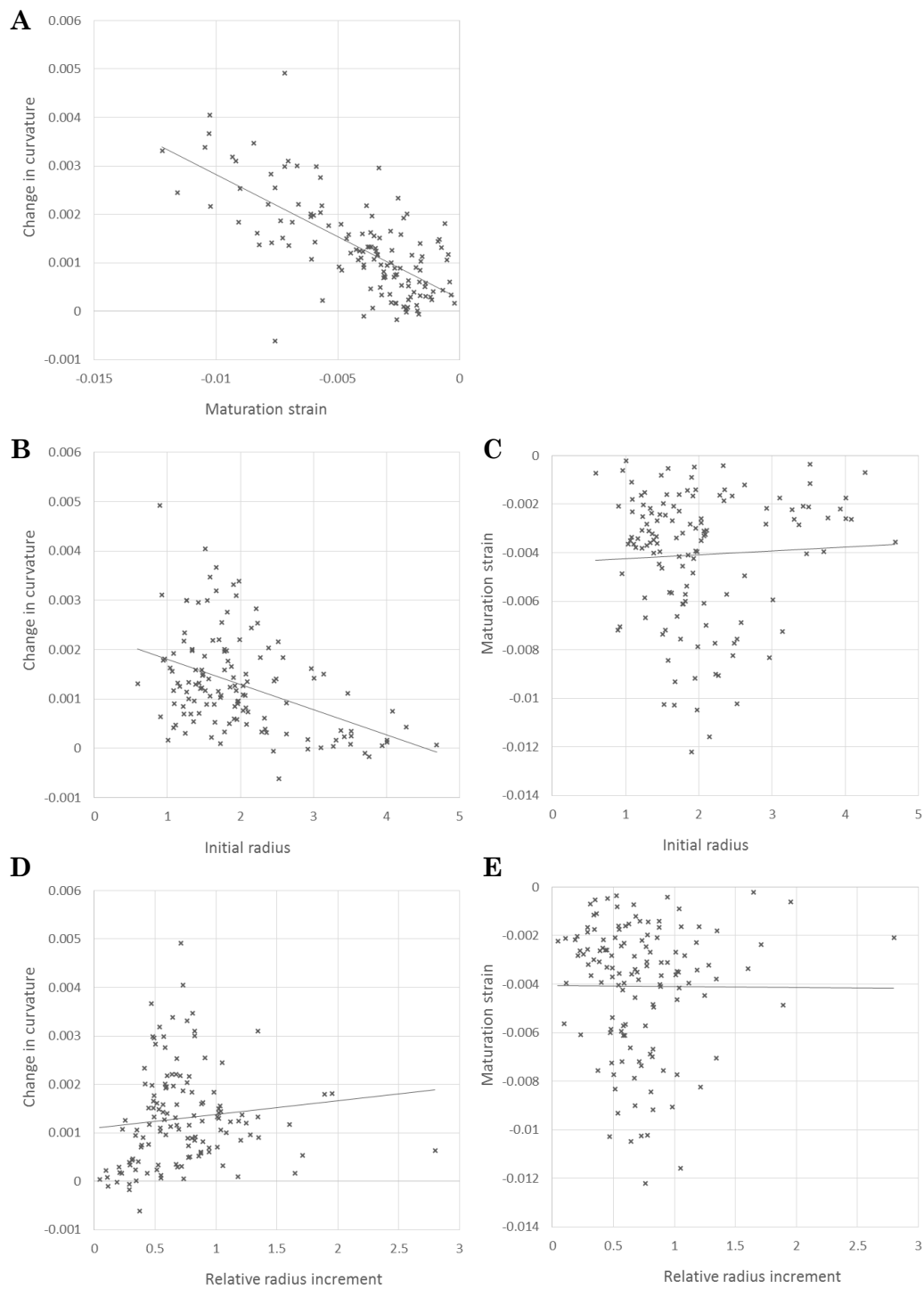


Figure 32. Suppression of dimensional effects by the model: the change in curvature is strongly correlated to initial diameter and slightly correlated with relative growth increment. Computation of tension wood maturation strain suppresses these correlations.

efficiency at the section level, including the effect of form parameters (eq. (35); Alméras et al. 2009; Alméras & Fournier 2009) rather than the value of maturation strain itself. As form parameter act in synergy with maturation strain, the efficiency at the section level, as described in Alméras *et al.* (2009), is intrinsically larger than the maturation strains itself.

2.3.3.3.6.2. Estimating efficiency vs. estimating maturation strains

The sine model reflects the effects of variations in MOE and eccentric growth, but does not account for tension wood extension. As a consequence, the value of $\Delta\alpha$ estimated by the sine model is not exactly equal to the difference in maturation strains between the two sides of the stem. It is the value that $\Delta\alpha$ would have if the variations were sine variations, and it is equivalent to the step-variation model only if for a particular value of the extension of tension wood. If the extension is larger, as usually the case, $\Delta\alpha$ estimated by the sine model overestimates the real difference in maturation strain.

The sine model is not able to directly estimate tension wood maturation strain, but is suitable to estimate an efficiency of the reaction as defined in Alméras *et al.* (2009), i.e. $\Delta\alpha f$ in eqs. (37) and (41). This parameter includes both the magnitude of the difference in maturation strain and the effect of form parameters such as eccentricity, distribution of MOE and real extension of tension wood. The same efficiency can be achieved, for example, either by a tension wood with large maturation strain or by a tension wood combining moderate maturation strain with eccentricity and variations in MOE. Compared to the measurement of curvature, it suppresses first-order dimensional effects. It quantifies the intensity of the reaction for a given size (diameter) and a given cost (growth). It is suitable e.g. to compare globally the intensity of the reaction between plants, for example to study trade-offs between the motor function and other functions in an ecological context (Alméras *et al.* 2009), irrespective of the way a given efficiency is achieved.

The step-variation model enables the direct estimation of tension wood maturation strains. This parameter is suitable to compare to biomechanical properties of different kinds of woods, for example belonging to different genotypes. Typically, this can be used to estimate the intensity of the tension wood produced in kinematic studies of gravitropism (Coutand *et al.* 2007; Alméras *et al.* 2009; Bastien *et al.* 2013), compare the motor power of different types of tension wood (Ruelle *et al.* 2007b) or to study the mechanism generating the mechanical stress during tension wood formation (reviewed in (Alméras & Clair 2016)).

2.3.3.3.6.3. The restrained stem method vs. the free up-righting method

The restrained stem method has many advantages on the free up-righting method. The free up-righting movement of a stem is the result of two phenomena: the gravitropic up-righting and the autotropic straightening (Coutand *et al.* 2007; Bastien *et al.* 2013). The former is expressed in early stages of the up-righting process, and implies the production of tension wood in the upper side of the stem. The latter occurs in a second phase, and implies an inversion of stem curvature necessary to achieve a straight and vertical shape without overshooting the vertical. The stimulus and the reaction are therefore not constant in time (during growth), neither in space (along the stem). This implies that the model can only be applied over short periods of time, and only on parts of the stem that are actively reacting. Thus, changes in curvature have to be repeatedly measured, and the model has to be applied on short growth increments. In contrast, during the growth of a restrained stem, the stimulus and reaction are kept constant in space and time, so that this

method can be applied over the whole growth period. Less measurements are thus necessary and the method is more accurate.

Moreover, because the method is applied to the full period of growth, the morphological and physical properties of the section (initial diameter without bark, growth increment, eccentricity, tension wood extension, variations in MOE) obtained after stem sectioning can be used to feed the model. Furthermore, in the free up-righting method, the change in self-weight during up-righting has to be accounted for (Alméras *et al.* 2009) whereas in the case of the restrained stem it can be neglected. Finally, the effect of maturation kinetics (Coutand *et al.* 2007), i.e. the delay between tension wood formation and induction of maturation strains may have consequences in the case of the free up-righting method, whereas these consequences vanish when a large period of time is considered, as for the restrained stem method. The restrained stem method need less measurements and is more precise than the free-up-righting method to estimate the “capacity” in the motor function, i.e. its maximal expression. Application of this method to various research contexts should enable significant progress on the understanding of the motor function of trees.

2.3.3.3.7. Appendix

Integrals of cosine powers:

$$\phi_0(\theta_1, \theta_2) = \int_{\theta_1}^{\theta_2} d\theta = \theta_2 - \theta_1$$

$$\phi_1(\theta_1, \theta_2) = \int_{\theta_1}^{\theta_2} \cos\theta d\theta = [-\sin\theta]_{\theta_1}^{\theta_2}$$

$$\phi_2(\theta_1, \theta_2) = \int_{\theta_1}^{\theta_2} \cos^2\theta d\theta = \left[\frac{2\theta + \pi + \sin 2\theta}{4} \right]_{\theta_1}^{\theta_2}$$

$$\phi_3(\theta_1, \theta_2) = \int_{\theta_1}^{\theta_2} \cos^3\theta d\theta = \left[\frac{-\sin\theta(2 + \cos^2\theta)}{3} \right]_{\theta_1}^{\theta_2}$$

2.3.4. Mesure des coûts physiologiques

Pour étudier les coûts physiologiques du redressement, 3 espèces ont été choisies pour leurs bois de tension contrastés. *Sextonia rubra* a de la couche G non lignifié dans son bois de tension (Chang *et al.* 2009) qui s’est révélée être partiellement lignifié dans cette étude (Ghislain *et al.* in prep.), *Simarouba amara* a un bois de tension tardivement lignifié (Roussel & Clair 2015) et *Pachira aquatica* a un bois de tension sans couche G (Ghislain *et al.* in prep.).

Pour chaque espèce, deux traitements sont appliqués : la moitié des individus est inclinée et tuteurée à 45 ° et l’autre moitié est tuteurée droite. Pour *Pachira* et *Simarouba*, 28 individus sont inclinés et 28 restent droit et pour *Sextonia*, 26 indivi-

dus sont inclinés et 25 restent droits. Les individus sont répartis aléatoirement dans les traitements. Les individus des traitements ne présentent pas de différence significative entre les moyennes de diamètre et de hauteur avant inclinaison (test t de Student). Un sous-échantillon de 15 individus représentatifs de l'ensemble des individus d'un traitement (droit ou incliné) est choisi par espèce. Les moyennes de diamètres et de hauteur avant inclinaison des individus du sous-échantillon sont non significativement différentes des moyennes de l'ensemble des individus de l'espèce et du traitement en question.

L'ensemble des mesures concernant le suivi de croissance et de l'assimilation, ainsi que les mesures effectuées au prélèvement sont détaillées dans cette section.

2.3.4.1. Suivi de la croissance

La croissance en diamètre et en hauteur, ainsi que la mise en place de nouvelles feuilles sont suivies tous les 15 jours sur le sous-échantillon de 15 individus par espèce et par traitement. Concernant les feuilles, la différence est faite entre les feuilles mises en place avant ou après la date d'inclinaison.

2.3.4.2. Suivi de l'assimilation

Pour mesurer des changements d'assimilations de gaz des feuilles dû au stress de l'inclinaison, des mesures des échanges gazeux ont été réalisées. L'assimilation de la dernière feuille mature de chaque individu avant l'inclinaison puis après 10 jours d'inclinaison est mesurée, ainsi que l'assimilation de la dernière feuille mature mise en place pendant l'inclinaison, juste avant le prélèvement final. L'assimilation est mesurée avec deux CIRAS de la même marque (CIRAS-1, PPSsystem, Hitchin, U.K ; paramètres utilisés : Lumière saturante : 700 U ; [CO₂] : 395 ppm ; Humidité : 90% ; Température : non fixé). Chaque mesure de Ciras est accompagnée d'une mesure de SPAD-502 (Konica Minolta, Osaka, Japan) afin d'estimer la teneur en chlorophylle. La surface foliaire de cette feuille ainsi que son épaisseur moyenne seront également mesurés au prélèvement. Des disques sont prélevés à l'aide d'un emporte-pièce de 10 mm pour d'éventuelles analyses chimiques.

Les mesures de suivi de l'assimilation ne sont pas fiables, suite aux diverses pannes des appareils de mesures (CIRAS). Ces mesures ne sont pas considérées comme analysables et ne sont par conséquent pas présentées dans cette thèse.

2.3.4.3. Mesures au prélèvement

2.3.4.3.1. Biomasse

Lors du prélèvement des arbres, les différents compartiments de la plante sont séparés : racines, tiges, feuilles (folioles) mises en place avant l'inclinaison, feuilles (folioles) mises en place après inclinaison, éventuellement les pétioles mis en place avant et après inclinaison, si la feuille est composée. La surface foliaire des feuilles ou folioles avant et après inclinaison est mesurée. Les feuilles ou folioles et pétioles sont séchés à 68 °C pendant 48 h afin de pouvoir éventuellement faire des analyses

chimiques par après, et un sous-échantillon est séché à 103 °C pendant 48 h pour calculer le rapport de masse des feuilles entre 103 °C et 68 °C. Le rapport de masse des feuilles entre 103 °C et 68 °C est assez similaire pour les 3 espèces étudiées : 97,9 % pour *Pachira aquatica*, 97,8 % pour *Sextonia rubra* et 97,2 % pour *Simarouba amara*. Les tiges et les racines sont séchées directement à 103 °C pendant 48 h.

2.3.4.3.2. *Observations microscopiques*

Un autre segment de 2 cm proche du centre du segment destiné aux mesures hydrauliques est prélevé pour des coupes anatomiques. Une photo du segment vert sert à mesurer les surfaces et les épaisseurs de bois et d'écorce.

2.3.4.3.3. *Infradensité*

L'infradensité est le rapport de la masse sèche à 103 °C sur le volume frais mesuré par double pesée d'Archimède, le tout ramené à la densité de l'eau à 4 °C (1 g.cm^{-3}).

Sur un segment de 2 cm, l'infradensité de l'ensemble de l'écorce est mesurée, ainsi que celle de l'ensemble du bois de la tige, moelle comprise.

Pour les espèces de l'article 5, des échantillons d'environ 1 mm x 1 mm x 5mm (R x T x L) sont prélevées dans le bois opposé, le bois de tension, l'écorce opposée et l'écorce de tension. Cette mesure permet d'estimer la densité allouée aux compartiments bois et écorce selon le stimulus mécanique (côté opposé ou tension).

3.1. Avant-propos

L'article 1 de l'introduction montre qu'il existe dans la littérature une certaine diversité anatomique des bois de tension d'espèces tempérées et tropicales. Dans ce chapitre, la diversité anatomique des bois de tension d'espèces majoritairement tropicales est étudiée à partir de matériel récolté avant ou pendant la thèse.

Dans un premier temps, une étude concernant les Salicaceae est présentée (article 3). Cette étude montre l'intérêt de l'anatomie du bois de tension pour discuter du regroupement phylogénique de la majorité des genres anciennement classés dans les Flacourtiaceae avec les genres *Salix* et *Populus*. Le bois de tension y est proposé comme un critère à rajouter aux autres critères morphologiques et génétiques pour l'étude de la phylogénie.

Dans un deuxième temps, la diversité anatomique du bois de tension est étudiée sur 291 espèces (article 4) et permet de faire le lien avec ce qui a été dit précédemment dans la littérature (article 1). La répartition en groupes anatomiques de bois de tension permet de comparer les espèces entre elles. Les groupes anatomiques du bois de tension sont comparés selon l'ontogénie et les conditions hydriques du milieu. Enfin, ces groupes anatomiques sont comparés au tempérament des espèces et à la densité du bois, afin de voir si les variations d'anatomie observées sont corrélées à une stratégie écologique.

Un dernier point concerne un ensemble d'études préliminaires, pas assez abouties pour être publiées, sur l'organisation des microfibrilles de cellulose dans la paroi des couches G ou des cellules de bois de tension en général.

3.2. Diversité anatomique des bois de tension

3.2.1. De la structure multicouche de la paroi des fibres de bois de tension des Salicaceae *sensu lato* et de sa signification pour la taxonomie (article 3)

3.2.1.1. Avant-propos

Cet article est écrit à la suite du stage réalisé par Raïssa Romain avec E. Nicolini et B. Clair. Il traite de l'intérêt de l'étude du bois de tension dans la phylogénie des Salicaceae. Cet article est accepté le 11/7/2016 et publié dans le Botanical Journal of the Linnean Society (Ghislain et al. 2016).

3.2.1.2. Article 3 : Multilayered structure of tension wood cell walls in Salicaceae sensu lato and its taxonomic significance ¹⁹

Barbara Ghislain^{1*}, Eric-André Nicolini², Raïssa Romain¹, Julien Ruelle³, Arata Yoshinaga⁴, Mac H. Alford⁵, Bruno Clair¹

¹ CNRS, UMR EcoFoG, AgroParisTech, Cirad, INRA, Université des Antilles, Université de Guyane, 97310 Kourou, France

² Cirad, AMAP, botAnique et bioinforMatique de l'Architecture des Plantes, Campus Agronomique BP 701, 97310 Kourou, France

³ INRA, Laboratoire d'Etude des Ressources Forêt-Bois (LERFoB), 54280 Champenoux, Nancy, France

⁴ Laboratory of Tree Cell Biology, Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606-8502, Japan

⁵ Department of Biological Sciences, University of Southern Mississippi, 118 College Drive #5018, Hattiesburg, Mississippi 39406, U.S.A.

*Corresponding author

3.2.1.2.1. Abstract

Salicaceae have been enlarged to include a majority of the species formerly placed in the polyphyletic tropical Flacourtiaceae. Several studies have reported a peculiar and infrequently formed multilayered structure of tension wood in four of the tropical genera. Tension wood is a tissue produced by trees to restore their vertical orientation, and most studies have focused on trees developing tension wood by means of cellulose-rich, gelatinous fibres, as in *Populus* and *Salix* (Salicaceae s.s.). This study aims to determine if the multilayered structure of tension wood is an anatomical characteristic common in other Salicaceae, and if so, how its distribution correlates to phylogenetic relationships. Therefore, we studied the tension wood of 14 genera of Salicaceae as well as two genera of Achariaceae, one genus of Goupiaceae, and one genus of Lacistemataceae, families closely related to Salicaceae or formerly placed in Flacourtiaceae. Opposite wood and tension wood were compared with light microscopy and three-dimensional laser scanning confocal microscopy. The results indicate that a multilayered structure of tension wood is common in the family except in *Salix*, *Populus*, and one of their closest relatives, *Idesia polycarpa*. We suggest that tension wood may be a useful anatomical character in understanding phylogenetic relationships in Salicaceae. Further investigation is still needed on the tension wood of several other putatively close relatives of *Salix* and *Populus*, in particular *Bennettiodendron*, *Macrohasseltia* and *Itoa*.

Keywords: Flacourtiaceae – G-layer – multilayered tension wood – reaction wood – Salicaceae

¹⁹ Contribution: anatomie (30%), analyse des données, description des herbiers (30%), écriture de l'article.

3.2.1.2.2. Introduction

Until recently, morphological and anatomical characters were the primary sources of data for inferring phylogenetic relationships. More recently, DNA data have provided the majority of characters for our analyses of relationships, but reference to morphological characters remains useful for many reasons, including pedagogy, comparative evolutionary studies and studies of organisms where DNA data are inaccessible (*e.g.*, fossils, rare organisms). Wood anatomy has certainly proved useful (Tippo 1946; Lens *et al.* 2007; Christenhusz *et al.* 2010), especially characters linked to cell organization, cell types or pitting. Here we show that fibre cell wall of reaction tissues, in this case tension wood, may also be useful phylogenetically.

Trees are able to optimize their orientation by the production of asymmetrical maturation stress around the tree. In angiosperms, a particular wood with high tensile stress, called tension wood, is produced on the upper side of the tilted stem. This high tensile stress allows for the active bending of the tree axis (Du & Yamamoto 2007; Alméras & Fournier 2009). Tension wood exhibits anatomical differences from normal wood, for example, a lower frequency of vessels (Jourez *et al.* 2001; Ruelle *et al.* 2006). However, the greatest differences are observable at the fibre wall level. The secondary wall of a normal wood cell is composed of three sub-layers (S₁, S₂, S₃) made of cellulose microfibrils oriented at different angles and embedded in a matrix of lignin and hemicelluloses. Whereas S₁ and S₃ are thin, with cellulose microfibrils oriented to nearly 80° compared to the fibre axis, the S₂ layer is much thicker and the angle of microfibrils ranges from 10 to 20°. In tension wood the cell wall is generally modified by the presence of an inner unlignified layer, the so-called gelatinous layer or G-layer, replacing the S₃ and part of or the entire S₂ layer. It has been recently shown that this layer can be later lignified (Roussel & Clair 2015). This partially explains why many species were known to produce tension wood lacking G-layers (Onaka 1949; Fisher & Stevenson 1981; Clair *et al.* 2006). Whether lignified or not, tension wood cell wall is homogeneous and characterized by a much lower (up to nil) cellulose microfibril angle compared to normal wood (Chaffey 2000; Ruelle *et al.* 2006).

A peculiar fibre wall structure was first discovered in xylem fibres of *Homalium foetidum* Benth., *Homalium luzoniense* Fern.-Vill. and *Olmediella betschleriana* Loes. (Bailey & Kerr 1935; Daniel & Nilsson 1996), in which the secondary wall appears multilayered. This cell wall structure was later demonstrated to occur only in tension wood (Clair *et al.* 2006; Ruelle *et al.* 2007c; Figure 33). Daniel & Nilsson (1996) described this structure in *Homalium foetidum* as a succession of thick layers separated by thin layers with elevated levels of lignin. In *Laetia procera* Eichler, Ruelle *et al.* (2007c) described the thick layers as lightly lignified. Similar cell wall structures were also reported in reaction phloem fibres (Nanko *et al.* 1982; Nakagawa *et al.* 2012, 2014). In phloem fibres of *Populus × canadensis* Moench, Nanko *et al.* (1982) observed that the maximum number of layers was on the upper side of the tilted axis and decreased to that of normal phloem on the other side. They concluded that the number of layers is related to the intensity of tension wood. Nakagawa *et al.* (2012) observed multi-layered fibres in opposite phloem in *Mallotus*

japonicus (L.f.) Müll.Arg. (Euphorbiaceae), but they demonstrated an increase in the number of layers from opposite phloem to reaction phloem. In addition, *Mallo-tus japonicus* and *Hevea brasiliensis* (Willd. ex A.Juss.) Müll.Arg. (Euphorbiaceae) were reported to form a multilayered secondary wall structure in their tension wood fibres (Encinas & Daniel 1997; Nakagawa *et al.* 2012) whereas *Dipterocarpus* C.F.Gaertn. (Dipterocarpaceae), *Dillenia* L. (Dilleniaceae), *Laurelia* Juss. (Atherospermataceae), and *Elateriospermum* Blume (Euphorbiaceae) formed it in wood fibres, without specifying it was tension wood (Daniel and Nilsson 1996).

The observation of this multi-layered structure raises many questions about its role and the benefits for the plant compared to usual G-layers. Clair *et al.* (2006) showed that tensile stress measured on *Casearia javitensis* Kunth, a species with multi-layered G-layer, is among the highest compared to the other 21 species measured, but they did not show a gap compared to other tension wood types. Ruelle *et al.* (2007a) obtained similar results for *Laetia procera*, compared to 10 species.

This atypical structure is reported in five species of Salicaceae, all belonging to the former Flacourtiaceae: *H. luzoniense* and *O. betschleriana* (Bailey & Kerr 1935), *H. foetidum* (Daniel & Nilsson 1996), *C. javitensis* (Clair *et al.* 2006) and *L. procera* (Ruelle *et al.* 2007c). These results contrast with observations recorded from Salicaceae *s.s.* (*Salix* and *Populus*). Indeed, tension wood has been extensively studied in *Populus*, considered as a model plant for studies of angiosperms (Pilate *et al.* 2004b). These numerous studies report observations of tension wood cell walls with various techniques such as transmission electron microscopy (Araki *et al.* 1982; Yoshinaga *et al.* 2012), atomic force microscopy, scanning electron microscopy (Clair & Thibaut 2001), confocal Raman microscopy (Gierlinger & Schwanninger 2006), UV or bright field microscopy (Yoshinaga *et al.* 2012) and phase contrast microscopy (Abedini *et al.* 2015; Chang *et al.* 2015). All of these observations describe tension wood cell walls in *Populus* as a single walled G-layer (Figure 33). *Salix* is also known to have single walled G-layers (Gritsch *et al.* 2015). In this paper, we will name these single layered G-layers as “usual G-layer” in contrast to “multilayered G-layer” or “multilayered fibres” for G-layers composed of two or more layers (Figure 33). Both may be lignified or not.

Salicaceae *s.s.*, composed of *Populus* and *Salix*, have been recently enriched with numerous genera from the former Flacourtiaceae (Chase *et al.* 2002), the latter family being hard to characterize because it served as a depository, or “garbage bag”, for taxa with uncertain affinities (Chase *et al.* 2002). Several studies have provided molecular and/or morphological data that support the realignment of most of the genera and species to Salicaceae or Achariaceae (Chase *et al.* 2002; Alford 2005; Xi *et al.* 2012), but there is still discussion about whether the non-cyanogenic Flacourtiaceae should be treated in a Salicaceae *s.l.* or subdivided even further into Samydaceae, Scyphostegiaceae, and a Salicaceae *sensu medio* (Alford 2005; Samarakoon 2015). Alford (2005) argued for the latter because he could find no morphological characters that supported Salicaceae *s.l.*, whereas several synapomorphies supported recognition of Samydaceae, Scyphostegiaceae, and Salicaceae *sensu medio*. Given these questions of circumscription and the variation in tension wood cell walls, ten-

sion wood characters may prove to be a unifying feature or synapomorphy of Salicaceae *s.l.* that was later lost in *Salix*, *Populus* and their closest relatives.

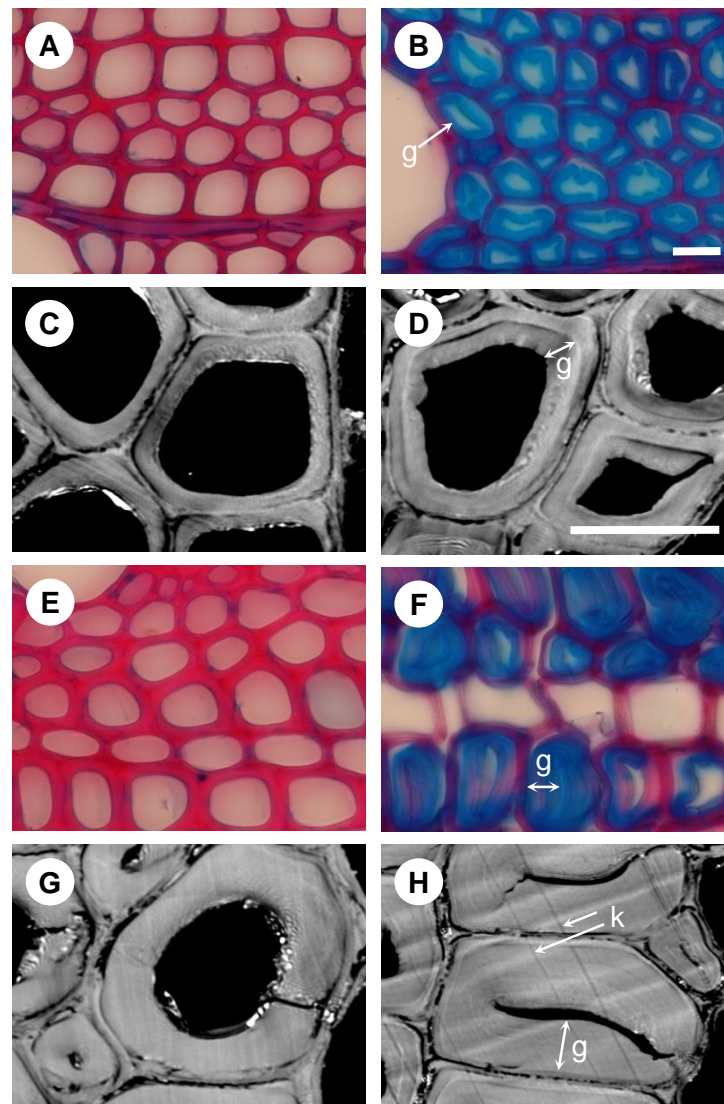


Figure 33. Comparison of normal wood (A, C, E, G) and tension wood (B, D, F, H) fibre wall in *Populus* (A–D) and *Laetia procera* (E–H) observed in bright field after staining with Safranin/Alcian blue, scale bar = 20 μm (A, B, E, F) and with a 3D laser scanning confocal microscope, scale bar = 10 μm (C, D, G, H). *Populus* tension wood is characterized by a typical un lignified G-layer and *Laetia* tension wood by a multilayered G-layer. Arrows indicate the G-layer and/or its thickness (g) and an artefact of residual traces of the diamond knife (k).

This study aims to answer how this particular multilayered tension wood is distributed among the species newly classified in the Salicaceae. The topic of this study is two-fold: (1) to clarify the expression of this peculiar tension wood and (2) to generate new anatomical data for the Salicaceae. Here, we investigate: (1) the characteristics of multilayered tension wood and (2) whether the multilayered cell wall is a characteristic of all former Flacourtiaceae now integrated in Salicaceae. Achariaceae, Goupiaceae, and Lacistemataceae, three families formerly included in or closely linked to Flacourtiaceae, were also examined for a broader understanding of the distribution of this anatomical character.

3.2.1.2.3. *Material and methods*

Naturally tilted branches or main axes of Salicaceae were collected in natural forest in four places in French Guiana and Guadeloupe or were provided by the Lyon Botanical Garden (France), the Nancy Botanical Garden (France), the Strasbourg University Botanical Garden (France) and the experimental unit of Villa-Thuret (INRA, France) (Table 5). Thirty-one species belonging to 14 genera from Salicaceae were studied. The selected genera were drawn from five of the nine tribes of the family, encompassing the major morphological groups. Some of the species are represented by several individuals. Additionally, two species of Achariaceae, one species of Goupiaceae, and three species of Lacistemataceae were added to this study because of their former inclusion in or close relationship to Flacourtiaceae. Finally, because of the surprising results obtained from *Idesia* Maxim. collected in a botanical garden, a three-year-old tree of *Idesia polycarpa* Maxim. collected at the Kitashirakawa Experimental Station of the Field Science Education and Research Center of Kyoto University in Japan was artificially tilted to ensure the production of tension wood. The list of species and their provenances are given in Table 5. Table 6 lists the genera belonging to Salicaceae and highlights the genera observed in the study.

Tension wood was confirmed by the presence of eccentric growth with more wood produced on the upper side of the axis. Sample preparation and observations were performed in Kourou, French Guiana.

3.2.1.2.3.1. **Three-dimensional (3D) laser scanning confocal microscopy**

Tension wood samples were observed with a 3D laser scanning confocal microscope (Keyence VK-9710K). This technique allows for the observation of the topography of the surface of a sample with a resolution of 10 nm. Observations were made on untreated dry wood blocks after smoothing the surface with a diamond knife on a rotary microtome. This sample preparation produces a nearly perfect surface. However, changes in organization or composition from layer to layer create some topographic traces at the surface of the sample, allowing easy identification of the cell wall layers or sub-layers.

3.2.1.2.3.2. **Optical microscopy**

Wood samples were kept wet until sectioning. Sections 20-50 μm thick were produced with a sliding microtome and stained with Safranin and Alcian blue 8GX in order to observe lignin distribution. Mounted on glass slides, they were observed under bright field with an optical microscope (Olympus BX2). Unstained sections 2-3 μm thick were produced from some species for UV microscopy in order to validate results obtained via Safranin/Alcian blue staining. These sections were observed under the same microscope but equipped with a mercury lamp (USH102D USHIO) that generates light filtered with fluorescence filter cubes U-MNU2 (Olympus, excitation filter: 360–370 nm, dichromatic mirror: 400 nm, emission filter: 420 nm). Lignified cell wall autofluoresces, whereas unlignified layers such as the G-layer remain dark (Roussel & Clair 2015).

3.2.1.2.4. Results

Figure 34 presents tension wood fibres of some of the studied species observed with laser scanning confocal microscopy (see Supporting Information, Figure 37 for other species). Figure 35 presents the anatomical sections of seven species stained with Safranin/Alcian blue and observed in bright field with optical microscopy.

A multilayered structure in tension wood cell walls is observable in all former Flacourtiaceae, except in *Idesia polycarpa*, and is absent in all studied species from Salicaceae s.s. (*Populus* and *Salix*), Achariaceae, Goupiaceae, and Lacistemataceae (Figure 34). A thick S₂ layer is sometimes present and should not to be confused with the G-layer, which often stands out because it detaches from other layers during sectioning (Clair *et al.* 2005b).

The maximum number of layers in a multilayered wall varies from species to species. Most of the species show only two layers, but there can be up to six layers in *Casearia sylvestris* Sw. or *Neoptychocarpus apodanthus* (Kuhl.) Buchheim (Table 6).

For a given species, the number of layers also varies. In particular, monolayered G-layer, *i.e.* usual G-layers, can be found near multilayered G-layers for some species. In a single tension wood specimen, the number of layers increases progressively from cell to cell from one to multiple layers. Consequently, usual G-layers are hardly found near multilayered fibres. In a limited number of samples, the multilayered fibres are scarce and hard to find amid the usual G-layers [e.g. *Dovyalis caffra* (Hook.f. & Harv.) Warb. from Villa-Thuret Experimental garden, INRA]. Whenever multilayered tension wood fibres occur they are often found in intense zones of tension wood, *i.e.* centered in the arc of tension wood.

For all species, the thin interlayers of multilayered tension wood cell wall appear lignified as described by Ruelle *et al.* (2007c). In some of the species, thick layers of multilayered tension wood cell wall appeared lignified with Safranin/Alcian blue staining (confirmed on unstained samples under UV light) (Figure 35, Table 6). For instance, all multilayers of *Banara guianensis* Aubl. appear lignified, whereas only some multilayers were lignified in *C. sylvestris*. Multilayers appear unlignified in a few species, including *Azara dentata* Ruiz & Pav. and *Carrierea calycina* Franch. (Table 6). Thick layers of the tension wood cell wall of *D. caffra* are unlignified on the sample from Villa-Thuret Experimental garden (INRA), but partly lignified on the sample from the Strasbourg University Botanical Garden. Similarly, the thick layer of tension wood cell wall of *L. procera* looks partially lignified in our sampling, whereas Ruelle *et al.* (2007c) found these layers unlignified with Safranin/Alcian blue staining, although slightly lignified with Wiesner reaction.

3.2.1.2.4.1. Tension wood

Despite the scarcity of previous observations in the literature (Ruelle *et al.* 2007c), we confirm that the multilayered wall occurs in the tension wood fibres of 11 genera and 21 species. When multilayered cell walls are formed, they are always observed on the upper side of the tilted axis, *i.e.* only in tension wood. We did not observe multilayered cell walls in axes without tension wood even when the given species is

able to form multilayered wall cells. Thus, the position of sampling in the plant body for observing the presence or absence of such multilayered cells is critical. In this study, we collected only axes highly susceptible to have formed tension wood during past radial growth (tilted branches or bent main axis). So the present investigations give a clear idea of the distribution of the multilayered cells in tension wood of these species of Salicaceae.

3.2.1.2.4.2. Variability in the number of layers and in the distribution of multilayered wall in tension wood

The number of layers of the tension wood cell wall varies between species, but also within a species or within a single individual. Within a sample, tension wood with the usual G-layer can occur near multilayered fibres. Similar observations were made by Daniel & Nilsson (1996), although the authors did not identify this peculiar structure to be a characteristic of tension wood. At the species level, the tilted branch of *L. procera* showed here a variation from one to five layers, whereas four to eight layers were observed by Ruelle *et al.* (2007c) on naturally tilted trees. We suspect that the number of layers of one species would be linked to the intensity of reaction wood formation, as has been shown for reaction phloem fibres (Nanko *et al.* 1982). It also seems that some species may have a higher maximal number of layers. Nevertheless, such conclusions cannot be reached at this point and would require a more complete study with artificially tilted stems grown in a controlled environment. It would also be interesting to investigate if the formation of the usual G-layer or multilayered G-layer depends on the mechanical stimulus. For example, in *D. caffra* from Villa-Thuret Experimental garden (INRA), most fibres formed a typical G-layer and few multilayered fibres occurred. One can wonder whether the degree of mechanical stimulus has an effect on the resulting fibre wall structure in some species, and would this have a bearing on the distinction between the former Flacourtiaceae and Salicaceae *s.s.*

Table 5. Species of trees used in this study. Samples were collected in Europe (France), the Caribbean (Guadeloupe), South America (French Guiana) and Asia (Japan). Location of sampling performed in French Guiana is presented as: Place name, nearest city, FG, N, number of trees collected; V, reference of the vouchers deposited in the herbarium "Herbier IRD de Guyane" (CAY); FG, French Guiana; JP, Japan; FSERC, Field Science Education and Research Center.

<i>Genera</i>	<i>Species</i>	<i>Family</i>	<i>N</i>	<i>V</i>	<i>Sampling location</i>
<i>Carpotroche</i>	sp.	Achariaceae	3	RR2, RR3, RR4	Paracou, Sinamary, FG Lyon botanical garden
<i>Kiggelaria</i>	<i>africana</i>	Achariaceae	2		Villa-Thuret Experimental garden (INRA), Antibes
<i>Goupia</i>	sp.	Goupiaceae	1		Montagne des singes, Kourou, FG
<i>Lacistema</i>	<i>aggregatum</i>	Lacistemataceae	1	RR21	Paracou, Sinamary, FG
<i>Lacistema</i>	<i>pubescens</i>	Lacistemataceae	1	RR22	Paracou, Sinamary, FG
<i>Lacistema</i>	sp.	Lacistemataceae	1	RR23	Montagne des singes, Kourou, FG
<i>Azara</i>	<i>dentata</i>	Former Flacourtiaceae	1		Lyon Botanical Garden
<i>Banara</i>	<i>guianensis</i>	Former Flacourtiaceae	1	RR1	Montagne des singes, Kourou, FG

<i>Genera</i>	<i>Species</i>	<i>Family</i>	<i>N</i>	<i>V</i>	<i>Sampling location</i>
<i>Carrierea</i>	<i>calycina</i>	Former Flacourtiaceae	1		Strasbourg University Botanical Garden
<i>Casearia</i>	<i>cf decandra</i>	Former Flacourtiaceae	3	RR5, RR6, RR7	Paracou, Sinamary, FG
<i>Casearia</i>	<i>commersoniana</i>	Former Flacourtiaceae	1	RR8	Paracou, Sinamary, FG
<i>Casearia</i>	<i>grandiflora</i>	Former Flacourtiaceae	1	RR9	Piste Paul Isnard, Saint-Laurent, FG
<i>Casearia</i>	<i>guianensis</i>	Former Flacourtiaceae	2	RR10, RR11	Crique Passoura, Kourou, FG
<i>Casearia</i>	<i>javitensis</i>	Former Flacourtiaceae	2	RR12, RR13	Crique Passoura, Kourou, FG Montagne des singes, Kourou, FG
<i>Casearia</i>	<i>pitumba</i>	Former Flacourtiaceae	3	RR14, RR15, RR16	Montagne des singes, Kourou, FG
<i>Casearia</i>	<i>sylvestris</i>	Former Flacourtiaceae	3	RR17, RR18, RR19	Paracou, Sinamary, FG
<i>Dovyalis</i>	<i>caffra</i>	Former Flacourtiaceae	2		Strasbourg University Botanical Garden, Villa-Thuret Experimental garden (INRA), Antibes
<i>Homalium</i>	<i>guianense</i>	Former Flacourtiaceae	1	RR20	Crique Passoura, Kourou, FG
<i>Homalium</i>	<i>racemosum</i>	Former Flacourtiaceae	1		Guadeloupe
<i>Idesia</i>	<i>polycarpa</i>	Former Flacourtiaceae	2		Kyoto University FSERC (JP), Strasbourg University Botanical Garden
<i>Laetia</i>	<i>procera</i>	Former Flacourtiaceae	1	RR24	Montagne des singes, Kourou, FG
<i>Neoptychocarpus</i>	<i>apodanthus</i>	Former Flacourtiaceae	1	RR25	Paracou, Sinamary, FG
<i>Poliothyrsis</i>	<i>sinensis</i>	Former Flacourtiaceae	2		Strasbourg University Botanical Garden Villa-Thuret Experimental garden (INRA), Antibes
<i>Ryania</i>	<i>speciosa</i>	Former Flacourtiaceae	2	RR26,	Paracou, Sinamary, FG
	<i>speciosa</i> var. <i>bicolor</i>	Former Flacourtiaceae	2	RR27	Montagne des singes, Kourou, FG
<i>Xylosma</i>	<i>benthamii</i>	Former Flacourtiaceae	1	RR28	Paracou, Sinamary, FG
<i>Xylosma</i>	<i>congesta</i>	Former Flacourtiaceae	1		Villa-Thuret Experimental garden (INRA), Antibes
<i>Xylosma</i>	<i>flexuosa</i>	Former Flacourtiaceae	1		Strasbourg University Botanical Garden
<i>Xylosma</i>	<i>japonica</i>	Former Flacourtiaceae	1		Strasbourg University Botanical Garden
<i>Populus</i>	<i>alba</i>	Salicaceae s.s.	1		Nancy Botanical Garden
<i>Populus</i>	<i>nigra (italica)</i>	Salicaceae s.s.	1		Nancy Botanical Garden
<i>Populus</i>	<i>trichocarpa</i>	Salicaceae s.s.	1		Nancy Botanical Garden
<i>Populus</i>	<i>deltoides x nigra</i>	Salicaceae s.s.	1		Nancy Botanical Garden
<i>Salix</i>	<i>lucida</i>	Salicaceae s.s.	1		Nancy Botanical Garden
<i>Salix</i>	<i>myrsinifolia</i>	Salicaceae s.s.	1		Nancy Botanical Garden
<i>Salix</i>	<i>purpurea</i>	Salicaceae s.s.	1		Nancy Botanical Garden

Table 6. Genera of Salicaceae studied, based on Chase et al. (2002). The column 'Described species' indicates the number of species observed in a given genus. Tension wood cell wall, the number of layers of the G-layer (min. – max.) and the presence of lignification of the G-layer are described. *This genus has now been moved to a distantly related family (Alford, 2006).

<i>Sub family</i>	<i>Tribes</i>	<i>Genera</i>	<i>Described species</i>	<i>Number of layers</i>	<i>Tension wood lignification²⁰</i>	
<i>Incertae sedis</i>		<i>Oncoba</i>				
<i>Salicoideae</i>	<i>Abatieae</i>	<i>Abatia</i>				
		<i>Aphaerema</i>				
	<i>Bembicieae</i>	<i>Bembicia</i>				
		<i>Azara</i>	1	1-3	Unlignified	
		<i>Bennettiodendron</i>				
		<i>Carrierea</i>	1	1-2	Unlignified	
		<i>Dovyalis</i>	1	1-3	Partly lignified or unlignified	
		<i>Flacourtia</i>				
		<i>Idesia</i>	1	1	Unlignified	
		<i>Itoa</i>				
		<i>Lasiochlamys</i>				
	<i>Flacourtieae</i>	<i>Ludia</i>				
		<i>Olmediella</i>				
		<i>Poliothyrsis</i>	1	1-3	Unlignified	
		<i>Priamosia</i>				
		<i>Tisonia</i>				
		<i>Xylosma</i>	4	1-3 (flexuosa) 2-3 (japonica) 1-4 (benthamii, congesta)	Partly lignified	
	<i>Homalieae</i>	<i>Bartholomaea</i>				
		<i>Bivinia</i>				
		<i>Byrsanthus</i>				
		<i>Calantica</i>				
		<i>Dissomeria</i>				
		<i>Gerrardina</i> (*)				
		<i>Homalium</i>	2	1-3 (guianense) 1-4 (racemosum)	Partly lignified	
		<i>Neopringlea</i>				
		<i>Trimeria</i>				
		<i>Prockieae</i>	<i>Banara</i>	1	2-3	Lignified
<i>Hasseltia</i>						

²⁰ In case of multilayered G-layer, lignification of thick layers only is described. Thin layers, assumed to be lignified as in *Laetia* (Ruelle et al. 2007c), are neglected in this table.

<i>Sub family</i>	<i>Tribes</i>	<i>Genera</i>	<i>Des- cribed species</i>	<i>Number layers</i>	<i>of</i>	<i>Tension wood li- gnification²⁰</i>
		<i>Hasseltiopsis</i> <i>Macrohasseltia</i> <i>Neosprucea</i> <i>Pineda</i> <i>Pleuranthodendron</i> <i>Prockia</i> <i>Populus</i> <i>Salix</i> <i>Hemiscolopia</i> <i>Mocquersia</i> <i>Phyllobotryon</i> <i>Phylloclinium</i> <i>Pseudoscolopia</i> <i>Scolopia</i>	4 3	1 1		Unlignified Partly lignified or unlignified
		<i>Casearia</i>	8	1-3 (grandiflora, guianensis, javitensis, pi- tumba) 1-4 (cf decan- dra,javitensis, sylvestris) 2-4 (cf decandra, pitumba) 1-5 (commer- soniana, syl- vestris) 1-6 (sylvestris)		Lignified or partly lignified
<i>Samydoideae</i>	<i>Samydeae</i>	<i>Euceraea</i> <i>Hecatostemon</i> <i>Laetia</i> <i>Lunania</i> <i>Neoptychocarpus</i> <i>Ophiobotrys</i> <i>Osmelia</i> <i>Pseudosmelia</i> <i>Ryania</i> <i>Samyda</i> <i>Tetrathylacium</i> <i>Zuelania</i>	1 1	1-5 1-6		Partly lignified Lignified
<i>Scyphostegioideae</i>		<i>Scyphostegia</i>				

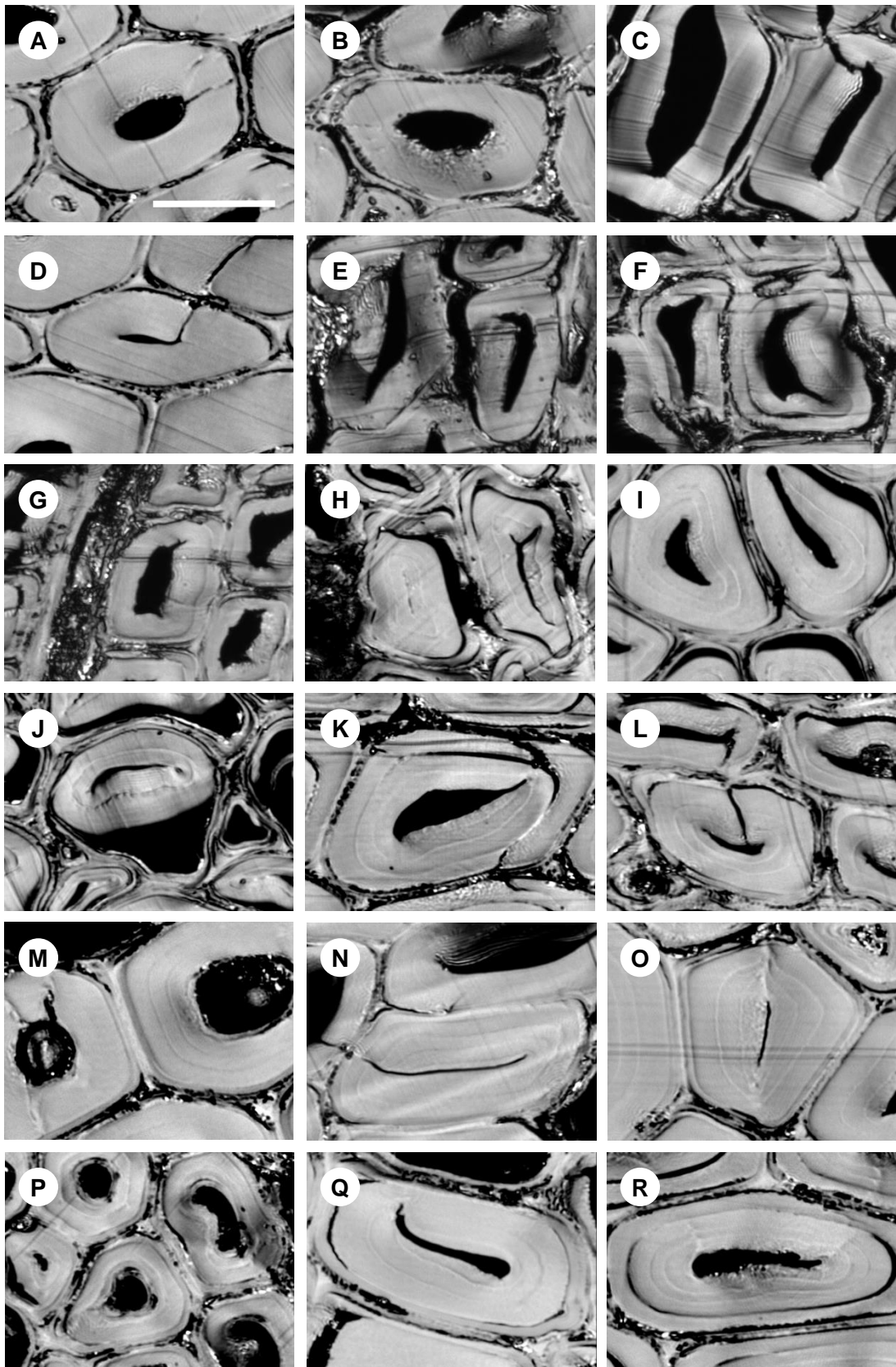


Figure 34. Transverse sections of tension wood fibres observed with a 3D laser scanning confocal microscope. Scale bar = 10 μm . A, B, Achariaceae; C, Goupiaceae; D, Lacistemataceae; E–R, Salicaceae *s.l.* A, *Carpotroche* sp.; B, *Kiggelaria africana*; C, *Goupia* sp.; D, *Lacistema aggregatum*; E, *Idesia polycarpa* (sampled in an artificially tilted tree); F, *Populus alba* (thick S2 layer); G, *Salix lucida*; H, *Azara dentata*; I, *Banara guianensis*; J, *Carricera calycina*; K, *Casearia cf. decandra*; L, *Dovyalis caffra*; M, *Homalium guianense*; N, *Laetia procera*; O, *Neoptychocarpus apodanthus*; P, *Poliothyrsis sinensis*; Q, *Ryania speciosa*; R, *Xylosma benthamii*. A–G, one layer observed in the G-layer; H–R, more than two layers observed in the G-layer.

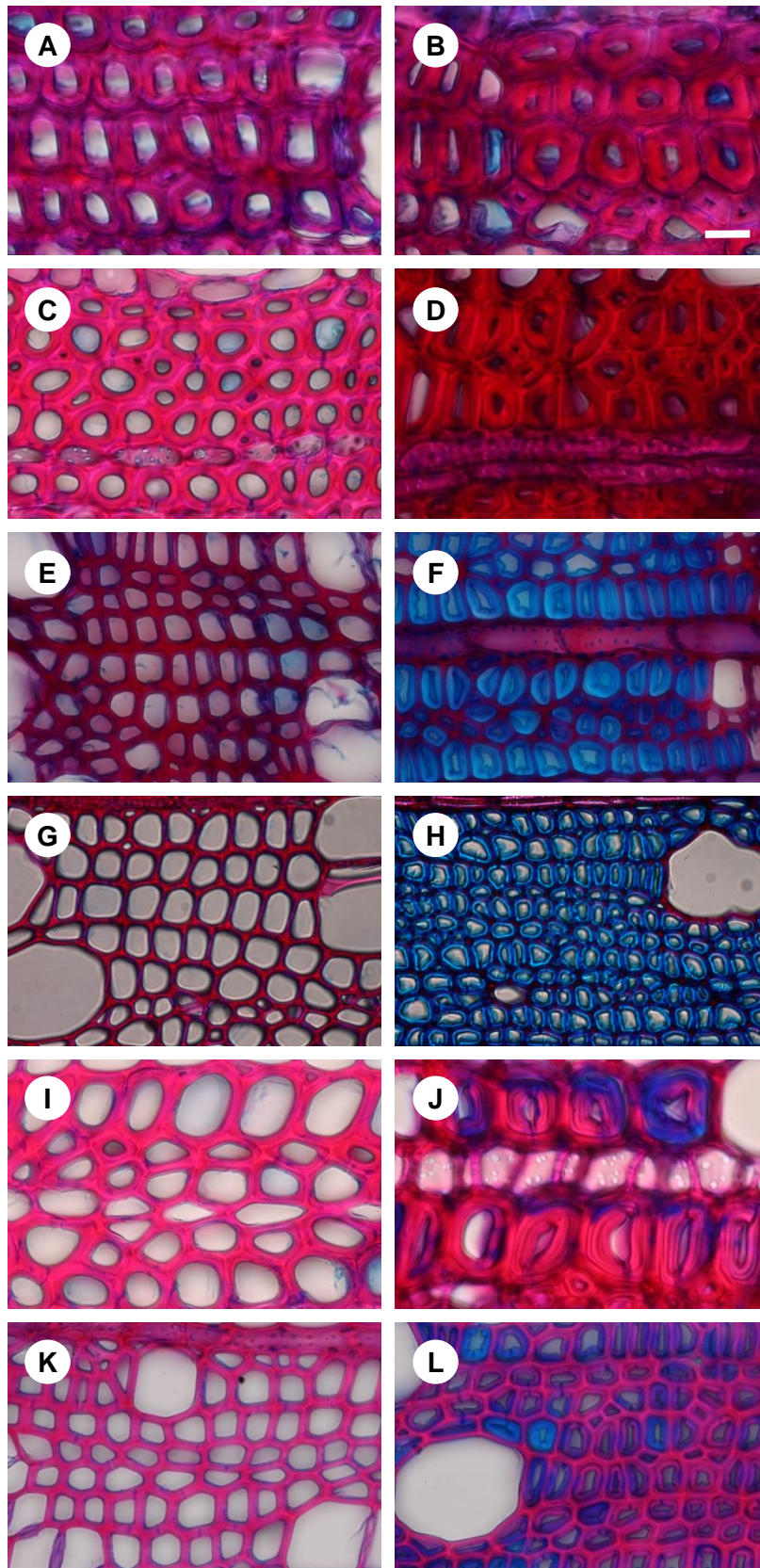


Figure 35. Transverse sections of opposite wood (A, C, E, G, I, K) and tension wood (B, D, F, H, J, L) stained with Safranin/Alcian blue. Scale bar = 20 μm . A, B, Achariaceae; C–L, Salicaceae *s.l.* A, B, *Carpotroche* sp.; C, D, *Banara guianensis*; E, F, *Carrierea calycina*; G, H, *Idesia polycarpa* (sampled in a naturally tilted tree); I, J, *Laetia procera*; K, L, *Salix lucida*. H, L, one layer observed in the G-layer; B, D, F, J, more than two layers observed in the G-layer. Note the presence of lignin in the G-layer.

3.2.1.2.5. Discussion

3.2.1.2.5.1. Tension wood and lignification

In *H. foetidum* (Daniel & Nilsson 1996), the thick layers show weak lignification whereas in *L. procera* (Ruelle *et al.* 2007c), some multilayered fibres are even more lignified than other multilayered fibres. The role of lignification in tension wood is not fully understood yet and is still being investigated (Roussel & Clair 2015). It is, for instance, not clear whether lignification would occur in some species and not in others or whether it is a result of a peculiar environment or mechanical stimulus. Does *D. caffra* lignify or not in reaction to the environment or, for example, due to plant ontogeny (Roussel & Clair 2015) or some other unknown factor? It can nonetheless be noted that we did not observe an obvious pattern of lignification at the level of a species or a genus. A better understanding of the triggers and the role of lignification in tension wood will be necessary to further interpret our observations.

3.2.1.2.5.2. Tension wood fibre wall structure and phylogeny

Although our sample does not include all genera and species of Salicaceae, our results give a clearer representation of the family on the basis of this anatomical character. Chase *et al.* (2002) proposed nine tribes constituting the family (Table 7), primarily following Lemke (1988). We studied 14 genera in five tribes. The seven species studied within tribe Saliceae (*Populus* and *Salix*) did not show multilayered walls. Conversely, among the 12 genera and 24 species studied from the four other tribes, all species except *I. polycarpa* exhibited multilayered tension wood fibre walls. Thereby, among the genera observed in this study (representing 27% of the genera in this last group of tribes), nearly all showed multilayered tension wood cell walls, supporting the idea that this anatomical character would also be present in most of the other non-studied genera.

Table 7. Number and percentage of the studied genera of Salicaceae and of the presence of multilayered walls in tension wood fibres in the studied genera.

Tribe (or genus)	Studied genera			Studied genera with multilayered wall	
	Number	Number	%	Number	%
(<i>Oncoba</i>)	1	0	0	—	—
<i>Flacourtieae</i>	14	6	42	5 (- <i>Idesia</i>)	83
<i>Homalieae</i>	9	1	11	1	100
<i>Saliceae</i>	2	2	100	0	0
<i>Scolopieae</i>	6	0	0	—	—
<i>Abatieae</i>	2	0	0	—	—
<i>Bembicieae</i>	1	0	0	—	—
<i>Prockieae</i>	8	1	12	1	100
<i>Samydeae</i>	13	4	30	4	100
(<i>Scyphostegia</i>)	1	0	0	—	—
	57	14	24	11	78

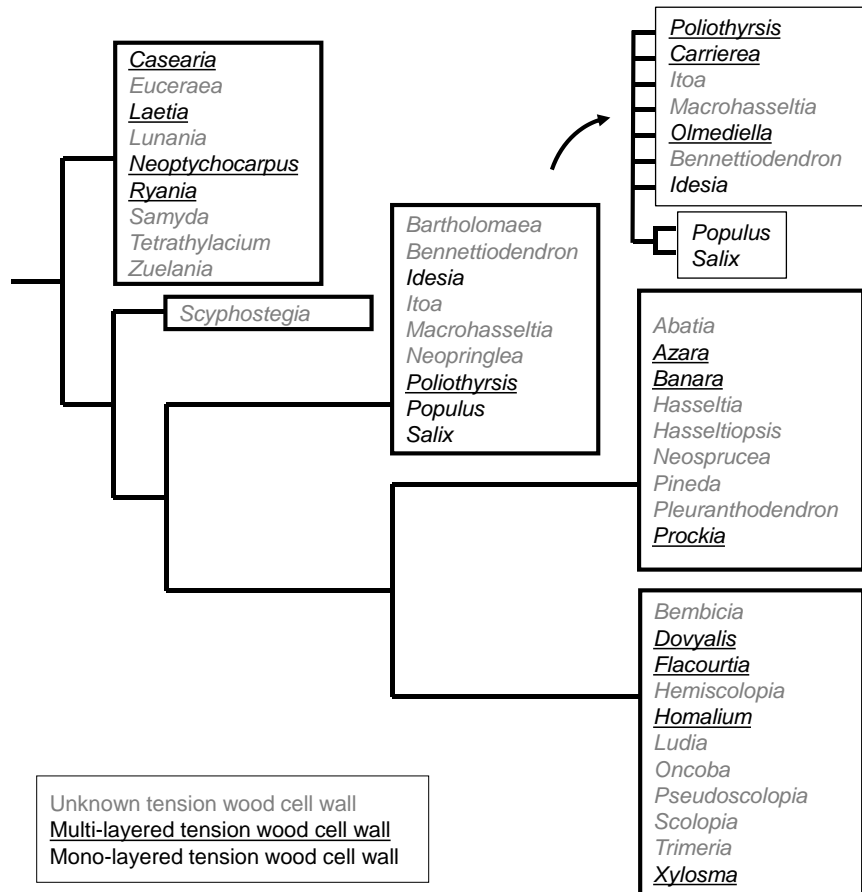


Figure 36. Schematic representation of phylogenetic relationships in Salicaceae s.l., based on Chase et al. (2002) and Alford (2005). Arrow shows immediate relatives of *Salix* and *Populus* according to Alford (2005). Studied species and species from the literature are given in black. Species with multilayered tension wood are underlined.

Nevertheless, the particular exception is *I. polycarpa*, a species for which we could not find multilayered tension wood even within a zone of severe tension wood produced in an artificially tilted tree. *I. polycarpa* is therefore probably unable to form multilayered tension wood cell walls like both *Salix* and *Populus*. Indeed, long ago Hallier (1908, 1912) suggested that *Idesia polycarpa* is closely connected to Salicaceae, an idea relayed by Miller (1975) and supported by the phylogenetic analysis of morphological and DNA data (Leskinen & Alström-Rapaport 1999; Alford 2005). Miller (1975) suggested a close relationship between Salicaceae and some former Flacourtiaceae and attested to the close relationships in wood anatomy between *Idesia*, *Itoa* Hemsl., *Salix*, and *Populus*.

Chase et al. (2002) clearly show the close relationships between *Idesia*, *Bennettiodendron* Merr., *Itoa*, *Poliothyrsis* Oliv. and *Salix* and *Populus*. Alford (2005) added *Carrierea* Franch., *Macrohasseltia* L.O. Williams, and *Olmediella* Baill. to this clade (Figure 36). In this clade, only *Poliothyrsis sinensis* Hook.f., *C. calycina*, and *O. betschleriana* (Bailey & Kerr 1935) produced multilayered tension wood cell walls. It would therefore be of interest to investigate the tension wood of species of *Bennettiodendron* Merr., *Macrohasseltia macroterantha* (Standl. & L.O. Williams) L.O. Williams and *Itoa orientalis* Hemsl. as no information about their tension wood is

currently available. Due to the particular position of *I. polycarpa* and the limited phylogenetic resolution in this clade, the hypothesis is proposed that *I. polycarpa* and both *Salix* and *Populus* may have a recent common ancestor that lost the ability to form multilayered tension wood.

Therefore, on the basis of the multilayered tension wood cell wall, Salicaceae appear structured in two parts: the Salicaceae *s.s.* without multilayered tension wood fibre walls and the former Flacourtiaceae, with *I. polycarpa* (and perhaps *Bennettiodendron*, *M. macroterantha*, and *I. orientalis*) positioned in between. The results clearly distinguish a core ex-Flacourtiaceae on the basis of tension wood. With morphological and genetic characters, tension wood is therefore a useful additional character for understanding the evolution of Salicaceae.

Although this anatomical feature was almost systematically present in the former Flacourtiaceae now classed in Salicaceae *s.l.*, it appears that several species of Euphorbiaceae, a family in the same order of angiosperms (Xi *et al.* 2012), also developed it (Daniel & Nilsson 1996; Encinas & Daniel 1997; Nakagawa *et al.* 2012; B. Ghislain and B. Clair, unpublished results). Additional sampling there, too, may provide broader insights to the evolutionary significance of this character.

3.2.1.2.6. Acknowledgment

This work was supported by the French National Research Agency in the framework of the project “StressInTrees” (ANR-12-BS09-0004). BG benefits from an “Investissements d’Avenir” grant managed by French National Research Agency (CEBA, ANR-10-LABX-25-01). We thank Richard Bellanger from the experimental unit of Villa-Thuret (INRA), Frédérique Dumont from the Monaco Exotic Garden, Frédéric Pautz, Maxime Rome and David Scherberich from the Lyon Botanical Garden, Alain Rousteau (EcoFoG, Université des Antilles) for the collections in Guadeloupe, Jean-François Gonot and Laurent Péru from the Nancy Botanical Garden and Frédéric Tournay from the Strasbourg University Botanical Garden.

3.2.1.2.7. Supporting information

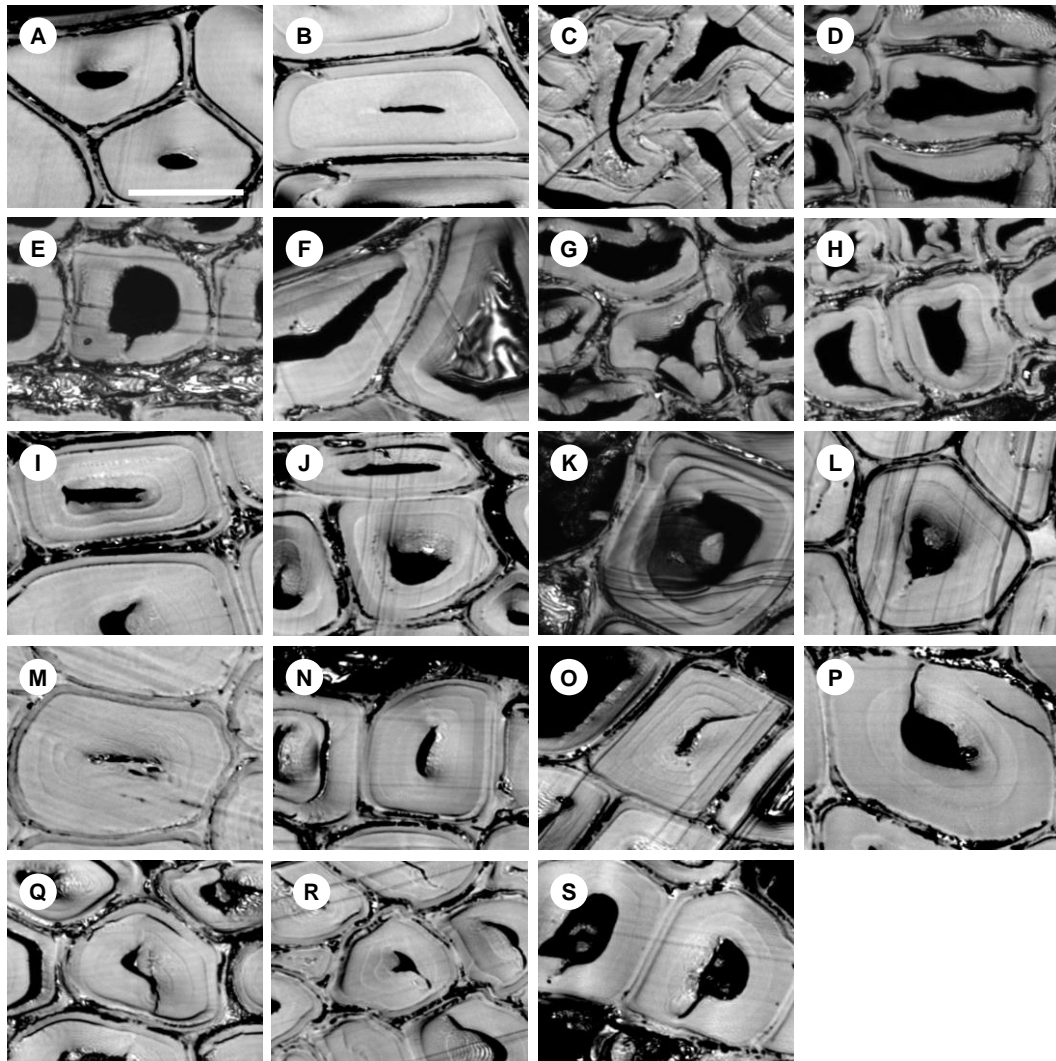


Figure 37. Transverse sections of tension wood fibres observed with 3D laser scanning confocal microscope. Scale bar = 10 μm . A,B, Lacistemataceae; C-S, Salicaceae *s.l.* A, *Lacistema pubescens*; B, *Lacistema* sp (thick S₂ layer); C, *Idesia polycarpa* (sampled in a naturally tilted tree); D: *Populus nigra (italica)*; E, *P. trichocarpa*; F, *P. deltoides* \times *nigra* (thick S₂ layer); G, *Salix myrsinifolia*; H, *S. purpurea* (thick S₂ layer); I, *Casearia commersoniana*; J, *C. grandiflora*; K, *C. guianensis*; L, *C. javitensis*; M, *C. pitumba*; N, *C. sylvestris*; O, *Homalium racemosum*; P, *Ryania speciosa* var. *bicolor*; Q, *Xylosma congesta*; R, *X. flexuosa*; S, *X. japonica*. A-H, one layer observed in the G-layer; I-R, more than two layers observed in the G-layer.

3.2.2. Diversité anatomique du bois de tension sur 291 espèces (article 4)

3.2.2.1. Avant-propos

Cet article est une ébauche en cours de rédaction (Ghislain *et al.* in prep.). Il traite principalement de la diversité anatomique des bois de tension récoltés lors de cette thèse et discute en outre l'éventuel lien entre l'anatomie du bois de tension et le stade ontogénique de l'arbre, les conditions hydriques du milieu et deux indicateurs de la stratégie écologique de l'espèce ; un indicateur direct, le tempérament et un indicateur indirect, la densité du bois).

3.2.2.2. Article 4 : Diversity of anatomical structure of tension wood among 291 species²¹

Barbara Ghislain^{1*}, Julien Engel^{2, 3, 4} and Bruno Clair¹

¹CNRS, UMR EcoFoG, AgroParisTech, Cirad, INRA, Université des Antilles, Université de Guyane, 97310 Kourou, France

²INRA, UMR EcoFoG, AgroParisTech, Cirad, CNRS, Université des Antilles, Université de Guyane, 97310 Kourou, France

³International Center for Tropical Botany (ICTB) Department of Biological Sciences, Florida International University, 11200 SW 8th Street, OE 243, Miami, FL, 33199, USA.

⁴AMAP, IRD, Cirad, CNRS, INRA, Université de Montpellier, Montpellier, France

*Corresponding author

3.2.2.2.1. Introduction²²

3.2.2.2.1.1. Ecological strategies and motor system of trees

Tropical rain forest is characterised by a strong competition between species. Settlement and survival of trees species therefore lead to a high diversification in ecological strategies. To understand these strategies and organise trees species based on their ecological performance, ecologists defined 'functional traits'. Trees were first mainly studied through functional traits regarding leaf and seed. More recently, stem raised interest as it enables leaves to access closer to the light thanks to an efficient skeletal and hydraulic system in wood (Chave *et al.* 2009) and bark (Rosell & Olson 2014). Several functional traits have been defined covering most needs of the plant, wood density as a proxy of stem stiffness (Chave *et al.* 2009), vessel diameter, vessel size, vessel frequency and vessel grouping describing the hydraulic efficiency (Fortunel *et al.* 2014), parenchyma cells, characterising the reserves of the tree (Morris & Jansen 2016), bark thickness discussed as defence system (Rosell 2016). However, up to now, no traits relate the motor performance of the stem. Indeed, the skeletal design of the stem in part achieved by wood strength and stiffness is not sufficient to build high, slender and vertical structures as tree stems (Mouliia *et al.* 2006). The increasing weight of stem and crown during growth would tend to bend the stem downwards if the tree had no motor system to correct its position (Alméras & Fournier 2009). In order to maintain a vertical position or to upright the stem after a life accident (fall of a branch or treefall, collapse of a shore edge, trampling of seedling by animal, etc) a motor system is essential and it is therefore necessary to include functional traits of the motor system in ecological studies (Fournier 2013). This motor system was long thought to be achieved by wood through the differentiation of a tissue in wood called reaction wood (Gardiner *et al.* 2014a). Reaction wood in angiosperms is called tension wood as it generates a

²¹Contribution: récolte des échantillons et anatomie (80%), organisation des données, analyse statistique, écriture de l'article.

²²L'abstract de cet article n'est pas encore écrit.

strong tensile stress on the upper side of a leaning axis and act like a guy-rope bending upward the stem. Recently, phloem has been evidenced as another mechanism in some trees species (Clair *et al.* in prep.), replacing or acting together with tension wood (Ghislain *et al.* in prep.).

3.2.2.2.1.2. Tension wood anatomy in the literature

3.2.2.2.1.2.1. Tension wood species with G-layers

In poplar, the model tree species for the studies on tension wood (Pilate *et al.* 2004b), tension wood is characterized by the presence of a gelatinous layer (G-layer) replacing the S₃ layer and part or the whole S₂ layer of the wood fibres. This G-layer has highly crystalline cellulose almost aligned in the cell axis and arranged in a network. This network is filled by a gel-like mesoporous matrix (Clair *et al.* 2008) made of polysaccharides and proteins (Guedes *et al.* 2017) and little or no lignin (Joseleau *et al.* 2004; Pilate *et al.* 2004a). The last proposed mechanism of stress generation (Alméras & Clair 2016) is based on the swelling of the mesoporous matrix of the G-layer during wood maturation (Chang *et al.* 2015) interacting with the cellulose microfibril network and inducing tension along cellulose (Clair *et al.* 2011). The unlignified G-layer is easily detected on thick anatomical sections because of its low lignin content compared to normal wood fibres allowing the use of cellulose-lignin double staining and because of its gel-like aspect and its detachment from the S₂ layer due to release of the internal stress during sectioning.

The G-layer shows however some anatomical variations. G-layers may in some species be divided in sublayers by thin lignified layers apparently close to an S₃ layer (Ruelle *et al.* 2007c). These G-layers are called multi-layered G-layer and may also contain various amounts of lignin (Ruelle *et al.* 2007c; Ghislain *et al.* 2016). In addition, several references indicate that G-layer may contain various amounts of lignin, located in part of or in the whole G-layer (Ghislain & Clair 2017). When G-layer is fully lignified, it may be indistinguishable from a normal wood cell wall (Roussel & Clair 2015). For long, these species were considered as without G-layers. In the recent review on the pattern of lignification of tension wood cell wall (Ghislain & Clair 2017), the description of anatomical patterns was built on the comments of the authors or based on our interpretation of the illustrations present in the publications, which barely exceed a few cells of tension wood. To enable classification of lignified G-layers, a careful observation of the fibre maturation process is nonetheless needed and allows a clear conclusion (Roussel & Clair 2015).

3.2.2.2.1.2.2. Tension wood species without G-layers

However, in some species it seems that tension wood really lacks G-layers. Tension wood in these species are described as characterised by thinner fibre cell walls and enlarged parenchyma cells (Ghislain & Clair 2017). The mechanism of tensile stress generation relies on the interaction of both wood and bark (Clair *et al.* in prep.)²³. Phloem in these species is characterized by a trellis structure at the millimetric scale made of phloem fibers and filled with parenchyma cells. Wood eccentric radial growth leads to a tangential extension of bark. This tangential extension is redi-

²³ This mechanism is described in chapter 4.

rected in longitudinal direction thanks to the trellis structure. This mechanism has proven to be as efficient as the G-layer mechanism to restore verticality in young seedlings (Ghislain *et al.* in prep.).

3.2.2.2.1.3. Aims of the paper

3.2.2.2.1.3.1. Diversity of tension wood anatomy

As late lignification is likely to occur (Roussel & Clair 2015), the first aim of this study is to examine larger sections of tension wood, including the cambial zone, in order to describe the diversity of tension wood anatomy on a large number of species. This description should facilitate future studies on tension wood anatomy.

As an important part of tension wood studies are on temperate studies, we added few temperate species in our database.

3.2.2.2.1.3.2. Tension wood database of tropical species

Species from French Guiana were grouped in a dataset to test an eventual link between lignin repartition in tension wood with G-layers and ontogenic stage, as well as waterlogging conditions.

To discuss the functional role of the diversity of tension wood anatomy, this tropical database is crossed with traits related to the ecology of the species: species temperament and wood density.

3.2.2.2.2. Materiel and methods

3.2.2.2.2.1. Plant material

Plant material was collected in French Guiana both on seedling and adult trees. Most sampling was performed randomly, without any *a priori* choice of the species, except for species of Salicaceae family which were actively searched in the framework of a study on the presence of multi layered tension wood in this family (Ghislain *et al.* 2016).

3.2.2.2.2.1.1. Juvenile trees

We defined “juvenile trees” as trees with diameter at the collar below 2.7 cm, without knowledge on the age of the tree. Juvenile trees analysed in this study belong to several experimental setup:

1. 81 naturally tilted juvenile trees covering 66 species in 34 families were sampled in September 2013 at the “Piste de Saint-Elie” research station near Sinamary in French Guiana.
2. On the same site, 110 juvenile of 77 species in 29 families were guyed at an angle of 45° during 17 month to ensure tension wood production. Sampling places were located in three different environments with distinct conditions of waterlogging. Hilltop and slope had low intensity waterlogging and bottomland had high intensity of waterlogging (Ferry *et al.* 2010). They were sampled in April 2016.
3. Seeds and seedlings were collected in the tropical rainforest in French Guiana and grown in a greenhouse at the agronomic campus of the Research Unit EcoFoG in Kourou. After being transplanted in pots, they were staked and acclimatized in the experimentation greenhouse for one month. They were then tilted at 45° for 2 to

11 months. Eventual sprouts were cut during the whole experiment, to ensure tension wood production. Artificially tilted seedlings represent more or less 400 individuals of 43 species and 23 families. Only one individual per specie is taken into account in the following analyses.

4. Additionally, anatomical sections of a previous study on juvenile trees grown in French Guiana and freely recovering from tilting were re-observed and added to this study (Alméras *et al.* 2009). This added 8 species and 4 families to our study.

5. One juvenile tree (*Idesia polycarpa*) was artificially tilted in Japan for the need of a study (Ghislain *et al.* 2016). In addition, seeds from Madagascar (*Adansonia za*) were grown in a greenhouse and naturally tilted at 45°.

3.2.2.2.1.2. *Adult trees*

“Adult trees” were defined as trees for which diameter at breast height (DBH) was higher than 4.5 cm. DBH varied between 4.5 cm and 77.3 cm.

Naturally tilted adults trees with at least 11° of lean were mainly sampled at the “Piste de Saint-Elie” in September and November 2014. These trees represent 133 individuals of 103 species and 38 families. In addition, 6 individuals of 4 species were sampled on naturally tilted trees near Paracou experimental station and 2 species were sampled from stem disks of previous studies, near cambium on the upper side of leaning stems.

Naturally tilted trees in French Guiana from previous studies were added (Clair *et al.* in prep., 2006). In these studies, tension wood production is ensured by the record of maturation stress. Trees sampled but not published were also added, after verification that higher maturation stress were recorded in tension wood. The study of Clair *et al.* (2006) added 24 species of 19 families and the study of Clair *et al.* (in prep.) added 9 species of 6 families.

3.2.2.2.1.3. *Branches*

To enlarge the studied species, we sampled naturally tilted branches in French Guiana, Guadeloupe, France and Japan, among other for the study of Ghislain *et al.* (2016). Sampling of branches represents 60 individuals, 52 species and 14 families.

Table 8. Description of plant material used for this study. Number of individuals, species and botanical families are indicated for juvenile trees from French Guiana (FG), for adult trees from FG, for merged database of juvenile and adult trees from FG and for the rest of the sampling including branches from FG and branches or juvenile trees from Guadeloupe, France, Japan and Madagascar.

<i>Plant material</i>	<i>Individuals</i>	<i>Species</i>	<i>Family</i>
Juvenile trees (FG)	259	164	44
Adult trees (FG)	177	128	40
Adults + juveniles (FG) (=tension wood database on tropical species)	436	245	52
Branches (FG, Guadeloupe, France, Japan)	62	53	14
Juvenile trees, (Japan, Madagascar)			
Total	498	291	58

In total, the study represents 498 individuals of 291 species and 58 families. 66% of the species are represented by a single individual, 20% by 2 or 3 and 14% by 4 to 8.

3.2.2.2.2. Microscopy observation

Samples were kept wet until sectioning. Bark was partially or totally removed on most samples. Sections of 20-50 μm thick were cut with a sliding microtome and stained with Safranin and Alcian blue 8GX. Safranin stains lignified cell walls in red and Alcian blue stains unlignified cell walls in blue. They are mounted on glass slides and observed under bright field with an optical microscope (Olympus BX2). We focused our observations on wood anatomy exclusively.

On a few number of twin sample, section were prepared with diamond knife after embedding in LRwhite resine and observed without stain under the same microscope but equipped with a mercury lamp (USH102D USHIO) generating light filtered with fluorescence filter cubes U-MNU2 (Olympus, excitation filter: 360–370 nm, dichromatic mirror: 400 nm, emission filter: 420 nm). Thanks to lignin autofluorescence, lignified cell walls are highlighted whereas unlignified cell walls remain dark (Roussel & Clair 2015). Observation on twin samples with both technics confirm the accuracy of lignin presence revealed by safranin-Astra-blue staining with numerous patterns of lignification, even in a single section (Figure 38). On a few species (*Gossypium hirsutum*, *Pachira aquatica*, *Theobroma cacao* and *Theobroma grandiflorum*), tangential or radial sections on normal wood and tension wood of seedlings staked and artificially tilted in a greenhouse were performed to understand the anatomy of tension wood without G-layers.

3.2.2.2.3. Tests performed on tension wood database of tropical species

3.2.2.2.3.1. Ontogenic stage

The anatomy of tension wood is compared between juvenile and adults trees to analyse if change may occur during ontogeny. Juvenile trees and adult trees are two datasets randomly picked among bended trees in the forest or seeds to grow in a greenhouse.

46 species were sampled both as juvenile and adult trees and the effect of ontogenic stage within specie could be compared. For the entire dataset of 245 species, considering a random sampling in both juvenile and adult trees²⁴, one can compare the trend in the type of tension wood in these two ontogenetic stages at an interspecific level.

3.2.2.2.3.2. Waterlogging condition

Waterlogging condition was recorded for 110 juvenile trees of 77 species. We sampled 79 trees on low intensity waterlogging (53 trees on hilltop and 26 trees on slope) and 31 trees on bottomland in high intensity of waterlogging.

3.2.2.2.3.3. Species temperament

Due to the huge diversity of tree species of the tropical rainforest, numerous species are not well described. As a result, specie temperament is known for only a portion of our dataset. Temperament was affected to 94 species by E. Nicolini (pers. comm.).

²⁴ Ce point est en cours de discussion avec notre co-auteur.

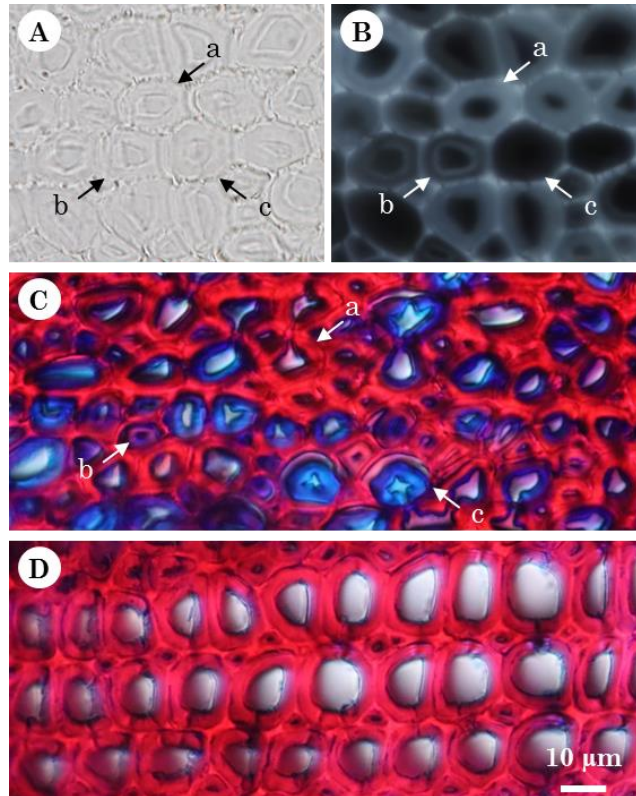


Figure 38. Comparison of a section of tension wood (A, B and C) and of normal wood (D) of *Brosimum rubescens*. A, B: 2 µm thin section without stain observed both with bright field (A) and under UV light (B). C, D: semi-thin section of 20-50 µm thickness stained with Safranin and Astra blue. Cambium is located on the left. Cell wall thickness (A) and lignin autofluorescence (B) allow to detect entirely lignified G-layers (a), partly lignified G-layers (b) and unlignified G-layers (c). As the stained section is thicker (C) it does not allow locating lignin in the G-layer as precisely but gives information on the variability of the amount of lignin in G-layers.

Temperament was either heliophilic, hemi-tolerant or tolerant/sciaphilic. It was categorized as either heliophilic or hemi-tolerant to sciaphilic.

3.2.2.2.3.4. Wood density

Wood density at 12% was reported for 107 of our species in Détienne & Jacquet (1983) and 49 species in Gérard et al. (2016). In overall, wood density is reported for 114 of our species. In Détienne & Jacquet (1983), wood density is categorised as lower than 0.65 g.cm⁻³, between 0.65 and 0.85 g.cm⁻³ and higher than 0.85 g.cm⁻³. This categorisation is simplified as strictly lower than 0.85 g.cm⁻³ and higher than 0.85 g.cm⁻³.

3.2.2.2.4. Statistical analysis

Statistical analysis on categorized variable was performed using Chi-square test at 95% confidence after verification of the conditions of application of the test.

3.2.2.2.3. Results

3.2.2.2.3.1. Anatomical diversity of tension wood

3.2.2.2.3.1.1. Tension wood with G-layers

3.2.2.2.3.1.1.1. Unlignified G-layers

Unlignified G-layers appear on most of tension wood sections, most of time near the cambium. However sections for which G-layers remain unlignified far from the cambium, like in *Populus* (Pilate *et al.* 2004a), are quite rare.

Far from the cambium, where all fibres are mature, unlignified G-layer is observed in only 6% of the 498 sections (Figure 39.A). However, a slight stain for lignin is sometimes observed inside fibres. For example, in some fibres, the G-layer is mainly unlignified but stains can be seen towards the edges of the cell (Figure 39.B). In some other cases, on the whole tension wood sector, all G-layers may present traces for lignin and show only slight stain. Tension wood with mainly unlignified G-layers (as shown in Figure 39.A-C) represents 12% of the 498 sections (45 species).

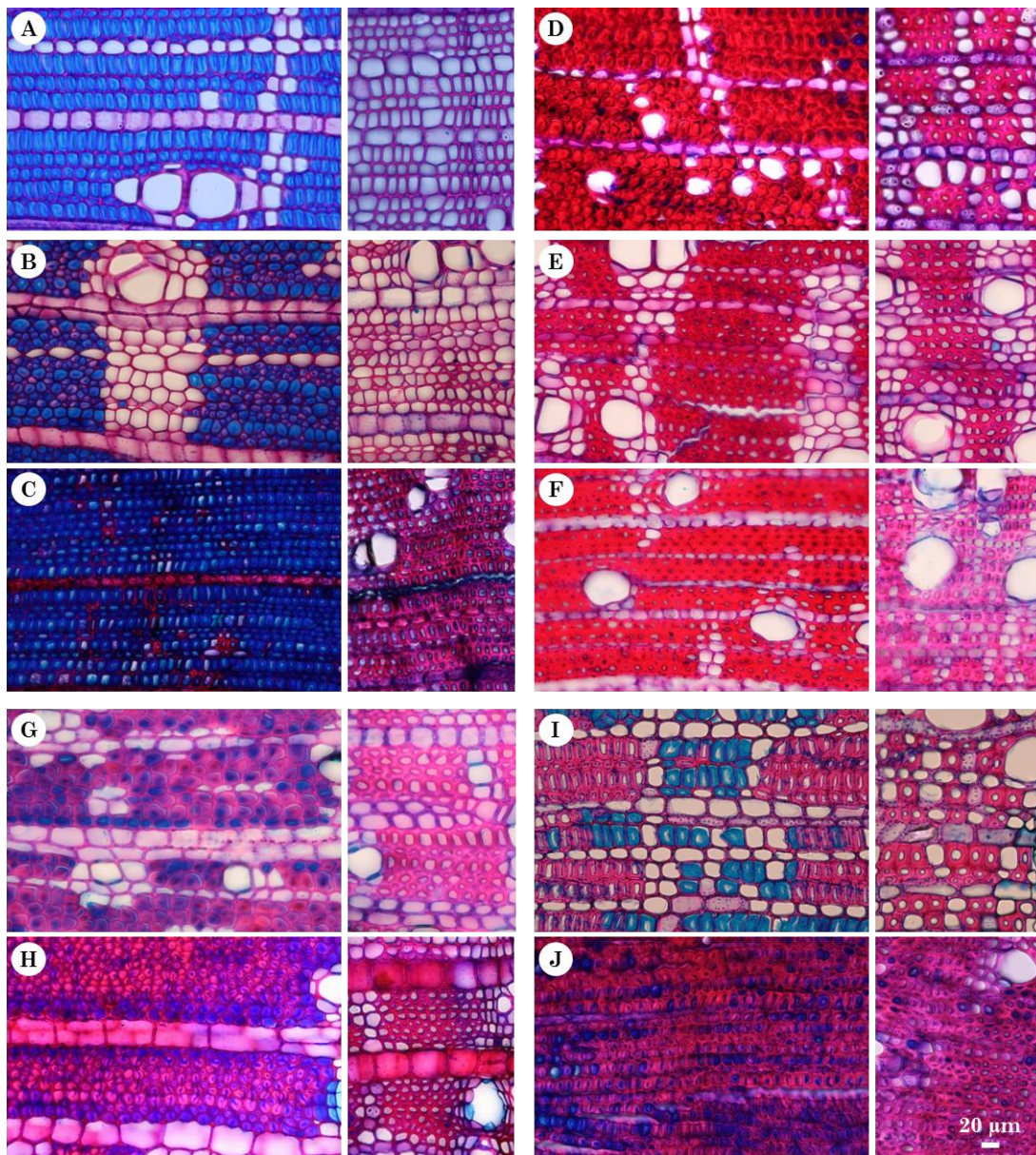


Figure 39. Patterns of lignification of the G-layers in tension wood. Tension wood (left) and opposite wood (right) of *Hevea guianensis* (A), *Macarobium bifolium* (B), *Protium guianense* (C), *Manilkara bidentata* (D), *Guarea guidonia* (E), *Licania macrophylla* (F), *Sextonia rubra* (G), *Eperua grandiflora* (H), *Lacistema grandifolium* (I), *Tachigali melinonii* (J). G-layers are either unlignified (A-C), lignified (D-F) or in between (G-J). Cambium is located on the right.

3.2.2.2.3.1.1.2. Patterns of lignification

On 71% of the 498 sections, which represents 214 species, G-layers having various stains of lignin were commonly observed (Figure 38; Figure 39.D-J). Lignification occurs either after the G-layer had reached its final thickness or during the cell wall thickening (Figure 40), often with a delay between thickening and lignification. Cell maturation could not always be observed, either because the tree was not growing when it was sampled or in a fewer cases because tension wood sector is located far from the cambium in some naturally tilted juvenile trees or branches. When no un-lignified G-layer was observed and when cell maturation could not be observed (61 sections), lignified G-layers could be recognized by their swollen aspect, sometimes detached from the S₂ layer, the difference in thickness of the fibre wall compared with normal due to the swelling of the G-layer due to sectioning (Clair *et al.* 2005a) or a strong difference in the stain intensity compared with normal wood fibre cell wall (Figure 41).

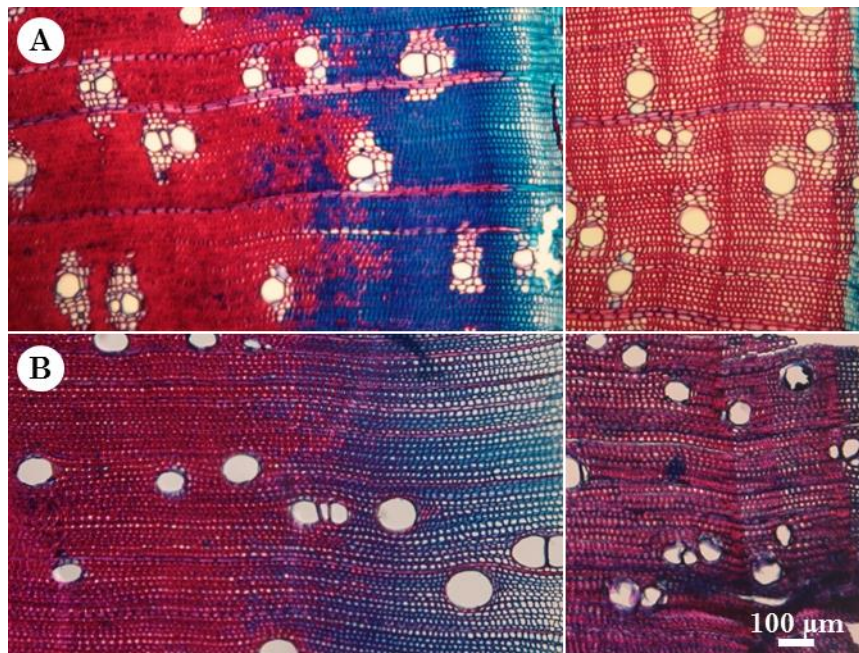


Figure 40. Lignification occurrence during cell maturation in G-layers: either after G-layer thickening was completed (A) or during G-layer thickening (B). Tension wood (left) and opposite wood (right) of *Ocotea percurrans* (A) and *Cupania scrobiculata* (B). Cambium is located on the right.

At the cell level, the G-layer has either a homogenous or heterogeneous stain on the whole G-layer thickness, which can be more or less intense (Figure 38).

At the tissue level, in 49% of the 498 sections (159 species) all G-layers were fully homogeneously lignified far away from the cambium (Figure 39.D-F). In 22% of the sections (78 species), lignification could occur in some G-layers and not on others, with a heterogeneous stain or not and in a random way or not (Figure 39.G-J). As example, in *Pourouma* sp.1, lignified G-layers occurred on the borders of the tension wood arc only.

3.2.2.2.3.1.1.3. Multi-layered G-layers

Independently from G-layer lignification, G-layers may be multi-layered, *i.e.* at least

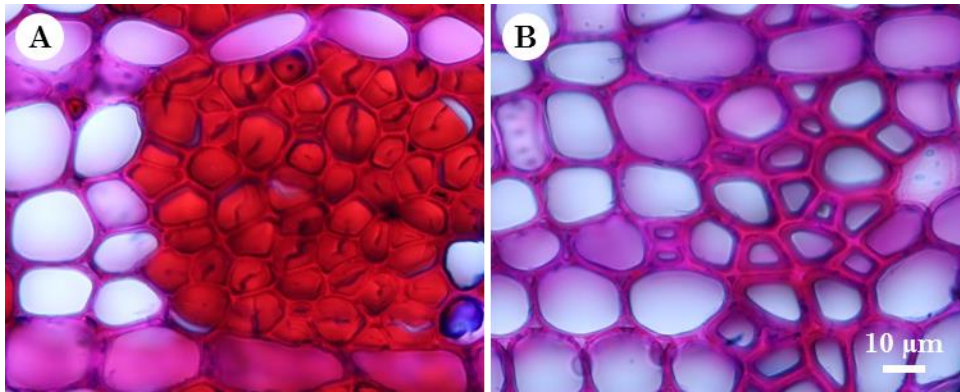


Figure 41. Swollen aspect of the lignified G-layer, detached from the S₂ layer (A) compared to normal wood fibres (B). Tension wood (A) and opposite wood (B) of *Dicorynia guianensis*. Note the difference in stain between the G-layer (A; deep red) and S₂ layer of normal wood fibres (B; pink-red) within a single wood section.

divided in two sublayers by thin lignified layers (Figure 42) described as a S₃ layer by Ruelle et al. (2007c). Multi-layered G-layers are not frequently observed. In a tension wood section, a few isolated multi-layered G-layers occurred sometimes in diverse species. Most of (or all) G-layers of a tension wood section are multi-layered in 53 sections of 27 species, *i.e.* in *Licaria martiniana* (Lauraceae), in all species of Euphorbiaceae except *Mabea piriri* and *Mabea sp.1* and one of the two sections of *Sagotia racemosa* and in all species of Salicaceae except *Populus*, *Salix* and *Idesia*. G-layers were divided in two sublayers in *Hevea guianensis*, *Licaria martiniana* and *Mabea sp.1* whereas in *Mabea piriri*, *Sagotia racemosa* and species of Salicaceae except *Populus*, *Salix* and *Idesia* could be divided in a higher number of sublayers (Ghislain et al. 2016).

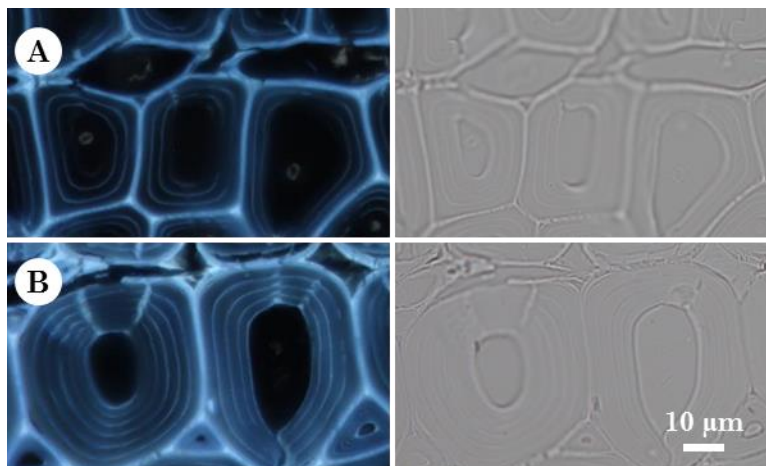


Figure 42. Multilayered G-layer of *Laetia procera* on 2 µm thin section without stain observed both with UV light (left) and bright field (right). Multi-layered G-layers during cell wall maturation (A) and after the end of cell wall thickening (B). Note the thin lignified layers dividing the G-layer. Uncontinuous thin lignified layer, for example observed on the right cell of B, is due to photograph stacking reconstruction.

In 14 sections, namely two third of the sections of Burseraceae and sections of *Ta-pirira obtusa*, *Thyrsodium puberulum* and *Quercus sp.1*, the G-layer seems divided in two sublayers. Thin unstained section of tension wood of *Protium decandrum* (Burseraceae) observed with lignin autofluorescence confirmed these G-layers are not divided by thin lignified layers as in Figure 42 but rather have a difference of

lignin between outer part of the and inner part of the G-layer (which is around 50% thickness of the G-layer). It is not clear however if inner and outer part are both G-layers or if the external one is a S₂ layer, which is then less stained than in normal wood.

In tension wood sections in which the G-layer fibre cell wall is especially thick and completely lignified, concentric shapes as the upper left drawing of figure 4 of Casperson (1967) are sometimes observed. However, they are not considered as multi-layered G-layers, as no clear layering is observed like in *Laetia procera* (Figure 42).

In 12 sections of 10 species (*Dendrobangia boliviana*, *Garcinia benthamiana*, *Inga gracilifolia*, *Platonia insignis*, *Symphonia globulifera*, *Symphonia* sp.1, *Tovomita* sp.1 and maybe *Tapura guianensis*), G-layers were divided in two sub-layers on a radial file of around 30 fibres, with one layer becoming thinner as the other is thickening when going away from the cambium. The other G-layers of these sections are not multi-layered. This progressive bi-layering is sometimes associated with transition zones (*Inga gracilifolia* and possibly *Tovomita* sp.1) between normal wood and tension wood but sometimes occurs in the middle of a tension wood sector as was observed in 3 sections of *Dendrobangia boliviana*. In this species, progressive bi-layering occur with a change in lignification of the G-layer (Figure 43). It would seem that the tree first produce unlignified G-layers, which at some point need to be lignified. If this need of lignification happened when the tree is growing, fibres not yet mature might change their cell wall organisation during maturation process. This would explain why progressive bi-layering is observed. Fibres which almost reached their final thickness would only change the last portion of the cell wall (cells on the left of Figure 43). Fibres which were just produced would change major part of their cell wall (cells on the right on Figure 43). This need in lignification in a growing tree seems to be similar to the progressive increase of the G-layer thickness to the detriment of the S₂ layer thickness due to tilting, observed during transition zone between normal wood and tension wood of wood actively growing when tilting occurred. The reason for a sudden need in lignification of the G-layer of this species is not known, as the three sections came from both naturally and artificially tilted trees in the forest. G-layers in progressive bi-layering are not considered as multi-layered G-layers.



Figure 43. Progressive bi-layering of the G-layer in *Dendrobangia boliviana*. Cambium is located farther on the right (not visible). Progressive bi-layering occur with a change of lignification in this species.

3.2.2.2.3.1.2. Tension wood without G-layers

Tension wood without G-layers is recognized by its decreased cell wall proportion compared to normal wood. It is not always clear on our transverse sections whether the thin-walled cells of tension wood are axial parenchyma or fibres, therefore tangential or radial sections were observed in *Gossypium hirsutum*, *Pachira aquatica*, *Theobroma cacao* and *Theobroma grandiflorum* (Figure 44). In these species at

least, parenchyma size and proportion of fibre and parenchyma seem to be modified in tension wood. In other species like *Unonopsis* sp.1, fibre cell wall seems to be decreased. However, tangential or radial sections are needed to confirm this. Modification of the anatomy between normal wood and tension wood is even more visible on juvenile trees than on adult trees, for which tension wood anatomy seems sometimes similar to that of normal wood.

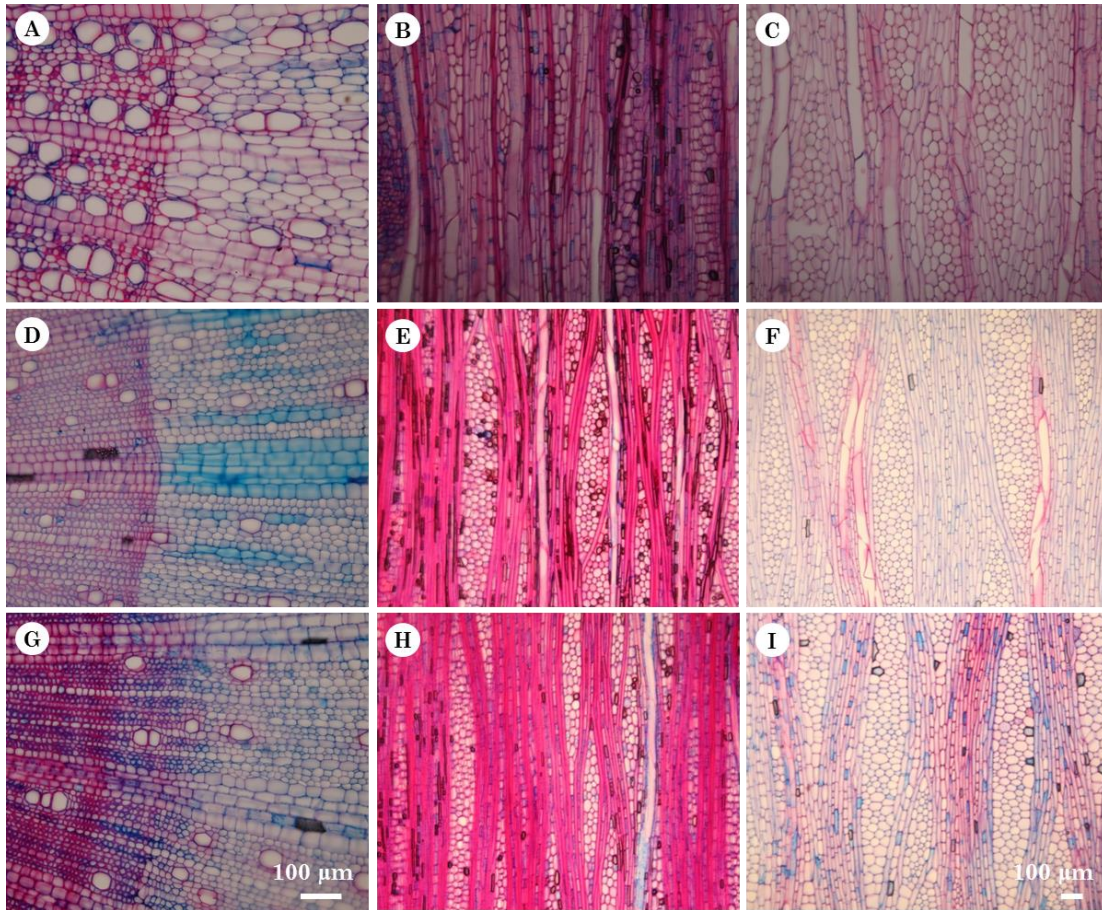


Figure 44. Transverse section of transition between normal wood and tension wood (A, D, G) and tangential section of opposite wood (B,E,H) and tension wood (C, F, I) of artificially staked tilted seedlings of *Pachira aquatica* (A-C), *Theobroma cacao* (D-F) and *Theobroma grandiflorum* (G-I). Note fibres are almost absent in tension wood compared to normal or opposite wood (Photos H. Morel).

Tension wood without G-layers was identified in 14% of the 498 sections, which represent 39 species. Except for the species for which botanical family could not be determined, they belonged to 8 botanical families: Annonaceae (10 species), Bignoniaceae (2 species), Boraginaceae (3 species), Lamiaceae (1 species), Malvaceae (15 species), Myristicaceae (4 species), Styracaceae (1 species) and Verbenaceae (1 species). Except for Annonaceae, all studied species of these families had tension wood without G-layers or undetermined tension wood. In Annonaceae, 4 species seem to have lignified G-layers: *Guatteria guianensis*, *Guatteria schomburgkiana*, *Oxandra asbeckii*, *Xylopia crinita*. Although cell maturation could not be observed, difference in cell wall staining as in Figure 41 was observed. Tension wood from these species came from naturally leaning trees in the forest. Artificially tilted trees would be needed to complete our observation of tension wood anatomy on these species.

3.2.2.2.3.1.3. *Undetermined tension wood*

Tension wood of 3% of the 498 sections, representing 9 species could not be classified. They are probably either fully lignified G-layers (Apocynaceae, Chrysobalanaceae, Magnoliaceae and undetermined botanical family) or without G-layers (Annonaceae, Malvaceae and Myristicaceae).

3.2.2.2.3.2. *Anatomical group*

3.2.2.2.3.2.1. *Definition*

Tension wood anatomy is highly diverse. In order to understand repartition of tension wood anatomy and variation observed between individuals and/or species and eventually perform tests, simplification of tension wood anatomy is needed. We defined 4 anatomical groups based on the anatomy of tension wood. Three anatomical groups for tension wood with G-layers represent the variability of lignin amount in the G-layer and one group for tension wood without G-layers. Multi-layers are not included in the anatomical groups, as they are mainly confined to three botanical families.

For tension wood with G-layers, we defined anatomical groups based on the main trend in overall G-layer lignification of mature wood, i.e. wood for which maturation is completed, including late lignification. If most of mature G-layers are unlignified, the anatomical group is named “unlignified G-layer” (Figure 39.A-C). If mature G-layers have unlignified as well as lignified G-layers or have G-layers not completely lignified, the anatomical group is “partly lignified G-layer” (Figure 39.G-J). If all mature G-layers are lignified, the anatomical group is “lignified G-layer” (Figure 39.D-F).

After all sections were assigned with an anatomical group, they were grouped by species and by ontogeny. In case of conflict, major anatomical group or anatomical group of the tree with the highest reaction was assigned (artificially tilted vs naturally leaning).

3.2.2.2.3.2.2. *Repartition*

On the 498 tension wood sections, only 3%, anatomical group could not be determined and are probably either “lignified G-layer” or “without G-layer”. Tension wood with G-layers represent the majority of our sample (83%) compared to tension wood without G-layers (14%). “Lignified G-layer” is the most common type of lignification of tension wood with 49% of all sections represented, followed by “partly lignified G-layer” with 22% and “unlignified G-layer” with 12%.

On juvenile trees selected for the tension wood database of tropical species, 26.4% of the 53 species for which several individuals were studied had 2 different anatomical groups assigned. For 9 species, both anatomical groups “lignified G-layers” and “partly lignified G-layer” were observed. In 4 species, both “unlignified G-layers” and “partly lignified G-layers” were observed. In *Goupia glabra*, G-layers were either completely lignified in Clair et al. (in prep.) or completely unlignified in Ghislain et al. (2016).

For adult trees selected for the tension wood database of tropical species, 21% of the 38 species for which several individuals were studied had 2 different anatomical

groups assigned. For 4 species, both anatomical groups “lignified G-layers” and “partly lignified G-layers” were observed. For two species “partly lignified G-layers” and “unlignified G-layer” were observed. In two species, either “without G-layer” and “undetermined tension wood” (*Virola surinamensis*) or “lignified G-layer” and “undetermined tension wood” (*Oxandra asbeckii*) was observed.

3.2.2.2.3.3. Change in anatomical group during ontogeny

Only 46 species among the 245 species were sampled both as juvenile and adult. In 10 species of anatomical group « without G-layer », 4 had adults for which tension wood anatomy could not be determined. Difference of anatomy between normal wood and tension wood is less marked in adult trees of the species “without G-layer”. On 38 species with G-layer in tension wood, 53% had similar tension wood in both juvenile and adults, 3% had less lignin in adult tree (*Poecilanthe hostmannii*), 22% had more lignin in adult tree and for 22% we could not tell, as there were conflicts of anatomical group inside juvenile or tree. On 38 species, anatomical group of trees are 6% “unlignified G-layer”, 19% “partly lignified G-layer”, 69% “lignified G-layer” and 6% “undetermined tension wood” but probably lignified G-layer. When adult trees have an anatomical group with more lignin than juvenile trees, adult tree has the anatomical group “lignified G-layer” except for *Macrolobium bifolium*, and juvenile has “partly unlignified G-layer”. Indeed, in species like *Banara guianensis*, *Laetia procera* and *Simarouba amara*, lignification occurs late after cell wall thickening is completed and does not affect all the G-layers in juvenile trees, even in mature wood, whereas in adult trees, all G-layers are lignified at the same time. In these species, tension wood lignification would be underestimated if juvenile tree only was sampled.

When comparing 245 species among which only 46 are common between juvenile and adult trees, there is no significantly different repartition of species with and without G-layer ($P>0.05$; Figure 45). For the 207 species with G-layers, repartition between anatomical groups lignified G-layers and partly lignified G-layers significantly differs between seedling and adult tree ($P<0.01$; Figure 45).

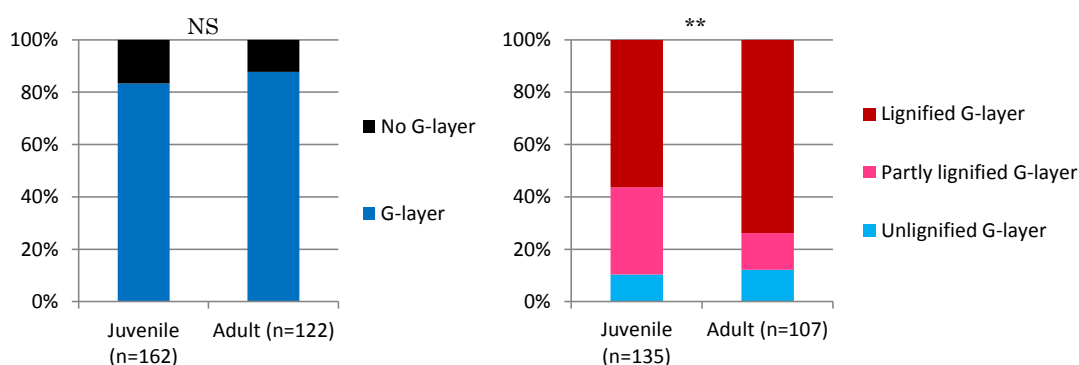


Figure 45. Change in anatomical group during ontogeny. Repartition between anatomical groups with or without G-layers (left) and between anatomical groups of G-layers with difference in G-layer lignification (right) between juvenile trees and adult trees. P-value of Chi-square test is indicated (NS, $P>0.05$; *, $P<0.05$; **, $P<0.01$; ***, $P<0.001$).

3.2.2.2.3.4. Effect of waterlogging conditions on lignification of G-layers

Anatomical group with G-layer varies inside one given species. Indeed 26% of juvenile trees species and 21% of adult trees species for which we had at least 2 sections have two anatomical groups assigned. Therefore, we made the hypothesis that environmental conditions may affect overall lignification of G-layers. We choose to test the eventual link between waterlogging condition and overall lignification of G-layers of juvenile trees.

Analysis is performed on 72 juvenile trees having anatomical groups with G-layers and sampled in the forest in contrasted waterlogging conditions. Results indicate that lignification of G-layers is not significantly dependent on waterlogging condition ($P>0.05$; Figure 46).

Seven species with G-layers in their tension wood were sampled in both high waterlogging and low waterlogging conditions. Anatomical group was similar on high waterlogging and low waterlogging for 5 species (*Dendrobangia boliviana*, *Endlicheria melinonii*, *Eperua falcata*, *Schefflera decaphylla* and *Trichilia schomburgkii*). On 2 species, less lignin was found in tension wood of trees located in high waterlogging conditions (*Chrysophyllum sanguinolentum* and *Tabernaemontana undulata*). However, intra-specific variation of lignin was observed as well in a given waterlogging condition (*Lacmellea aculeata*, *Protium guianense* and *Symphonia globulifera*).

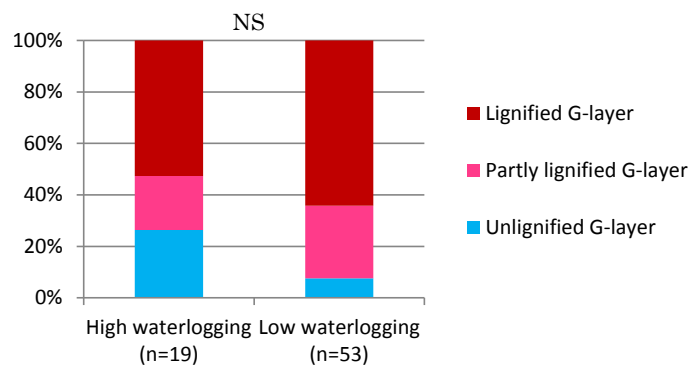


Figure 46. Repartition of anatomical group with G-layers of juvenile trees sampled in contrasted waterlogging conditions. Samples from bottomland are in high waterlogging condition and those from hilltop or slopes are in low waterlogging conditions. P-value of Chi-square test is indicated (NS, $P>0.05$; *, $P<0.05$; **, $P<0.01$; ***, $P<0.001$).

To further investigate the effect of environmental conditions on anatomical groups of G-layer, future studies should focus on intraspecific variations of anatomical group of tension wood in contrasted environments.

3.2.2.2.3.5. Species temperament

We hypothesised that the anatomical diversity of tension wood could be linked to species ecological strategy. Therefore, we choose to investigate the eventual link between anatomical group and species temperament and wood density. Dataset of anatomical group of tension wood of juvenile and adult trees are merged. In case of conflict of anatomical group, major anatomical group or anatomical group of adult

tree is assigned. Species temperament was determined for 94 species of the merged dataset.

Anatomical groups with or without G-layers are not significantly dependent on species temperament ($P>0.05$, Figure 47). Anatomical group without G-layer is found as well in heliophilic species such as *Cordia alliodora* as in sciaphilic species like *Anaxagorea dolichocarpa*.

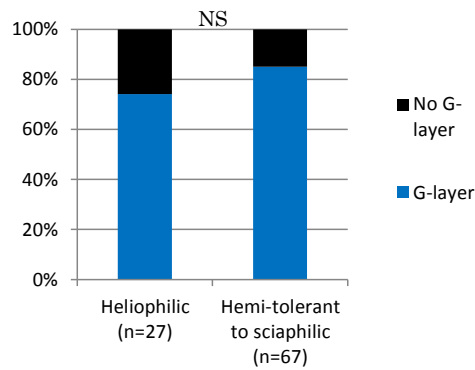


Figure 47. Repartition of anatomical group with or without G-layers between species temperament on merged adult and juvenile dataset. P-value of Chi-square test is indicated (NS, $P>0.05$; *, $P<0.05$; **, $P<0.01$; ***, $P<0.001$).

Anatomical group with G-layer is significantly dependent on species temperament in merged juvenile and adult dataset ($P<0.001$; Figure 48). Heliophilic species show a greater percentage of the anatomical group unligified G-layer. In the 57 h mi-tolerant to sciaphilic species, only *Brosimum parinarioides* and *Eperua falcata* were reported to have unligified G-layers. When data is split between juvenile trees and adult trees, the number of individual in each group is too low and in both ontogenic stages the difference is not significant ($P>0.05$; Figure 48).

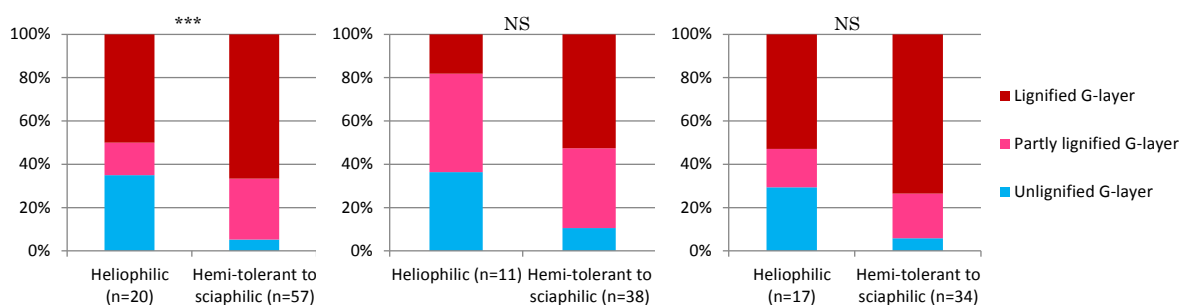


Figure 48. Repartition of anatomical group with G-layers between species temperament on merged adult and juvenile dataset (left), on juvenile trees only (middle) and on adult trees only (right). P-value of Chi-square test is indicated (NS, $P>0.05$; *, $P<0.05$; **, $P<0.01$; ***, $P<0.001$).

3.2.2.2.3.6. Wood density at 12%

Presence or absence of G-layer in tension wood is significantly dependent on categorized wood density at 12% ($P<0.01$; Figure 49). Anatomical group without G-layer occurs generally in species with a lower wood density. On the 19 species of the ana-

tomical group “No G-layer” for which air dry specific gravity was available, only *Duguetia surinamensis* had a wood density higher than 0.85 g.cm⁻³.

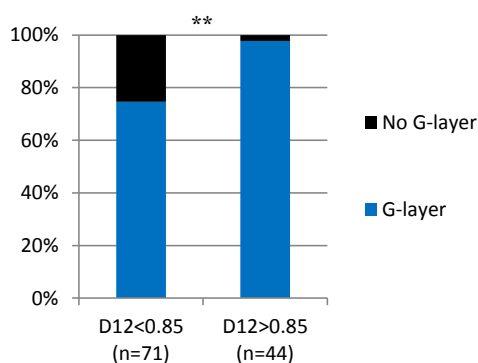


Figure 49. Repartition of anatomical group with or without G-layers between species wood density at 12% (D12) on merged adult and juvenile dataset. P-value of Chi-square test is indicated (NS, $P>0.05$; *, $P<0.05$; **, $P<0.01$; ***, $P<0.001$).

Anatomical groups with G-layers are significantly dependent on categorized wood density ($P<0.001$; Figure 50). Anatomical group with G-layers is more likely to be lignified on species for which wood density is higher than 0.85 g.cm⁻³. On the 44 species for which wood density is higher than 0.85 g.cm⁻³, only *Brosimum parinarioides* and *Eperua falcata* have the anatomical group “unlignified G-layer” and only *Brosimum rubescens*, *Eperua grandiflora*, *Hymenaea courbaril* and *Poecilanthe hostmanii* have the anatomical group “partly lignified G-layer”. Similar results are obtained on juvenile trees ($P<0.001$; Figure 50) but not in adult trees ($P>0.05$; Figure 50).

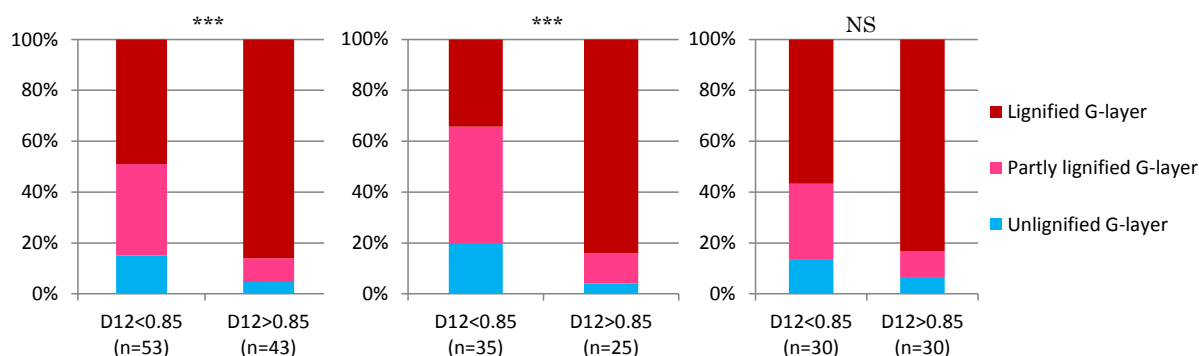


Figure 50. Repartition of anatomical group with G-layers between species wood density at 12% (D12) on merged adult and juvenile dataset (left), on juvenile trees only (middle) and on adult trees only (right). P-value of Chi-square test is indicated (NS, $P>0.05$; *, $P<0.05$; **, $P<0.01$; ***, $P<0.001$).

3.2.2.2.4. Discussion²⁵

3.2.2.2.4.1. Tension wood is anatomically diverse

From the anatomical point of view, classifying tension wood into groups is not easy, especially on the criterion of lignification of the G-layer, which can vary in one given species and even within one anatomical section of tension wood or within one cell

²⁵ La discussion sera étoffée avant la soumission de l'article.

wall layer. Additional variations of the G-layer were observed, as multi-layered G-layers, layering in the lignin content (*Protium decandrum*) and progressive bi-layering (*Dendrobangia boliviana*).

In the anatomical group without G-layers, evidence of enlarged parenchyma cells in tension wood was made for 4 species. However, on more dense species such as *Duguetia surinamensis* tension wood is probably made of fibres with decreased cell wall thickness. Tension wood anatomy is less contrasted in adult trees than in juvenile trees. Species with this anatomical group have probably a mechanism of up-righting based on the interaction between wood and bark (Clair *et al.* in prep.)²⁶. The species we studied seemed to have the anatomy of bark described in Clair *et al.* (in prep.) on *Pachira aquatica* and *Virola* spp, although bark anatomy could not always be checked. This mechanism, which needs radial growth of wood, is mainly found in species with low wood density. When found on species of high wood density, one can wonder how bark could bend upwards a stem of high wood density, with a slow wood growth.

3.2.2.2.4.2. In the tropical forest, most species have lignified G-layers

In our tension wood database of species from French Guiana, G-layers were mainly lignified. As unligified G-layers are able to bend the tree upward, we wonder why the tree invests in additional lignification of this layer. Several hypotheses can be listed. Tree could add lignin in G-layer in order to improve (or decrease) the muscle function, i.e. the efficiency of tension wood to bend the tree upward. However, experiments on the gravitropic efficiency of 20 species showed lignified G-layers were as efficient as unligified G-layers (Ghislain *et al.* in prep.). Lignin in the G-layer may improve the skeletal function or hydraulic function. Lignification of the G-layer could be caused by environmental conditions, perhaps other than waterlogging conditions.

3.2.2.2.5. Acknowledgements

The authors wish to thank Jocelyn Cazal, Audin Patient and Jean-Yves Goret for their work in the greenhouse, Eric Nicolini and Pascal Petronelli for additional botanical determination and temperament assignation, Jacques Beauchêne for wood determination, Hélène Morel for help on tangential sectioning and all the students who helped with sampling and sectioning. This work was supported by the French National Research Agency in the framework of the project “StressInTrees” (ANR-12-BS09-0004). BG benefits from an “Investissements d’Avenir” grant managed by French National Research Agency (CEBA, ANR-10-LABX-25-01).

3.2.2.3. Compl ements de l’article 4

3.2.2.3.1. Base de données de bois de tension des espèces tropicales et traits hydrauliques

La base de données de l’anatomie de bois de tension des espèces guyanaises a également été croisée avec deux traits hydrauliques. Une partie de ces traits a été me-

²⁶ This mechanism is described in chapter 4.

suré sur des sections d'arbres adultes uniquement, vu la variabilité des traits hydrauliques au cours de l'ontogénie. Ces mesures sont complétées par des données issues de la littérature.

Le premier trait hydraulique est la médiane des diamètres tangentiels mesurés sur une section de bois normal. Cette donnée a été mesurée sur du bois opposé de 48 espèces²⁷ et est disponible pour du bois normal de 52 espèces dans Détienne & Jacquet (1983) et du bois opposé de 21 espèces dans Ruelle et al. (2006) ainsi que leurs 3 espèces non publiées. Au total, la médiane des diamètres tangentiels du bois normal est disponible pour 105 espèces. La médiane des diamètres tangentiels du bois normal est ensuite catégorisée comme étant strictement inférieure à 150 µm ou supérieure à 150 µm.

Le second trait hydraulique est la fréquence des vaisseaux dans le bois normal. La fréquence des vaisseaux est mesurée sur 48 espèces et est disponible pour 72 espèces dans Détienne & Jacquet (1983) et 21 espèces dans Ruelle et al. (2006) ainsi que leurs 3 espèces non publiées. Au total 113 espèces ont une mesure de fréquence des vaisseaux du bois normal. Cette donnée est catégorisée en strictement inférieur à 13/mm² ou supérieur à 13/mm².

3.2.2.3.1.1. Diamètre tangentiel médian du bois normal

La présence ou l'absence de couche G dans le bois de tension n'est pas significativement liée au diamètre tangentiel médian des vaisseaux du bois normal ($P > 0,05$; Figure 51). Les bois de tension sans couche G se développent chez des espèces à vaisseaux inférieurs à 150 µm (*Iryanthera hostmannii*) comme supérieur à 150 µm (*Sterculia pruriens*).

Les groupes anatomiques à couche G dépendent significativement du diamètre médian des vaisseaux dans le bois normal, sur la base de donnée unifiant les bois de tension des juvéniles et des adultes ($P < 0,01$; Figure 52). Parmi les espèces capables de lignifier (groupes anatomiques couches G partiellement lignifiées et lignifiées), les espèces à petits vaisseaux mettent significativement plus de lignine dans leur bois de tension. Le même test n'est pas significatif sur le jeu de données des arbres juvéniles uniquement ($P > 0,05$; Figure 52) et est significatif sur le jeu de données des arbres adultes uniquement ($P < 0,05$; Figure 52).

3.2.2.3.1.2. Fréquence des vaisseaux

La présence ou l'absence de couche G dans le bois de tension n'est pas significativement dépendante de la fréquence des vaisseaux du bois normal ($P > 0,05$; Figure 53).

²⁷ Ce travail a fait l'objet d'une partie du stage d'Aurélien Cuvelier (6 mois césure, Formation ingénieurs forestier AgroParisTech).

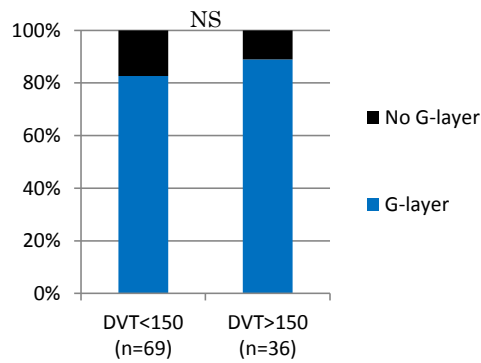


Figure 51. Répartition des groupes anatomiques avec et sans couche G en fonction du diamètre tangentiel médian des vaisseaux du bois normal, sur la base de donnée regroupant les bois de tension des juvéniles et des adultes. La p-value du test Chi-carré est indiqué (NS, non significatif ; *, $P < 0,05$; **, $P < 0,01$; ***, $P < 0,001$).

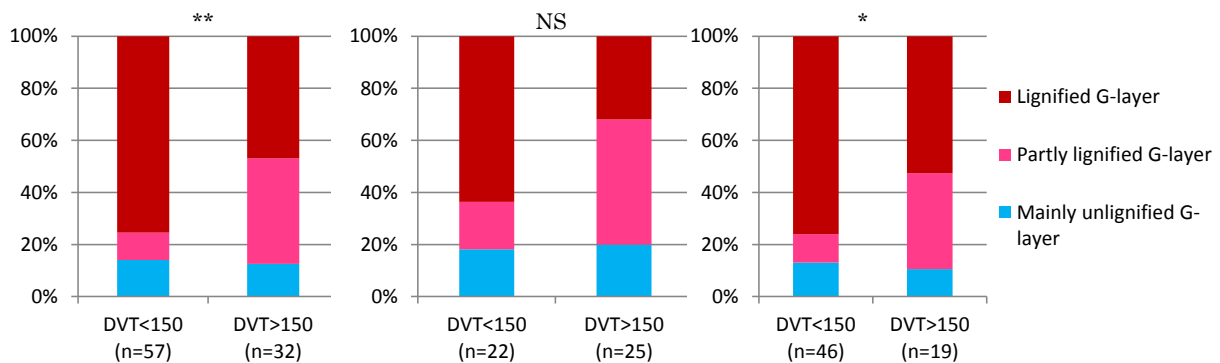


Figure 52. Répartition des groupes anatomiques à couche G en fonction du diamètre tangentiel médian des vaisseaux du bois normal, sur la base de donnée regroupant les bois de tension des juvéniles et des adultes (à gauche), sur les arbres juvéniles uniquement (au milieu) et sur les arbres adultes uniquement (à droite). La p-value du test Chi-carré est indiqué (NS, non significatif ; *, $P < 0,05$; **, $P < 0,01$; ***, $P < 0,001$).

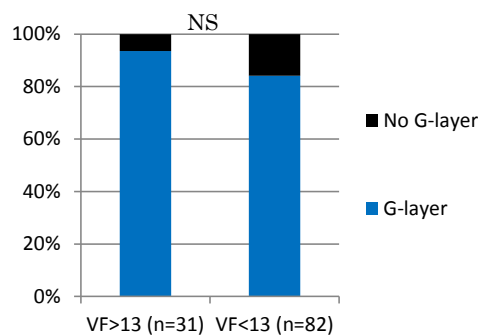


Figure 53. Répartition des groupes anatomiques avec et sans couche G en fonction de la fréquence des vaisseaux du bois normal, sur la base de donnée regroupant les bois de tension des juvéniles et des adultes. La p-value du test Chi-carré est indiqué (NS, non significatif ; *, $P < 0,05$; **, $P < 0,01$; ***, $P < 0,001$).

Les groupes anatomiques à couche G ne dépendent pas significativement de la fréquence des vaisseaux dans le bois normal, sur la base de donnée regroupant les bois de tension des juvéniles et des adultes ($P > 0,05$; Figure 54), sur les arbres juvéniles uniquement ($P > 0,05$; Figure 54) ainsi que sur les arbres adultes uniquement ($P > 0,05$; Figure 54).

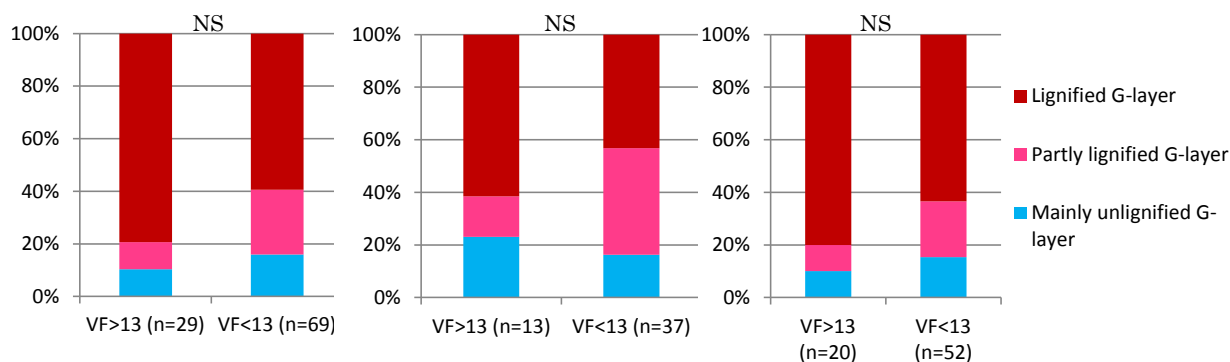


Figure 54. Répartition des groupes anatomiques à couche G en fonction de la fréquence des vaisseaux du bois normal, sur la base de donnée unifiant les bois de tension des juvéniles et des adultes (à gauche), sur les arbres juvéniles uniquement (au milieu) et sur les arbres adultes uniquement (à droite). La p-value du test Chi-carré est indiqué (NS, non significatif ; *, $P < 0,05$; **, $P < 0,01$; ***, $P < 0,001$).

3.2.2.3.2. Mesures quantitatives sur les parenchymes axiaux du bois de tension de *Pachira aquatica*

Sur une section longitudinale d'un individu de *Pachira aquatica* incliné et tuteuré en serre, les diamètres tangentiel et radial ainsi que la surface de 70 parenchymes axiaux du bois opposé et 72 parenchymes axiaux du bois de tension sont mesurés avec le logiciel ImageJ²⁸. Les résultats sont représentés à la Figure 55. Les deux diamètres mesurés ainsi que la surface sont significativement plus élevés dans le bois de tension par rapport au bois opposé. Le diamètre tangentiel des parenchymes axiaux du bois de tension est en moyenne 1,8 fois plus élevé que celui du bois normal. Le diamètre radial des parenchymes axiaux du bois de tension vaut en moyenne 2,8 fois celui du dans le bois normal. La surface totale d'une cellule de parenchyme est en moyenne 4,9 fois plus élevée dans le bois de tension.

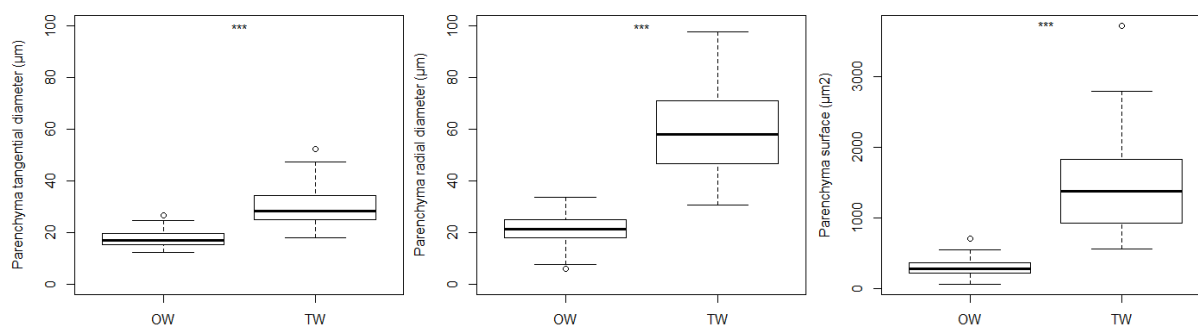


Figure 55. Comparaison du diamètre tangentiel (à gauche), du diamètre radial (au milieu) et de la surface (à droite) des parenchymes axiaux du bois opposé (OW) à ceux du bois de tension (TW) mesurés sur un individu de *Pachira aquatica* incliné et tuteuré à 45° en serre. La p-value du test Kruskal-Wallis de comparaison des moyennes est indiqué (NS, non significatif ; *, $P < 0,05$; **, $P < 0,01$; ***, $P < 0,001$).

Dans cette espèce, le diamètre tangentiel et surtout le diamètre radial des parenchymes axiaux sont modifiés dans le bois de tension par rapport au bois opposé, du moins au stade juvénile. Il serait intéressant de voir si la proportion de parenchymes par rapport aux fibres est également modifiée dans le bois de tension.

²⁸ Mesures réalisées par Hélène Morel.

Ces mesures réalisées sur un seul individu supportent bien l'hypothèse de la contribution des parenchymes à la croissance radiale du bois de tension, qui sera expliquée au chapitre 4 (voir également l'article 6 au chapitre 5). Il serait intéressant de les reproduire chez un plus grand nombre d'espèces pour confirmer quantitativement nos observations visuelles.

3.2.2.3.3. Lignification de la paroi du bois de tension de peuplier

3.2.2.3.3.1. En milieu tempéré

Sur un arbre naturellement incliné de *Populus deltoides* x *nigra* récolté en milieu tempéré²⁹, de la lignine a été observé dans le bois final (Figure 56). Par conséquent, le peuplier semble capable de produire des couches G contenant de la lignine, préférentiellement dans le bois final. On peut supposer que les études biochimiques n'ont pas observé ces lignines car elles étudient les fibres à couche G du bois initial exclusivement. Ce dépôt de lignine dans le bois final explique que le bois final ait plusieurs fois été considéré comme ayant moins de bois de tension (voir point « More lignin in the latewood of temperate species » de l'article 1). Une étude spécifique sur cette question avec plusieurs répétitions serait nécessaire pour soutenir cette observation.

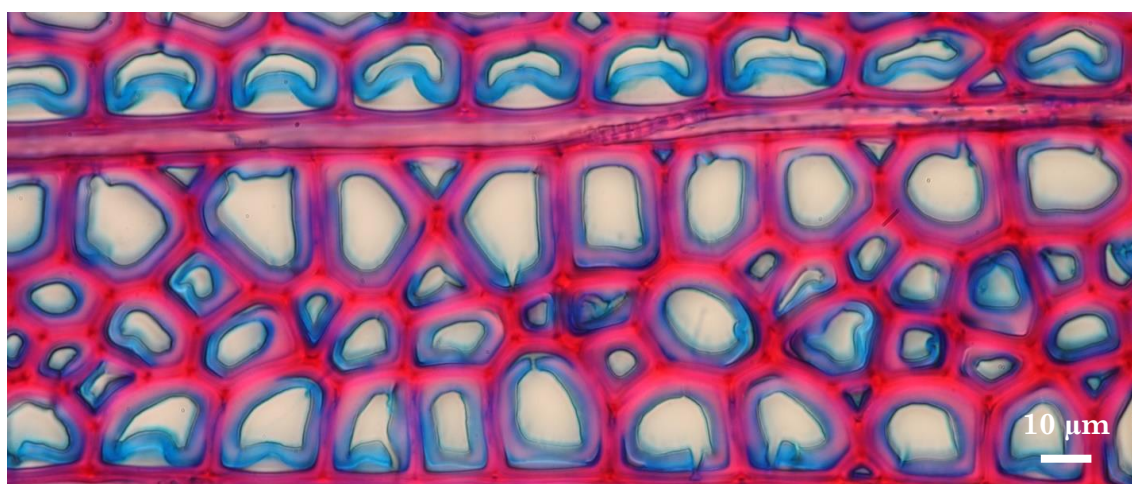


Figure 56. Zone de bois final de bois de tension de *Populus deltoides* x *nigra* ayant poussé en milieu tempéré (Domaine Maspique, Lycee Agropolis Montpellier, Grabels, France). La couche G semble contenir des traces de lignine.

3.2.2.3.3.2. En milieu tropical

Afin de voir si la lignification de la couche G pouvait être stimulée par un facteur abiotique comme la durée de l'ensoleillement, la température, ou l'humidité ambiante, nous avons tenté plusieurs mises en culture de *Populus tremula* x *alba* (génotype 717-1B4) en serre en Guyane en collaboration avec l'INRA d'Orléans. La mise en culture de petits individus issu de culture *in vitro* a échoué à quelques exceptions près, par contre les taux de succès sont très satisfaisants sur des systèmes racinaires développés dont la tige est coupée avant envoi. Un seul rejet depuis les

²⁹ Arbre de 18 ans et de 24 cm de diamètre récolté à Grabels (France) en juin 2012 par B. Clair. La section anatomique contient du bois du bois provenant des deux derniers cerne de croissance.

bourgeons latéraux est sélectionné, les autres sont coupés afin de n'avoir qu'une seule tige qui repousse. Ces individus ont été inclinés et tuteurés. Plantés le 8/3/2016, inclinés le 29/3/2016, le dernier est récolté le 29/11/2016. Deux individus sont récoltés. Ils ont été inclinés entre 2 et 8 mois. Aucun des deux ne présente une lignification de la couche G. D'autres individus sont encore inclinés en serre pour tester la présence de lignification sur un temps d'inclinaison plus long.

3.2.2.3.4. Zone de transition bois normal et bois de tension chez les multicouches

Dans la zone de transition entre le bois normal et le bois de tension de *Laetia procera*, la couche G semble augmenter en épaisseur à mesure que la S₂ diminue en épaisseur, comme c'est le cas chez *Populus* (Fang *et al.* 2008a). En revanche, un anneau épais de lignification est observé vers l'intérieur du lumen, et diminue avec l'épaississement de la couche G (Figure 57). Le nombre de sous-couches dans les multicouche augmente avec l'augmentation de l'épaisseur de la couche G. Les couches G « matures » pour lesquelles l'anneau lignifié vers le lumen a disparu semblent avoir au minimum 3 couches. Il semblerait que *Laetia procera* ne forme pas de couche G mono-couche, contrairement à d'autres anciennes Flacourtiaceae classées dans les Salicaceae (Ghislain *et al.* 2016).



Figure 57. Zone de transition entre le bois normal (à gauche) et le bois de tension (à droite) de *Laetia procera*, une espèce ayant des couche G multicouche dans son bois de tension, observée sur coupe fine sans coloration grâce à l'auto fluorescence des lignines à l'UV. Un anneau épais de lignification est observé vers le lumen durant la zone de transition.

3.3. Diversité d'organisation de la cellulose dans la paroi des fibres de bois de tension

3.3.1. Description du réseau de microfibrilles de cellulose de la couche G³⁰

Le but initial de cette étude était d'apporter des éléments d'illustration de l'hypothèse du modèle de génération des contraintes de tension dans la couche G (Chang *et al.* 2015; Alméras & Clair 2016). Selon ce modèle, les microfibrilles de cellulose sont agencées en réseau dans la matrice gélatineuse (Figure 58). Lors de la maturation cellulaire, le gonflement de cette matrice au sein du réseau de microfibrilles de cellulose génère une contrainte de tension. Des mesures de tailles de pores supportent cette hypothèse. En revanche, aucune observation visuelle du réseau de

³⁰ Travaux réalisés dans le cadre d'un JSPS Summer Program à l'Université de Kyoto, dans le laboratoire « Tree Cell Biology » de Keiji Takabe.

microfibrilles de cellulose n'a été réalisée. Ces observations permettraient de confirmer le modèle et permettraient en outre de connaître des paramètres utiles pour la modélisation de ce mécanisme (longueur des connections entre microfibrilles de cellulose, distance entre les connections, etc). Bien que le temps ait manqué pour mettre au point le protocole de préparation et d'observation adéquat pour évaluer ces paramètres (voir point 2.3.1.3.1), d'autres observations ont néanmoins pu être réalisées au moyen d'une deuxième technique d'observation.

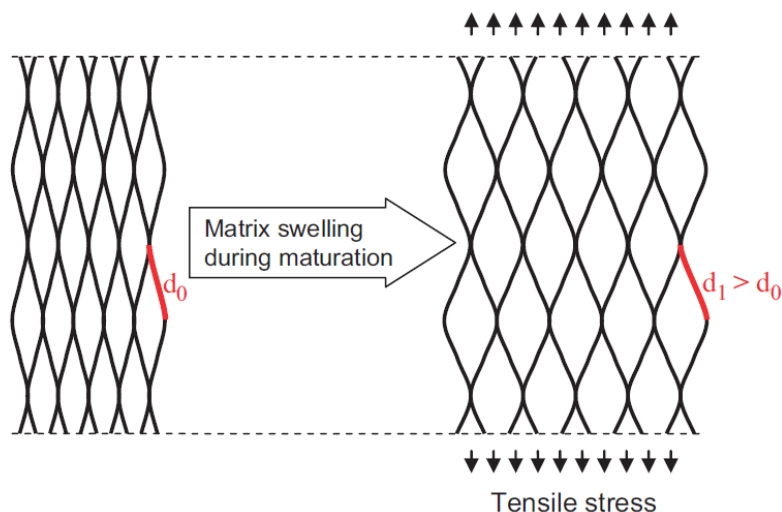


Figure 58. Modèle de génération de la contrainte de tension au travers de la pression de gonflement de la matrice gélatineuse à l'intérieur du réseau de microfibrilles de cellulose (Chang *et al.* 2015).

Le protocole de préparation des échantillons pour la microscopie électronique à balayage à émission de champ (FE-SEM) est décrit au point 2.3.1.3.2. Une coupe RT d'un individu en croissance est préparée afin d'observer la paroi des cellules depuis l'intérieur du lumen. L'hypothèse est faite que les variations observées sur des cellules à des stades de maturation différents (échelle spatiale) sont représentatives des variations présentes au sein de la paroi d'une cellule durant sa maturation cellulaire (échelle temporelle), comme indiqué au point 1.4.2.3.

Ces observations sont faites sur trois espèces : du peuplier (*Populus carolinensis* x *P. nigra* I-214), qui possède un bois de tension contenant de la couche G non lignifiée ; du simarouba (*Simarouba amara*), une espèce dont le bois de tension contient des couches G tardivement lignifiées et une espèce avec un bois de tension à couche G multicouche tardivement lignifié (*Laetia procera*). L'étude de *Simarouba* et *Laetia* permet de vérifier l'éventuelle ressemblance de la paroi de leurs fibres de tension avec celles des fibres à couche G non lignifiées.

A défaut d'avoir des mesures descriptives du réseau des microfibrilles de cellulose de la couche G à une échelle plus fine, l'observation en FE-SEM permet une mesure de l'angle des microfibrilles de cellulose (AMF) de la paroi des cellules ainsi qu'une vue d'ensemble du réseau. Ces deux sujets sont traités dans des points séparés.

3.3.1.1. Transition de l'angle des microfibrilles de cellulose de la S₂ à la couche G

Pour le peuplier, la transition de l'angle des microfibrilles de cellulose (AMF) de la couche S₂ à la couche G est nette au cours de la maturation cellulaire. L'angle des microfibrilles de cellulose passe d'un angle d'environ 35 ° dans la S₂ à un angle nul dans la cellule suivante contenant un premier dépôt de couche G (Figure 59).

Pour *Laetia*, la S₂ n'est pas visible sur l'échantillon. La couche G apparaît soudainement avec un angle de microfibrilles de cellulose proche de 0, après ce qui semble être la paroi primaire (Figure 60).

Pour *Simarouba*, l'angle de la « S₂ » diminue progressivement jusqu'à devenir de la couche G (34 °, 27 °, 14 °, 9 °, 6 °, 0 °; Figure 61). La transition entre la S₂ et la couche G est progressive, ce qui rejoint des observations similaires sur d'autres espèces (voir paragraphe « Inner thin lignified layer and outer gradual change from S₁ to G » de l'article 1).

3.3.1.2. Modification du réseau de microfibrilles de cellulose au sein de la couche G pendant la maturation cellulaire

Les photographies pour l'observation du réseau de microfibrilles de cellulose sont à considérer avec précaution. La préparation a pu détériorer l'échantillon, malgré que la coupe soit réalisée à froid. En effet la section s'est courbée suite aux traitements et la zone proche-cambium dont les parois sont encore fines et fragiles a pu s'endommager d'avantage que la zone contenant des cellules matures. Ainsi, les observations ci-dessous pourraient porter d'avantage sur l'endommagement du réseau que sur la structure du réseau lui-même.

Pour les trois espèces, les espaces entre le réseau semblent se rétrécir au fur et à mesure de l'épaississement de la couche G. Pour *Laetia*, le nombre de couche des multicouches sont comptées sur la tranche radiale de la paroi de la fibre, lorsque celle-ci est observable (Figure 62). Le rétrécissement des espaces entre le réseau va à l'encontre de l'hypothèse du mécanisme de mise en tension de la couche G, qui propose au contraire un élargissement de ces espaces. Ceci peut être dû à un artefact lors de la préparation de l'échantillon, ou être dû à un effet tridimensionnel. En effet l'observation ne porte que sur l'intérieur de la couche G qui est vue depuis le lumen de la cellule. Peut-être s'agit-il d'un effet de bord dû à la diminution de place disponible. Le réseau est resserré vers le lumen, où moins de place est disponible par rapport à l'extérieur de la couche G. Il faudrait avoir accès à la partie radiale de la paroi pour observer le réseau à l'intérieur même de la couche G, malheureusement la tranche radiale de la paroi est souvent abimée par la coupe et non observable.

Chez *Laetia* et *Simarouba*, les couches G arrivées à maturation se lignifient. En FE-SEM cela s'est observé par obturation des espaces dans le réseau (G_{mature} sur la Figure 62 et la Figure 61).

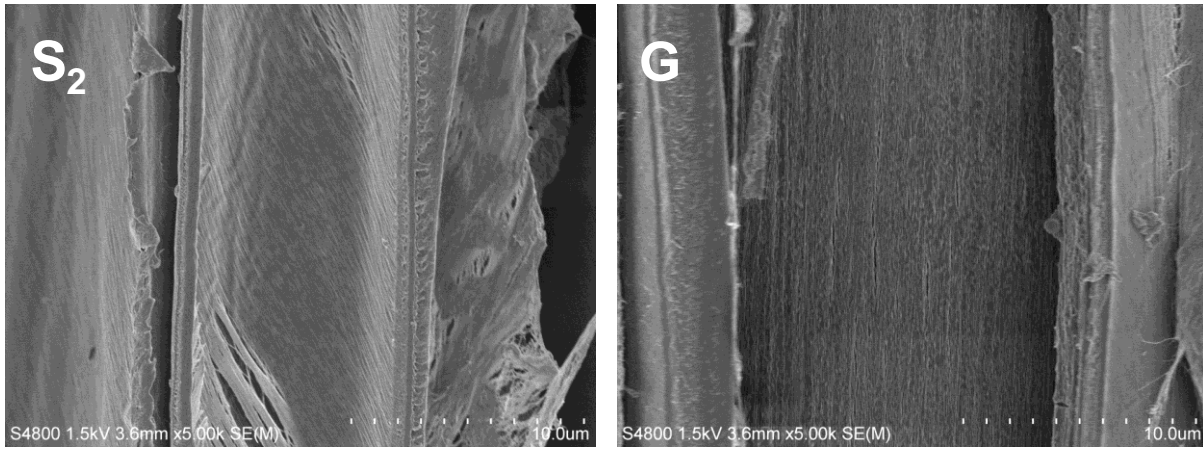


Figure 59. Observation d'une coupe radiale de *Populus carolinensis x nigra* I-214 pendant la maturation cellulaire en FE-SEM. Le cambium se trouve du côté gauche. L'angle des microfibrilles de cellulose passe sans transitions de 35° dans la S₂ à 0° dans la couche G.

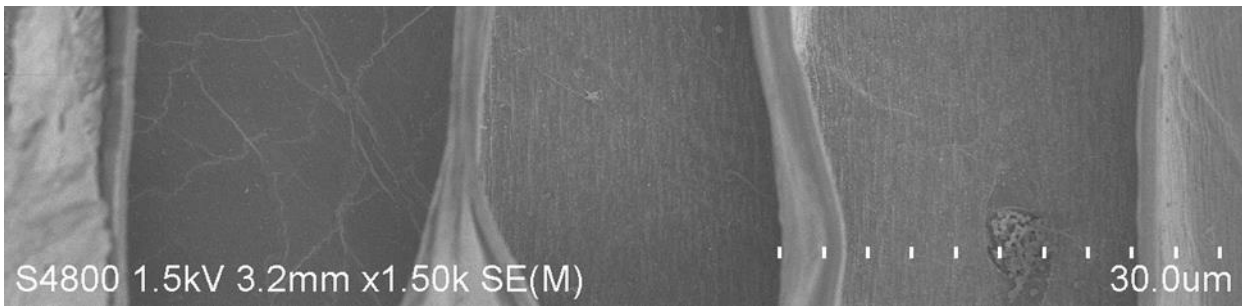


Figure 60. Observation d'une coupe radiale de *Laetia procera* pendant la maturation cellulaire en FE-SEM. Le cambium se trouve du côté gauche. Apparition soudaine de la couche G (au milieu et à droite), après ce qui semble être la paroi primaire (à gauche).

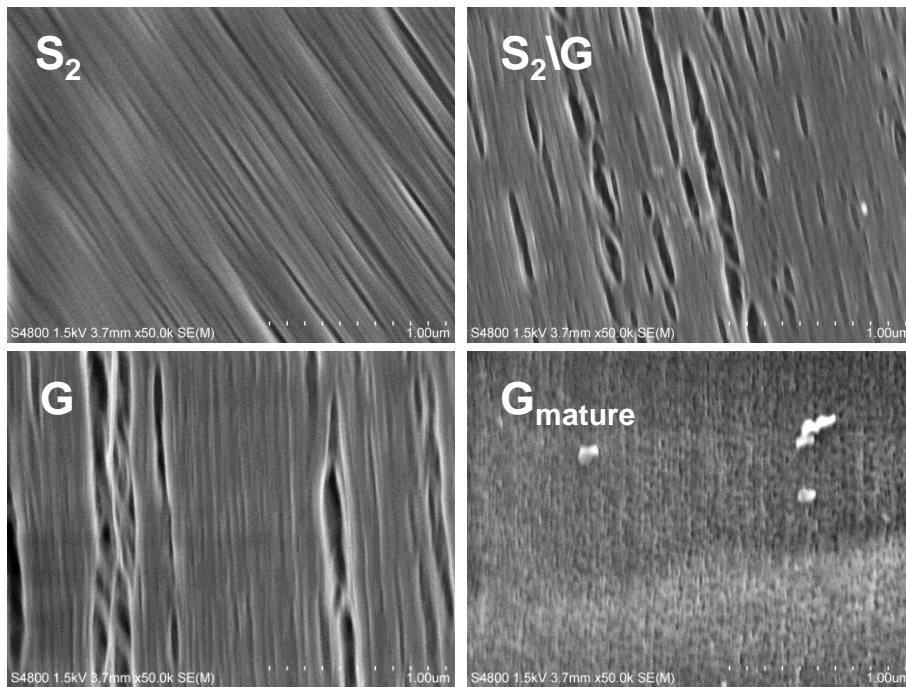


Figure 61. Observation d'une coupe radiale de *Simarouba amara* pendant la maturation cellulaire en FE-SEM. L'angle des microfibrilles de cellulose passe progressivement de 34° dans la S₂ et de 0° dans la couche G. Le réseau de microfibrilles de cellule est masqué par la lignification dans la couche G mature.

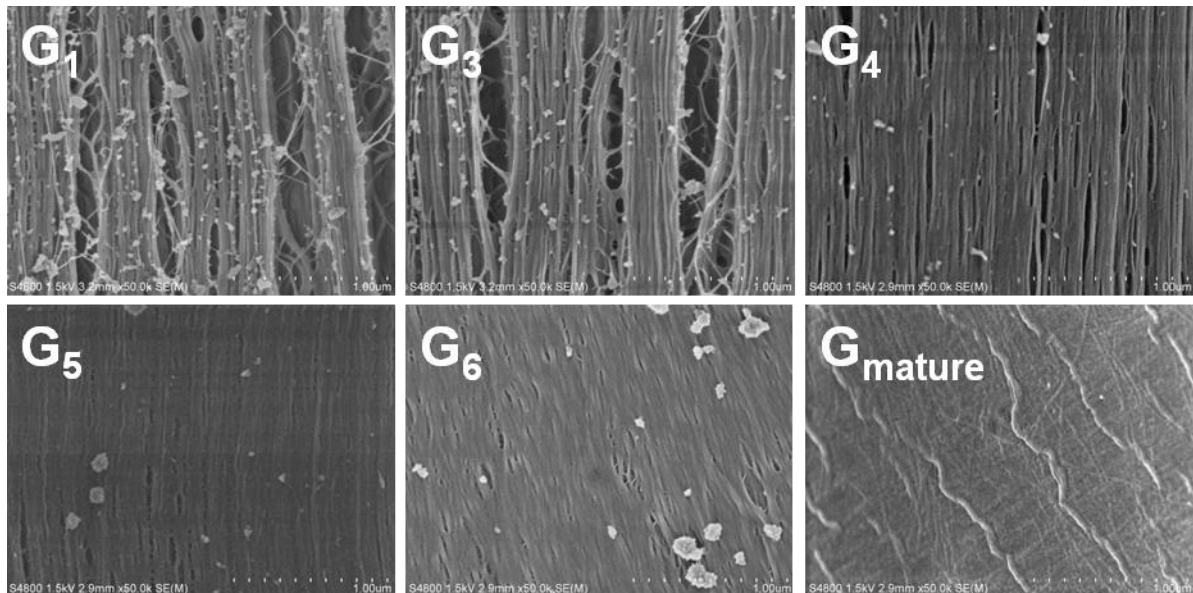


Figure 62. Observation d'une coupe radiale de *Laetia procera* pendant la maturation cellulaire en FE-SEM. Observation du réseau de microfibrilles de cellulose pendant la maturation, selon de nombre de couche des couche G multicouches (nombre n noté G_n). G_{mature} indique la fibre arrivée à maturation avec une couche G lignifiée.

3.3.2. Angle des microfibrilles du bois de tension par diffraction au rayon X

L'angle des microfibrilles de cellulose peut également être mesuré sur un échantillon de bois brut. Dans ce cas, la mesure englobe non seulement la couche de la paroi d'intérêt mais bien la somme de toutes les parois présentes dans l'échantillon. Les fibres représentent normalement la majorité du signal, vu leur proportion de paroi élevée par rapport aux parenchymes et aux vaisseaux. Au sein des fibres, la S_2 , ou la couche G dans le cas du bois de tension, sera prépondérante sur le signal vu son épaisseur.

L'angle des microfibrilles a été mesuré sur 21 espèces d'arbres adultes naturellement inclinés, choisis parmi les arbres récoltés en octobre et novembre 2014 sur la Piste de Saint-Elie lors des terrains FTH 2014 et ANR 2014. Pour les espèces sans couche G, la méthode de mesure de l'AMF par X-ray diffraction est moins adaptée car le bois de tension contient beaucoup de parenchymes et/ou de fibres à parois très fines. Dans ces cas, la calibration utilisée (Cave 1966; Yamamoto *et al.* 1993) n'est plus valide et la valeur d'AMF donne d'avantage un ordre de grandeur global qu'un angle des microfibrilles dans la S_2 des fibres.

La Figure 63 et la Table 9 montrent les résultats. L'ensemble des bois de tension contenant des couches G ont un AMF plus faible dans le bois de tension que dans le bois opposé. Seul *Loreya arborescens* se trouve sur la droite $x=y$. La coupe anatomique de son bois opposé n'a pas été faite, néanmoins il semblerait que son bois opposé contienne quelques fibres à couche G, vu les résultats d'AMF.

Pour les espèces sans couche G, l'AMF du bois de tension est supérieur à celui du bois opposé chez les individus juvéniles, contrairement aux individus adultes. Les juvéniles ont une anatomie du bois de tension plus contrastée du bois opposé que

chez les adultes, avec une nette diminution de l'épaisseur de paroi et/ou une nette augmentation de la taille/fréquence des parenchymes. Deux individus adultes se trouvent sous la droite $x=y$. *Virola michelii* a une anatomie du bois de tension qui ressemble à celui du bois opposé, sans différence notable. *Eriotheca globosa* a une grande différence d'anatomie, le bois de tension contenant de nombreux parenchymes allongés radialement. Les fibres ont néanmoins des parois très épaisses qui restent prépondérantes pour le signal de diffraction par rayon X. La nature des fibres chez ces espèces apparemment sans couche G serait à investiguer en profondeur. Afin de trancher la question de la présence ou absence de couche G chez *Pachira aquatica* et *Eriotheca* sp, un échantillon de bois de tension de ces espèces devrait être observé en FE-SEM afin d'étudier l'AMF des fibres uniquement.

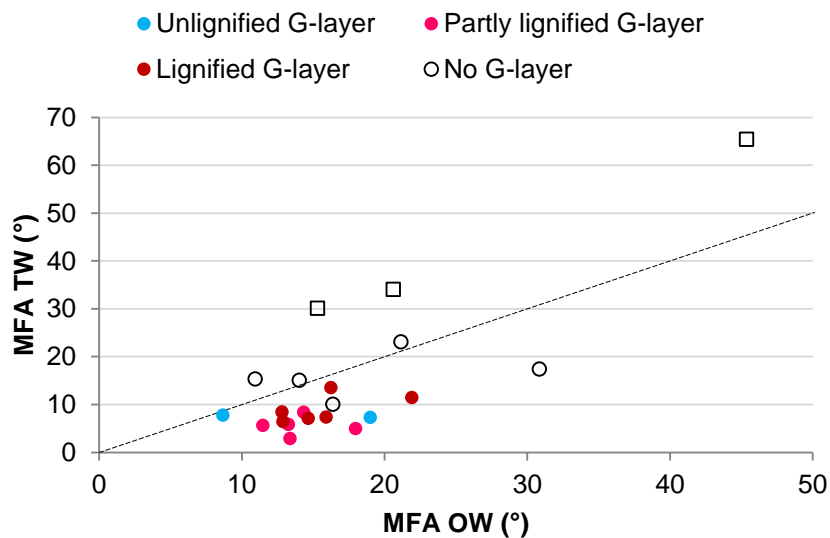


Figure 63. Angle des microfibrilles de cellulose (MFA) mesurées par diffraction au rayon X sur du bois de tension (TW) et du bois opposé (OW) de 21 espèces sur arbres adultes (cercles) et sur des arbres inclinés et tuteurés en serre (carrés) La droite en pointillés représente la droite $y=x$.

Table 9. Angle de microfibrilles de cellulose (AMF) mesuré selon Cave (1966) et Yamamoto et al. (1993) de 21 espèces. TW Type, anatomie du bois de tension de l'espèce ; TW MFA, AMF du bois de tension ; OW MFA, AMF du bois opposé et Ratio TW/OW, rapport de l'AMF du bois de tension sur l'AMF du bois opposé exprimé en %. No G, bois de tension sans couche G ; Lign. G, bois de tension à couche G lignifiée ; Part. lign. G, bois de tension à couche G partiellement lignifiée ; Unlign. G, bois de tension à couche G non lignifiées.

Family	Genus	Species	TW Type	TW MFA	OW MFA	Ratio TW/OW
Boraginaceae	<i>Cordia</i>	<i>sagotii</i>	No G	15.3	10.9	140
Malvaceae	<i>Eriotheca</i>	<i>globosa</i>	No G	10.1	16.4	61
Malvaceae	<i>Pachira</i>	<i>aquatica</i>	No G	30.1	15.3	196
Malvaceae	<i>Theobroma</i>	<i>cacao</i>	No G	65.4	45.4	144
Malvaceae	<i>Theobroma</i>	<i>grandiflorum</i>	No G	34.0	20.6	165
Myristicaceae	<i>Virola</i>	<i>michelii</i>	No G	17.4	30.9	56
Myristicaceae	<i>Virola</i>	<i>surinamensis</i>	No G	23.0	21.1	109
Bignoniaceae	<i>Jacaranda</i>	<i>copaia</i>	No G	15.0	14.0	107
Euphorbiaceae	<i>Sandwithia</i>	<i>guianensis</i>	Lign. G	13.5	16.2	83

<i>Family</i>	<i>Genus</i>	<i>Species</i>	<i>TW Type</i>	<i>TW MFA</i>	<i>OW MFA</i>	<i>Ratio TW/OW</i>
Linaceae	<i>Hebepetalum</i>	<i>humiriifolium</i>	Lign. G	8.4	12.8	66
Rhizophoraceae	<i>Cassipourea</i>	<i>guianensis</i>	Lign. G	6.4	12.9	50
Phyllanthaceae	<i>Amanoa</i>	<i>guianensis</i>	Lign. G	7.1	14.6	49
Lecythidaceae	<i>Eschweilera</i>	<i>coriacea</i>	Lign. G	11.4	21.9	52
Moraceae	<i>Maquira</i>	<i>guianensis</i>	Lign. G	7.4	15.9	46
Fabaceae	<i>Poecilanthe</i>	<i>hostmannii</i>	Part.lign. G	2.9	13.4	21
Euphorbiaceae	<i>Conceveiba</i>	<i>guianensis</i>	Part.lign. G	8.3	14.4	58
Fabaceae	<i>Eperua</i>	<i>grandiflora</i>	Part.lign. G	5.0	18.0	28
Moraceae	<i>Brosimum</i>	<i>rubescens</i>	Part.lign. G	5.6	11.5	49
Burseraceae	<i>Protium</i>	<i>decandrum</i>	Unlign. G	5.8	13.3	44
Fabaceae	<i>Albizia</i>	<i>pedicellaris</i>	Unlign. G	7.3	19.0	38
Melastomataceae	<i>Loreya</i>	<i>arborescens</i>	Unlign. G	7.8	8.7	89

Outre les 21 espèces ci-dessus, 6 espèces ont des mesures d'AMF dans l'écorce et le bois côté opposé et tension, ainsi que des répétitions de plusieurs individus par espèce³¹. La Figure 64 présente les résultats pour le bois opposé et le bois de tension. Les bois de tension à couche G (lignifiées ou non) ont un AMF inférieur au bois opposé. Deux individus de *Laetia procera* ont des AMF faible dans le bois de tension et le bois opposé, pourtant aucune couche G n'est présente dans le bois opposé. Les bois de tension sans couche G ont un AMF supérieur au bois opposé, à l'exception d'un individu de *Virola michelii*, dont l'anatomie ressemble pourtant aux autres individus de cette espèce. A nouveau, la calibration utilisée (Cave 1966; Yamamoto *et al.* 1993) semble en limite de résolution pour ces espèces et une observation en FE-SEM permettrait une conclusion plus fiable.

³¹ Individus inclinés et tuteurés en serre.

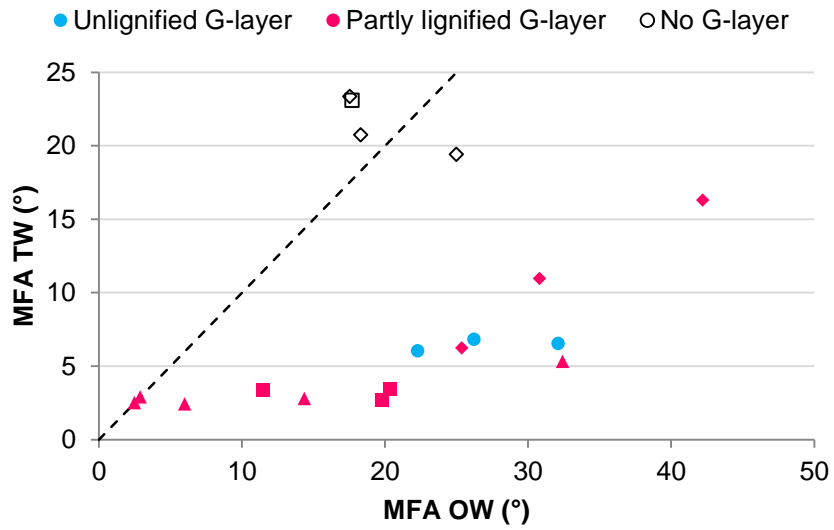


Figure 64. Angle des microfibrilles de cellulose (MFA) mesurées par diffraction au rayon X sur du bois de tension (TW) et du bois opposé (OW) de *Pachira aquatica* (carré noir), *Virola michelii* (losange noir), *Cecropia palmata* (cercle bleu), *Banara guianensis* (carré rose), *Laetia procera* (triangle rose) et *Simarouba amara* (losange rose) inclinés tuteurés en serre. La droite en pointillés représente la droite $y=x$.

Chapitre 4: : UN AUTRE MECANISME DE GENERATION DES CONTRAINTES

4.1. Avant-propos

Le chapitre précédent met en évidence une diversité anatomique de bois de tension. La majorité des espèces développent des couches G dans leur bois de tension. Ces couches G peuvent contenir des quantités de lignine variables³² et peuvent éventuellement être composées de plusieurs sous-couches, dans le cas des couches G multicouches. Les différents types de couches G - avec ou sans lignine, avec ou sans multicouche – semblent avoir le même mécanisme de génération des contraintes de maturation. En effet, le bois de tension à couche G des différentes espèces tropicales a bien un angle des microfibrilles de cellulose (AMF) plus faible que celui du bois normal. Cela semble indiquer que les microfibrilles de cellulose de la couche G sont alignées dans l'axe de la cellule, comme dans une couche G de peuplier. D'ailleurs les observations réalisées en FE-SEM sur *Laetia procera* et *Simarouba amara* confirment cette hypothèse. En outre, plusieurs couches G lignifiées ainsi que couches G multicouches sont détachées de la S₂ et ont un aspect « gonflé », tout comme les couches G du peuplier. Ces caractéristiques sont liées à la présence d'une matrice gélatineuse, dont le gonflement est à la base de la génération de la contrainte de tension. Les couches G de lignifiées de *Simarouba amara* sont également caractérisées par la présence de mésopores (Chang 2014). Par contre, la lignification semble obstruer les espaces dans le réseau de microfibrilles de cellulose, sur les observations FE-SEM des espèces lignifiées. Sur certaines espèces comme sur *Simarouba amara* ou sur *Laetia procera* la lignification arrive tardivement, bien après la phase de maturation cellulaire durant laquelle les contraintes de tension sont générées. Dans d'autres espèces, la lignification semble se déposer durant cette phase de maturation, toujours avec un décalage entre l'épaississement et la lignification. Le dépôt de lignine, et par conséquent l'obstruction des espaces du réseau de microfibrilles de cellulose, risque-t-il d'affecter la génération de contraintes de tension ? La question des conséquences de la lignification sur l'état de contrainte du bois de tension fera l'objet d'une partie du chapitre suivant.

Par ailleurs, un petit nombre d'espèces semble ne pas avoir de couche G dans le bois de tension. Leur bois de tension se distingue du bois normal par une augmentation de la taille/du nombre de parenchymes radiaux et/ou de l'augmentation de la proportion de lumen chez les fibres. Ces changements anatomiques sont d'autant plus visibles sur des individus juvéniles que sur des individus adultes. Bien que l'absence de couche G dans le bois ne soit pas complètement démontrée, la faible fréquence des fibres (ex. *Pachira*) ou leur faible épaisseur de paroi (ex. *Virola*) sem-

³² Selon les observations en safranine bleu astra et en microscopie optique couplé à l'autofluorescence des lignines en UV.

blent indiquer que les fibres ne sont pas à la base du mécanisme de génération des contraintes de tension pour ces espèces. Chez ces espèces, nous avons mis en évidence un mécanisme de génération des contraintes de tension dans l'écorce présenté dans le prochain point (article 5).

4.2. Mécanisme « sans couche G » (article 5)

4.2.1. Avant-propos

L'article 5 propose un nouveau mécanisme de génération de tension chez les angiospermes, basé dans l'écorce. Différentes espèces sont étudiées pour montrer le rôle actif ou passif de l'écorce. Deux stades ontogéniques sont ensuite étudiés pour comprendre le mécanisme de génération des contraintes de tension.

Cet article est quasiment finalisé mais nécessite l'ajout d'individus complémentaires pour rendre plus généralisable les résultats et améliorer la significativité des tests statistiques (Clair *et al.* in prep.).

4.2.2. Article 5 : Bark contribution to the posture control of trees³³

Bruno Clair^{1*}, Barbara Ghislain¹, Jacques Beauchêne², Tancrède Alméras³

¹CNRS, UMR Ecologie des Forêts de Guyane (EcoFoG), AgroParisTech, Cirad, INRA, Université des Antilles, Université de Guyane, Kourou, France

²Cirad, UMR Ecologie des Forêts de Guyane (EcoFoG), AgroParisTech, CNRS, INRA, Université des Antilles, Université de Guyane, Kourou, France

³CNRS, Laboratoire de Mécanique et Génie Civil (LMGC), Université de Montpellier, Montpellier, France

*Corresponding author

4.2.2.1. Abstract

To grow straight, plants need a motor system allowing the control of posture by generating forces to offset the effect of gravity during growth. This motor function in trees was long thought to be only controlled by internal forces induced in wood during the maturation of the fibre. Here we evidence a new mechanism involving the bark in the generation of mechanical stresses enabling the up-righting movement in some tree species. Combined with the microstructural description of the inner bark, we identified a novel mechanism enabling the development of mechani-

³³ Contribution : mesures de l'index d'efficacité d'écorce (80%), anatomie du bois et de l'écorce (90%), analyse statistique, discussions et amélioration du manuscrit.

cal stress in plant stems. This mechanism does not result from cell wall maturation, like in wood, or from the direct action of turgor pressure, like in unligified organs, but is the consequence of the interaction between wood radial pressure and a smartly organized trellis structure in the inner bark.

4.2.2.2. Introduction

Just one hundred years ago, D'Arcy Thompson (Thompson 1917) published his renowned book "On Growth and Form", pointing to the fundamental role of physics and mechanics in shaping living organisms. Nature has solved infinity of engineering problems and is a remarkable source of inspiration for material science (Wegst *et al.* 2014). The necessity for trees to grow straight in the vertical posture leads to an optimised material and structural design. The vertical position is intrinsically unstable and challenges gravity. To ensure it, trees need both a "skeletal" system achieved through the stiffness and strength of the trunk material (Niklas 1992) and a "motor" system (Moullia *et al.* 2006) allowing the control of plant posture by generating forces to offset the effect of gravity during growth (Alméras & Fournier 2009). The motor function is driven by turgor pressure in unligified organs (Moullia & Fournier 2009) or results from cell wall maturation in wood (Clair *et al.* 2011). Trees was long thought to be only controlled by internal forces induced in wood during the formation of the fibre (Scurfield 1973; Gardiner *et al.* 2014a). When a strong reaction is needed for the tree, fibre walls can be strongly modify in their composition and organisation, with the presence of a peculiar unligified gelatinous layer (Guedes *et al.* 2017) in the so called "tension wood". Tensile stress is generated in the gelatinous fibres wall during the maturation process by the swelling of the polysaccharidic gelatinous matrix (Chang *et al.* 2015) bending the cellulosic network (Clair *et al.* 2011; Alméras & Clair 2016). In numerous species, the gelatinous layer is no more visible as it is lately lignified, after the generation of the tensile force (Roussel & Clair 2015). In a fewer number of species, gelatinous fibre are not present (lignified or not) and tension wood tissues are characterised by an increasing amount of parenchyma cells and a reduced amount of fibres (Ghislain & Clair 2017). It is consequently doubtful that in these species wood plays as the driving force of the posture control.

We therefore investigated the mechanical contribution of the bark in the up-righting movement in trees. Bark is a tissue with multiple functions, such as conduction of carbohydrates, protection against fire and biological aggression, water and nutrient storage, respiration and photosynthesis (Niklas 1999; Paine *et al.* 2010; Rosell *et al.* 2014; Rosell 2016). It has been shown that in many extinct species (such as *Lepidodendron*, *Tetraxylopteris schmidtii*), bark was also the main contributors to stem stiffness (Speck & Rowe 2003). In some herbaceous species (*Linum usitatissimum*, *Cariaca papaya*), inner bark has recently been recognized as the main contributor the stem motor function (Kempe *et al.* 2014; Ibragimova *et al.* 2017). In trees, its mechanical functions have mostly been neglected in biomechanical and ecological studies, wood being considered as the main tissue with mechani-

cal functions, except for a few studies focused on bark contribution to stem stiffness (skeletal function) (Niklas 1999; Paine *et al.* 2010; Rosell & Olson 2014).

Here, we evidenced the mechanical contribution of bark in the up-righting movement in trees (motor function). Combining mechanical measurement and micro-structural description of the wood and bark tissues, we identified a new mechanism enabling the generation of tensile forces in trees.

4.2.2.3. Materiel and methods

4.2.2.3.1. *Plant material*

Seeds or seedlings of five tropical species (*Cecropia palmata*, *Laetia procera*, *Pachira aquatica*, *Simarouba amara*, *Virola melinonii*) were collected in the tropical rain-forest in French Guiana in the vicinity of Kourou and Sinnamary. These species were chosen as they represent a large diversity of tension wood types (Ghislain & Clair 2017) and bark structures (Angyalossy *et al.* 2016). Five trees of each species were studied.

Plants were grown in a greenhouse for three to 10 months and acclimatised in new pots for two months. Their initial diameter before tilting ranged between 3 and 10 mm. They were artificially tilted and staked at an angle of 45° and sampled after at least 3 months of tilting.

In addition, experiments were performed on naturally tilted adult trees sampled in the experimental forest of the “*Piste de Saint-Elie*”, near Sinnamary, and in the experimental forest of the agronomic campus in Kourou. Experiments were performed on at least four trees per genus of *Cecropia palmata*, *Laetia procera*, *Pachira aquatica*, *Simarouba amara*, *Virola melinonii*, *Virola surinamensi*, i.e the same genus previously used in the seedling experiments and an additional species, *Goupia glabra*. *Goupia glabra* was added because the surface of the bark showed a contrasted patterned on the two sides of tilted trees. The bark was wrinkled on the upper side and smooth on the lower side, leading us to assume strong action of wood on bark. Tree diameters at breast height varied between 6 cm and 31 cm (Extended data Table 10).

4.2.2.3.2. *Curvature*

Changes in curvature following removal of the bark in seedlings were measured on photographs with ImageJ (Schneider *et al.* 2012). After the tree was released from the stake, a 20 cm segment of the basal part of the stem was cut and marked at four points. The portion of the stem was placed horizontally on a black board to take the first photograph. The bark was then removed from a 5 cm section in the middle of the segment and the second photo was taken in same condition as the first. The difference in curvature due to removal of the bark (ΔC) was determined as the change in angle ($\Delta\alpha$) between the two straight lines connecting two marks on the left side and two marks on the right side, divided by the length of the debarked area (L): $\Delta C = \Delta\alpha / L = (\alpha_f - \alpha_i) / L$. (Figure 65)

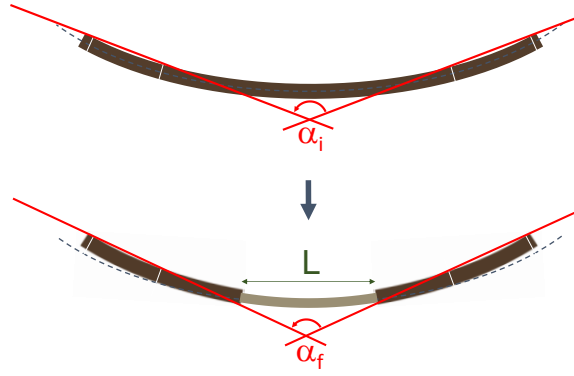


Figure 65. Schematic representation of measurement of the change in curvature during debarking. α is the angle between the lines joining two marks one on the left and one on the right sides. The change in α when the bark was removed from a segment of length L is related to the change in curvature: $\Delta C = (\alpha_f - \alpha_i) / L$.

4.2.2.3.3. Standardisation of curvature

A change in curvature was defined at the level of a stem segment. As a consequence, there may be scaling effect on its value, i.e., for a given stress induced in bark, the resulting curvature may depend on stem diameter or bark thickness. To eliminate these first-order scaling effects, we defined the efficiency of bark as an intrinsic property of the material, here a strain defined in the same way as wood maturation strain is defined, i.e. the ratio of motor power (mechanical stress) of the active material (here bark) to the stiffness (modulus of elasticity) of the stem structural material (wood):

$$\varepsilon_{eff_bark} = -\sigma_{bark} / E_{wood} \quad (47)$$

This parameter can be deduced from data showing the change in curvature, stem diameter and bark thickness. Let us consider the cylinder of wood and a virtually isolated hollow cylinder of bark separately. Both are characterised by a curvature in resting state, defined as C_{bark} and C_{wood} . Let C_{w+b} be the curvature of the segment when wood and bark are assembled. The variations in curvature of each separate beam are defined as:

$$\Delta C_{bark} = (C_{bark} - C_{w+b}) \quad (48)$$

$$\Delta C_{wood} = (C_{wood} - C_{w+b}) \quad (49)$$

ΔC_{wood} is the variation in curvature measured during debarking. ΔC_{bark} is the virtual variation in curvature that the bark cylinder would have if it was completely isolated from the wood. The mechanical equilibrium of the section before debarking is given by the annulation of the bending moments exerted by each domain of the assembled structure, i.e.:

$$E_{bark}I_{bark}\Delta C_{bark} + E_{wood}I_{wood}\Delta C_{wood} = 0 \quad (50)$$

where E refers to the modulus of elasticity and I refers to the second moment of area. With:

$$I_{wood} = \frac{\pi}{4}R_{wood}^4 \quad (51)$$

$$I_{bark} = \frac{\pi}{4}(R_{w+b}^4 - R_{wood}^4) \quad (52)$$

where R_{w+b} is the radius of the segment before debarking and R_{wood} is the radius of the wood cylinder. The variation in curvature of the isolated bark cylinder is deduced from equation (47):

$$\Delta C_{bark} = -\frac{E_{wood}I_{wood}}{E_{bark}I_{bark}}\Delta C_{wood} \quad (53)$$

The strain of bark relative to its free configuration is then:

$$\varepsilon_{bark} = -\frac{E_{wood}I_{wood}}{E_{bark}I_{bark}}\Delta C_{wood}R_{w+b} \quad (54)$$

Its stress relative to its free configuration is:

$$\sigma_{bark} = -\varepsilon_{bark}E_{bark} \quad (55)$$

Combining equations (47), (54) and (55):

$$\varepsilon_{eff_bark} = \Delta C_{wood} \frac{I_{wood}}{I_{bark}} R_{w+b} \quad (56)$$

4.2.2.3.4. Measurement of released strains

The released strains were measured on the naturally tilted trees in both tangential and longitudinal directions with the method detailed in Clair et al. (2013). Strains were recorded using biaxial strain gages 0°/90° stacked rosette (Kyowa KFG-5-120-D16-11L1M2S) connected to a data logger (P3 Vishay). Tangential strain was released by two longitudinal grooves made on both sides with a sharp knife at a distance of 5 mm from the gage. Longitudinal strain was released by sawing tangentially at the same distance above and below the gage.

Measurements were made both on bark and wood. For the measurements on bark, the external part of the bark (suber, see Figure 66) was first peeled to ensure that measurements were made on phloem. Measurements on wood were made at a dis-

tance of several tens of centimetres from the bark measurement. The soft cambial cells were peeled before gluing the strain gage.

4.2.2.3.5. Statistical analysis

Student's t-test was performed with R software to test the difference with a theoretical null mean at the 5 % significance threshold.

4.2.2.3.6. Anatomical observations

In the seedling stems, cross sections were cut in the vicinity of the debarked area. The cross sections included the whole surface of the stem. In the naturally tilted trees, longitudinal-tangential sections were prepared in both the upper and lower side of bark. The greater thickness of adult trees enabled sectioning at three different distances from the cambium: near the cambium, in the middle of the phloem, and near the suber (Figure 66). Longitudinal sections 20-40 μm thick were cut on fresh samples with a sliding microtome and stained with safranin and astra blue. Observations were performed with a bright field optical microscope.

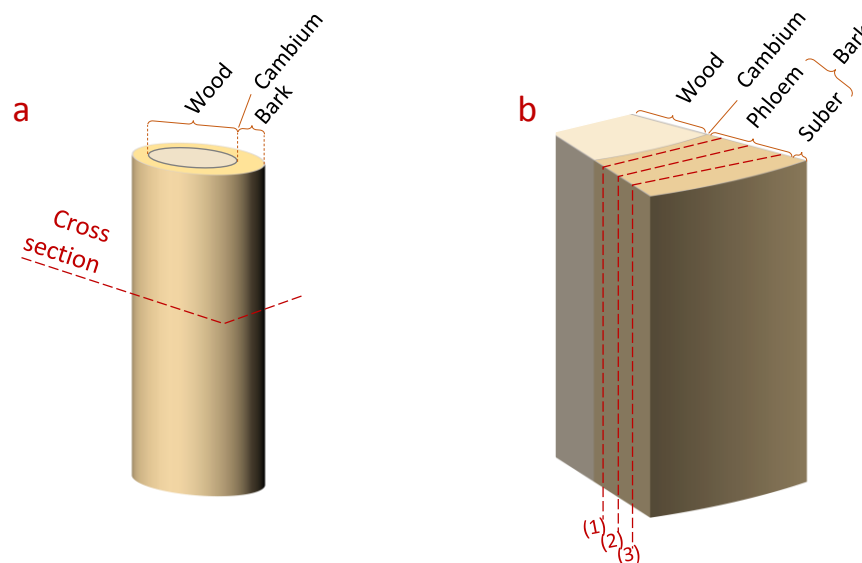


Figure 66. Schematic representation of the position of the sections. a, Cross section in seedling stems and b, longitudinal – tangential sections in the phloem of adult trees (1) near the cambium, (2) in the middle of the phloem and (3) near the suber. Longitudinal – tangential sections were made on large diameter trees to minimise the curvature of the tangential plane and to enable access to thick bark, which made it possible to obtain several sections within the thickness of the bark.

4.2.2.4. Results and Discussion

To investigate the contribution of bark in tree posture control, we artificially tilted young trees belonging to five tropical tree species in a greenhouse and fastened them to a pole to enable a controlled gravitational stimulus which remained constant over time and in space (Coutand *et al.* 2014). After being tilted for at least 3 months, they were released from the pole and the accumulated elastic energy caused an instantaneous up-righting movement of the stem (Figure 67) confirming

the active reaction of all trees to recover verticality. Bark was then removed from segments of the stems, and the consecutive change in curvature was measured in photographs taken at the two stages (Figure 67). As this change in curvature depends at first order on the diameter of the section (Mouliia & Fournier 2009) and the thickness of the bark, a “bark efficiency index” was computed as the ratio of the motor power (bark stress) to the resistance of the structural material (wood elastic modulus).

When the bark of *Pachira* trees was removed, curvature decreased in all trees, thereby demonstrating the contribution of bark to bending forces in *Pachira*. In *Virola* and *Simarouba*, very slight changes in curvature were recorded after the bark was removed (statistically not different from zero). This result indicates that bark contributes to the stem bending in a similarly efficient way as wood in these trees. In these species, both wood and bark act together. Finally, in *Cecropia* and *Laetia* trees, this experiment emphasises the paradoxical action of the bark, which partially impedes the bending action of wood.

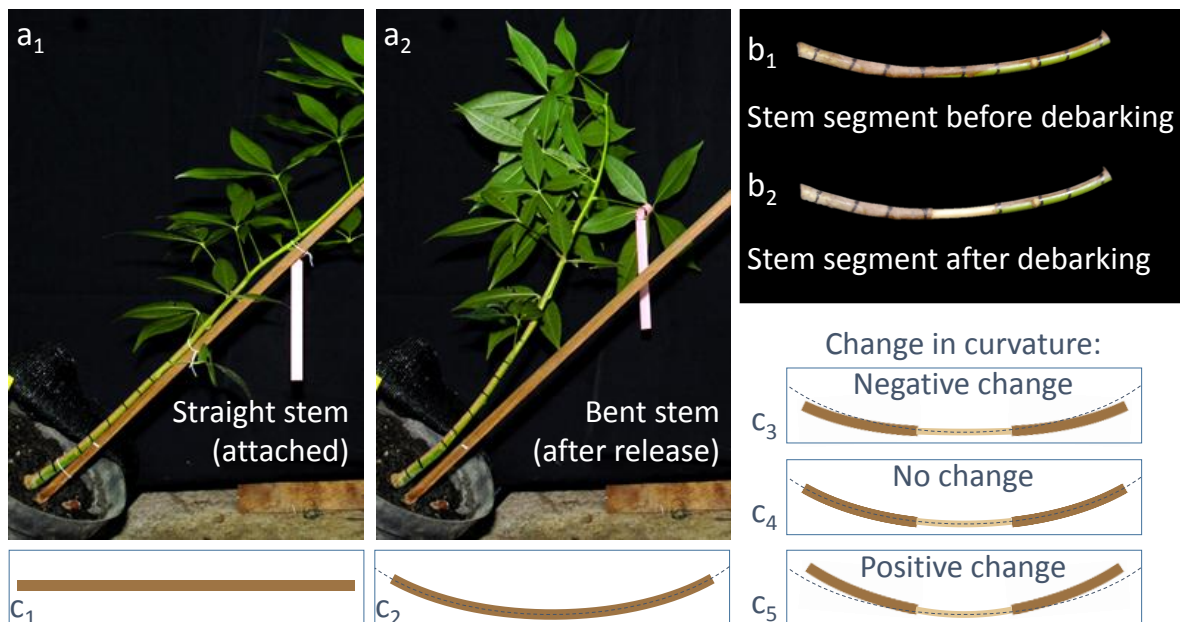


Figure 67. Photographs and schematics of the bending of the stem during the experiment. a. Example of a sampling before (a1) and after (a2) release from the pole. b. Photograph of a stem segment before (b1) and after (b2) debarking. c. Schematics of bending at each step: in all trees, release from the pole led to positive curvature change (c2). Later when the bark was removed, curvature either decreased (c3), remained stable (c4) or increased (c5).

In a tropical forest, using naturally tilted adult trees, we measured the strain following the release of mechanical stress (Archer 1986) in both bark and wood, on both the upper and lower side of the stem. Measurements were made on the five above-mentioned species plus one other species, *Goupia*. Strain was measured with strain gages both along the axis of the stem (longitudinally) and perpendicular to it (tangentially) (Clair *et al.* 2013). A positive strain (swelling) indicates a compressive stress, whereas a negative strain (shrinkage) indicates tensile stress. Results show that all trees produce wood with longitudinal tensile stress on the upper side of the stem (Extended data Table 10). The efficiency of the up-righting of trees depends on

the difference in tensile stress between the two sides causing an upward change in stem curvature (Alméras & Fournier 2009). Measurements revealed that the mechanism of differential tensile stress in wood is shared by all the species we studied (Figure 69a), but differential longitudinal strains in wood remains low in *Pachira*, in which we previously highlighted the active role played by bark.

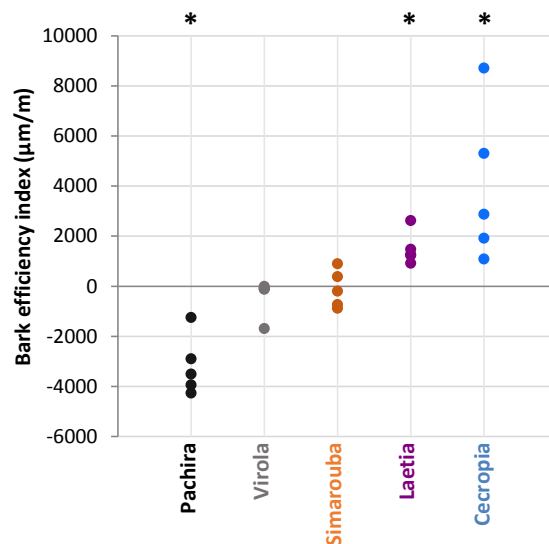


Figure 68. Bark efficiency index (standardised change in curvature following debarking) in the 5 species. A negative change shows that the bark contributed to the stem bending. A positive change in curvature after the bark was removed shows that the bark partially impeded stem up-righting forces. Absence of additional curvature during debarking shows that both wood and bark influence the bending of the stem in a similar way. * indicates the significance difference to zero at $p = 5\%$.

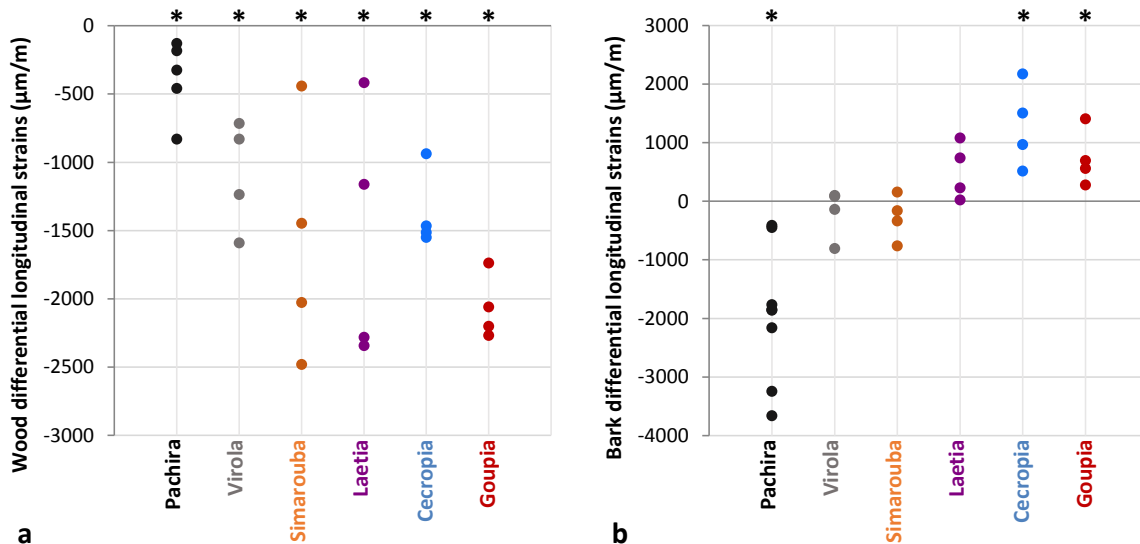


Figure 69. Differential longitudinal released strains between the upper and lower sides of the tilted stem: a. in wood. The absence of positive values confirms that the wood differential stress is a mechanism shared by all species. b. in bark. * indicates the significance difference to zero at $p = 5\%$.

Measurements of released strain in the bark confirmed that the bark of *Pachira*, *Virola* and *Simarouba* species is under longitudinal tensile stress on both sides, but

with higher tensile stress on the upper side (Extended data Table 10). The difference between the upper and lower sides is thus negative (Figure 69b) confirming that the bark contributes to the up-righting process. The bark of *Cecropia*, *Laetia* and *Goupia* is under compressive stress on the upper side and tensile stress on the lower side. In these species, the positive difference (Figure 69b) indicates that bark partially counteracts the up-righting process; bark appears to be passive (or not sufficiently active) and is subject to the upward bending of the stem driven by the action of wood, putting the bark under compression on the upper side and under tension on the lower side. The action of the wood on the bark is even visible in some trees, where the surface of the bark is wrinkled on the upper side and smooth on the lower side (Extended data Figure 72).

An active contribution of bark to the up-righting process was found in species in which the wood was less efficient in generating an upward movement. Conversely, a passive contribution was found in species with efficient wood.

Barks exhibit high tensile tangential stress (Extended data Table 10) resulting from the increasing diameter of the wood, which pushes the bark ring radially. As the increase in perimeter is not fast enough, tension is induced in the tangential direction.

To investigate the mechanism which enabled the bark to control tree posture, we prepared semi-thin sections of wood and bark. Cross sections (Figure 70 and extended data Figure 73) show the bifacial cambium between the inner wood core and the outer secondary phloem. The pattern of the wood formed on the upper side of the stem, called tension wood, contrasts with that of the opposite wood. In *Cecropia*, *Laetia* and *Simarouba*, wood fibres have a typical gelatinous layer (Wardrop & Dadswell 1948) with different degrees of lignification (Roussel & Clair 2015). In *Pachira* and *Virola*, the tension wood is characterised by very low wood fibre content, with no visible gelatinous layer, and many radially elongated parenchyma cells. This typical pattern has been observed in several species especially among Malvaceae and Annonaceae (Ghislain & Clair 2017). The bark side of the section also shows diverse organisation. In *Goupia* and *Laetia*, phloem is made up of apparently randomly organised phloem fibre bundles in a matrix made of parenchyma encrusted with sclereids. In *Pachira* and *Virola*, phloem fibres are organised as flames (including sieve elements) separated by wide bands of living parenchyma cells (Figure 70-Pachira2). This triangular organisation is a direct consequence of the building process (Extended data Figure 74). Phloem fibres are all produced by cell division in the cambium and the triangular shape originates from the number of initial cambial cells, which increases with the increase in stem diameter. In contrast, the organisation of the phloem parenchyma cells results from their long life, which allows late division and enlargement of the cells. This dilation phenomenon (Angyalossy *et al.* 2016) makes it possible to compensate for the increasing perimeter.

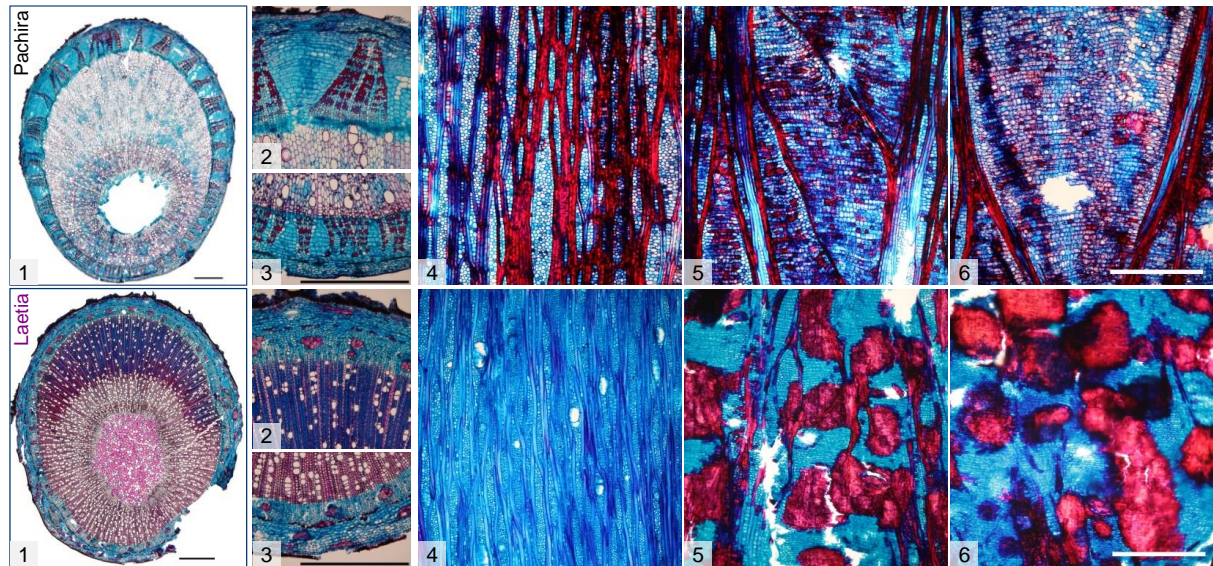


Figure 70. Cell organisation in wood and bark of *Pachira aquatica* and *Laetia procera*. 1- Full cross section of a young stem. The top of the section corresponds to the upper side of the tilted stem, where tensile stress is generated to bend the stem upward. 2- Detail of the upper side of the stem, including wood (bottom) and bark (top), separated by the cambium. 3- Detail of the lower side of the tilted stem including bark (bottom) and wood (top). 4-6 - Longitudinal sections of the phloem (inner bark) of a larger tree at increasing distances from the cambium. Scale bars: 1 mm. The phloem fibre network is well organised in *Pachira* and nearly absent in *Laetia*. Conversely in *Laetia*, phloem shows numerous sclereids, which are absent in *Pachira*.

We also took longitudinal sections at different distances from the cambium to the phloem (Figure 70 and extended data Figure 73). In *Virola* and *Pachira* and to a lesser extent in *Simarouba*, longitudinal sections revealed an interconnected network of phloem fibres. In the vicinity of the cambium, the network fibres are separated by narrow bands of parenchyma cells (Figure 70-*Pachira*4). Away from the cambium, the network widens with the enlargement of the band of parenchyma between the phloem fibres (Figure 70-*Pachira*6). A similar structure in bark has already been observed in *Tilia* (Böhlmann 1971), *Carica* (Fisher & Mueller 1983; Kempe *et al.* 2014) and *Ochroma* (Fisher & Mueller 1983), for which the authors discussed a possible role in the up-righting process of the plant. The swollen appearance of the parenchyma led the authors to suggest that during their division and enlargement, parenchyma cells may put tangential pressure on the phloem fibre bundles to move them apart, so that the trellis tends to shorten and produce longitudinal tensile stress.

Such a mechanism based on the swelling of parenchyma cells in a rigid network at the millimetre scale represents an exciting analogy with the mechanism occurring within the tension wood cell wall at the sub-micrometre scale (Alméras & Clair 2016) (see Extended data Figure 75). However such a mechanism should create compressive tangential stress in the bark, whereas we always measured a strong tensile tangential stress in these species (Extended data Table 10), especially on the upper side of the stem. The similarity of the mechanisms is therefore limited to the organisation of the trellis of the fibre network which efficiently redirects transverse extension into longitudinal tension, but the driving force is different. Tangential tensile stress measured in bark indicates that the elongation in the tangential direction cannot result from internal swelling of inner bark parenchyma cells but ra-

ther from the radial growth of wood, increasing the perimeter and therefore pulling the bark tangentially to generate longitudinal tensile stress (Fig. 5 and Extended data Figure 75). Tangential phloem parenchyma growth is therefore not used to produce compressive stress acting on the fibre bundle, but to reduce tangential stress, which would otherwise rapidly rupture the bark.

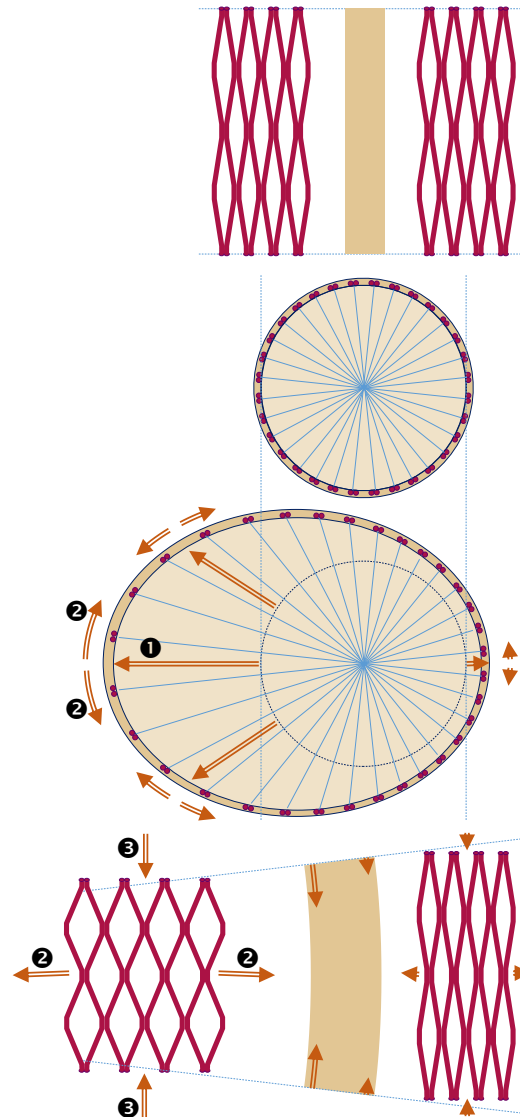


Figure 71. Schematics of the change in curvature induced by the wood radial growth on one side of the stem. Wood radial growth (1) leads to tangential extension of the bark (2) causing longitudinal shortening of the trellis (3). Differential growth on the two sides of the axis leads to differential shortening and therefore bending of the stem.

The trellis structure of bark was found on both sides of the stem. The efficiency of the mechanism is therefore linked to the asymmetric production of wood (Figure 71), as supported by the pronounced eccentric growth of species which rely on this mechanism (Figure 70), rather than by only the asymmetric differentiation of the bark itself. Therefore, it relies on the production of a specific type of “reaction wood” rather than “reaction bark”. In *Pachira* and *Virola*, “reaction wood” growth in the tilted stem is achieved through the intense production of elongated parenchyma cells or thin-walled fibres on the upper side. As parenchyma cells have very thin cell

walls and therefore low density, this strategy makes it possible to respond to mechanical disturbance at low carbon cost. What is more, this soft material can be easily bent by the action of phloem, thereby increasing the overall efficiency of the mechanism.

By measuring the change in curvature during debarking, we demonstrated the efficiency of this mechanism and provided evidence for its use by different tree species in a combined action with wood, with a variable balance between the two mechanisms. It is generally considered that two kinds of motor systems are used by plants (Mouliia *et al.* 2006): turgor-based mechanisms, where differential strains or growth in turgid tissues directly induce a bending movement in herbaceous stems, and mechanisms based on stress accumulation, found in sclerified tissues. Here we show that a third type of motor system should be considered, in which the irreversible growth of turgid parenchyma is coupled with a specific structure of the sclerified bark to induce force. This smart organisation of the rigid network around a soft locally inflatable pole gives interesting perspectives for active structures in civil engineering and material science.

It is noteworthy that in species which do not rely on this mechanism, tissues produced by sister cells on the wood side and on the bark side are in conflict, evidencing that design in nature does not only respond to the best engineering solution but accounts for other vital functions. However, in species highlighted in this study, nature shows that a well-designed structure organisation may lead sister cells to act in synergy to control the force.

4.2.2.5. Acknowledgements

We thank Jocelyn Cazal, Soepe Koese, Hélène Morel, Onoefe NGuete, Jonathan Prunier and the students of the AgroParisTech's FTH Training course 2016, Krystel Corsagni, Marc Gomes, Kathy Jaffredo, Elodie Lhuer for their contribution to this study.

This work was performed in the framework of the project 'StressInTrees' funded by the French National Research Agency (ANR-12-BS09-0004) and benefits from an 'Investissements d'Avenir' grant managed by the French National Research Agency (CEBA, ref. ANR-10-LABX-25-01).

4.2.2.6. Authors' contributions

B.C. initiated the study. All authors contributed to design experiments, B.C. and B.G. performed experiments. All authors contributed to discuss and interpret results. B.C. and T.A. wrote the paper. All co-authors contributed to discuss and modify text and figures and gave final approval for publication.

4.2.2.7. Competing interests

We declare we have no competing interests.

4.2.2.8. Extended data

Table 10. Values measured on the adult trees. Tree diameter (cm), release strain in the longitudinal (LRS) and tangential (TRS) direction measured in both bark and wood on both the upper side (US) and lower side (LS) of the tilted stems. LRS and TRS are in $\mu\text{m}/\text{m}$.

<i>Species</i>	<i>Family</i>	<i>Tree #</i>	<i>Tree diam. (cm)</i>	<i>Bark US LRS</i>	<i>Bark LS LRS</i>	<i>Bark US TRS</i>	<i>Bark LS TRS</i>	<i>Wood US LRS</i>	<i>Wood LS LRS</i>
Cecropia palmata	Urticaceae	Cp1	19.8	-1179	-1698	-2065	-2039	-1703	-190
Cecropia palmata	Urticaceae	Cp2	16.5	245	-1930	-759	-1540	-2325	-1388
Cecropia palmata	Urticaceae	Cp3	19	-652	-1621	1875	-461	-1967	-417
Cecropia palmata	Urticaceae	Cp4	21.1	-277	-1784	-1364	-4120	-1949	-484
Goupia glabra	Goupiaceae	Gg1	16	129	-568	-935	-1420	-2531	-264
Goupia glabra	Goupiaceae	Gg2	14.5	236	-325	-1296	-826	-2405	-205
Goupia glabra	Goupiaceae	Gg3	20	86	-195	-1436	-1381	-1971	-234
Goupia glabra	Goupiaceae	Gg4	13	1041	-368	-1009	-1160	-2010	50
Laetia procera	Salicaceae	Lp1	20.3	350	119	-265	1080	-642	-225
Laetia procera	Salicaceae	Lp2	7	70	47	-1025	-1137	-1380	-219
Laetia procera	Salicaceae	Lp3	28.9	395	-346	-1450	-580	-2508	-226
Laetia procera	Salicaceae	Lp4	15	-220	-1303	-900	-3070	-2145	197
Pachira aquatica	Malvaceae	Pa1	13	-1900	-135			-741	90
Pachira aquatica	Malvaceae	Pa2	9.5	-3745	-85			-698	-239
Pachira aquatica	Malvaceae	Pa3	20.4	-2080	80			-327	-198
Pachira aquatica	Malvaceae	Pa4	8	-3700	-454	-1800	-2590		
Pachira aquatica	Malvaceae	Pa5	9.5	-1890	-40	-2975	-2410		
Pachira aquatica	Malvaceae	Pa6	10.5	-2340	-1895	-2460	-2080	-1161	
Pachira aquatica	Malvaceae	Pa7	31	-3015	-1155	-850	-1770	-620	-295
Pachira aquatica	Malvaceae	Pa8	7	-1562	-1150	-2193	-1667	-375	-191
Simarouba amara	Simaroubaceae	Sa1	26	-655	-494	-2085	-1344	-2178	-151
Simarouba amara	Simaroubaceae	Sa2	6	-806	-472	-802	-20	-2076	-1635
Simarouba amara	Simaroubaceae	Sa3	20	-498	-658	-1311	-2100	-1318	129
Simarouba amara	Simaroubaceae	Sa4	16	-1030	-270	-1760	-2607	-2590	-110
Virola surinamensis	Myristicaceae	Vir1	11.5	-990	-186	-654	-433	-785	-69
Virola michelii	Myristicaceae	Vir2	23	-345	-446	-1399	-804	-1605	-14
Virola surinamensis	Myristicaceae	Vir3	11.7	-810	-674	-2300	-625	-1815	-579
Virola surinamensis	Myristicaceae	Vir4	15	-495	-582	-626	-477	-1103	-272

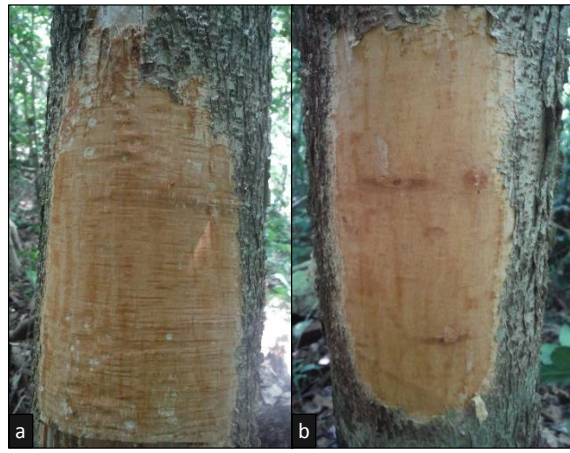


Figure 72. Bark of *Goupia glabra* after peeling of the external part (suber). a. Wrinkled surface on the upper side of the tilted stem, trace of the compression exerted by the wood on the bark. b. Smooth surface on the lower side, consequence of the pull exerted on the lower side by the curving wood core.

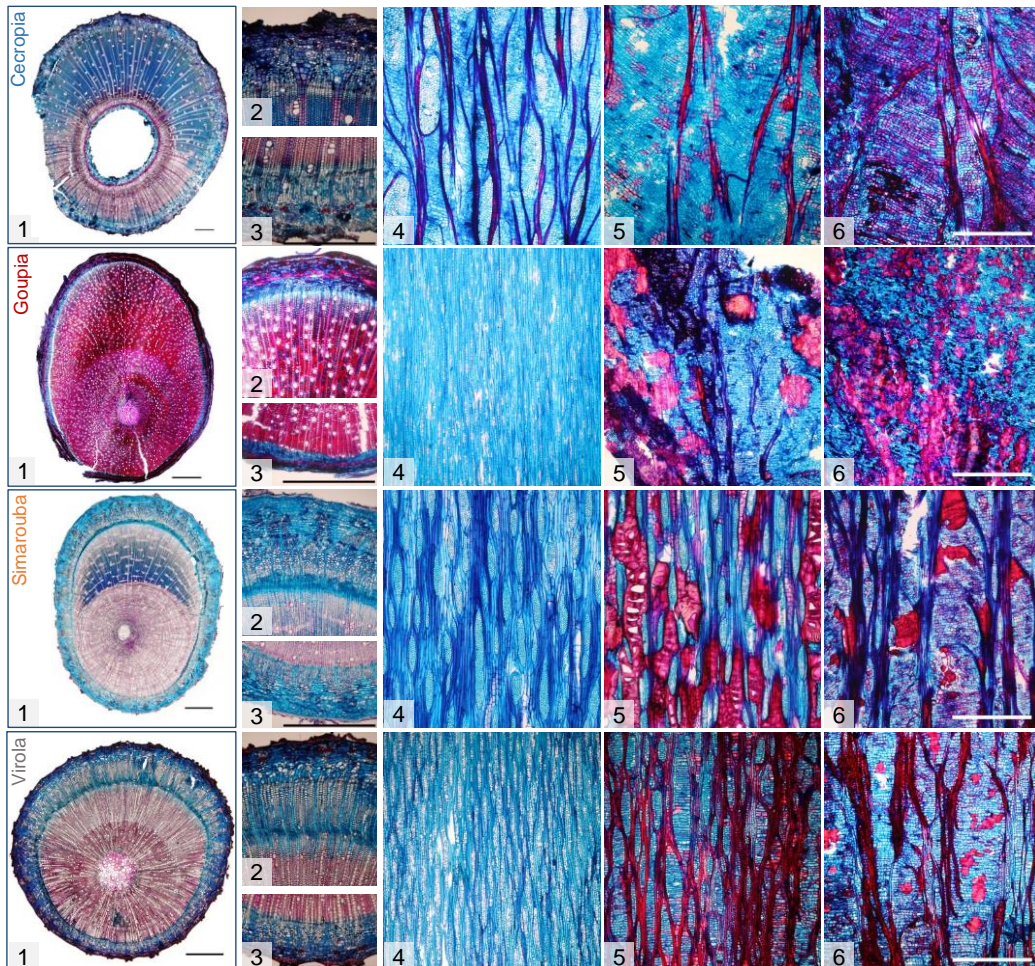


Figure 73. Cell organisation in the wood and bark of *Cecropia palmata*, *Goupia glabra*, *Simarouba amara* and *Virola melinonii*. 1- Full cross section of a young stem. The top of the section corresponds to the upper side of the tilted stem where tensile stress is generated to bend it upward. 2- Detail of the upper side of the stem, including wood (bottom) and bark (top), separated by the cambium. 3- Detail of the lower side of the tilted stem including bark (bottom) and wood (top). 4-6. Longitudinal sections of the phloem (inner bark) of a large tree made at increasing distance from the cambium. Scale bars: 1 mm. The phloem fibre network is well organised in *Virola* and in *Pachira* but nearly absent in *Goupia* and in *Laetia*. In *Simarouba* and *Cecropia*, an organised network is visible near the cambium, then enlarges with the dilation of the parenchyma but the network tends to break at a greater distance from the cambium. *Cecropia* is characterised by very thick pith, which is partly responsible for the high *Bark efficiency indexes* shown in fig. 2. Cross section of *Goupia* seedlings is shown as illustration, but *Bark efficiency indexes* were not measured on *Goupia* seedlings.

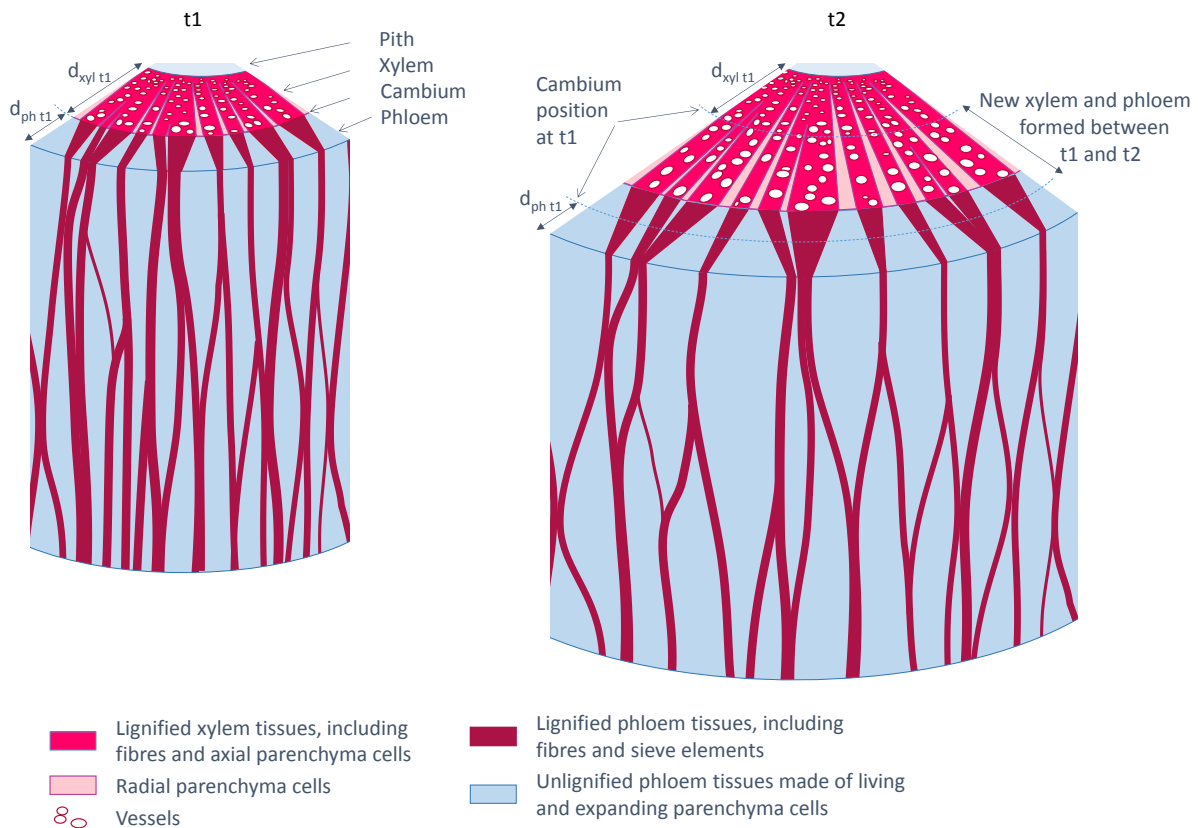


Figure 74. Schematics of the 3D organisation of tissues in a growing stem of *Pachira*. Both xylem and phloem cells are produced by the same mother cells in the cambium that can divide either on the wood side or on the bark side. Then during stem growth, the sister cells are separated by the newly produced cells. Tensile stress in phloem is generated by radial growth of the xylem pushing the phloem outwards, thereby inducing tensile tangential stress, which is transmitted in the axial direction by the trellis organisation of the phloem fibres. t_1 : early stage during growth, t_2 : later stage. $d_{xyl\ t1}$: wood thickness at t_1 , $d_{ph\ t1}$: bark thickness at t_1 .

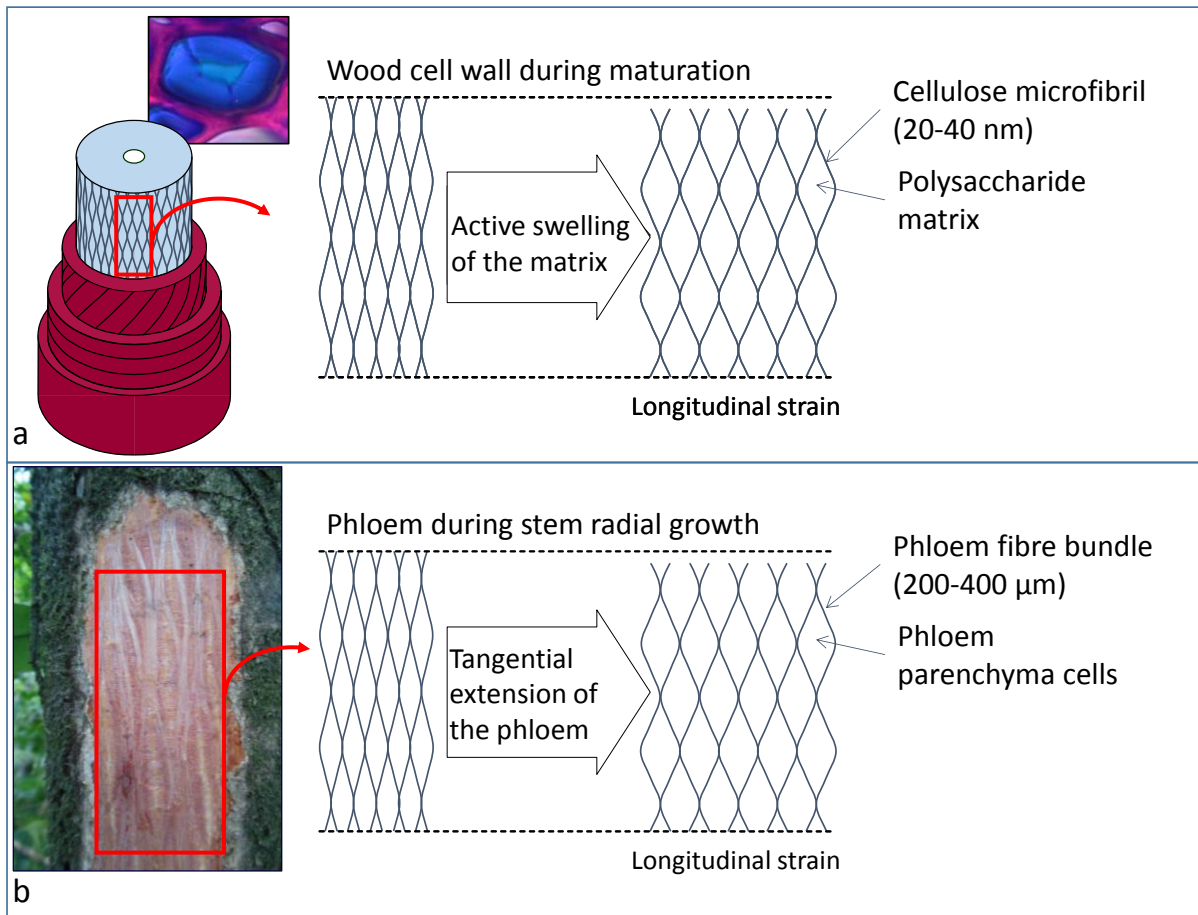


Figure 75. Analogy between the mechanisms generating tensile stress in trees at two different scales. A. In the gelatinous layer of tension wood (at the nanometric scale) and b. in the bark of *Pachira aquatica* (at the sub-millimetre scale). Current knowledge of the mechanism enabling the gelatinous layer to generate tensile stress (Alméras & Clair 2016) supports the hypothesis of a mechanism by which the swelling of the gelatinous matrix (Chang *et al.* 2015) puts the rigid cellulosic network into tensile stress (Clair *et al.* 2011) (cellulose microfibril aggregates are 20 to 40 nm thick). In the bark, the matrix is made of phloem parenchyma cells and the network is built by the phloem fibre bundles (200-400 μm). However the analogy is limited to the trellis organisation of the fibre network, which efficiently redirects transverse extension into longitudinal tension, but the driving force is different.

Chapitre 5: : COMPARAISON DES DIFFERENTS MECANISMES DE GENERATION DES CONTRAINTES

5.1. Avant-propos

Les différentes anatomies de bois de tension décrite au chapitre 4 sont associées à deux mécanismes de génération des contraintes de tension: les contraintes de tension sont générées dans la couche G dans les bois de tension à couche G et via l'interaction du bois et de l'écorce pour les bois de tension sans couche G (voir chapitre 4). Ce chapitre permet de comparer les différents mécanismes (« couche G » par rapport à « sans couche G »), en distinguant pour le mécanisme « couche G » les anatomies de « couche G lignifiée » de « couche G non lignifiée ».

L'efficacité du redressement est le premier niveau de comparaison des mécanismes des différents types anatomiques de bois de tension. La méthodologie décrite à l'article 2 permet de comparer les efficacités de redressement de 20 espèces à bois de tension contrastés, en différenciant la contribution du bois de celle de l'écorce. Les différents paramètres biomécaniques influents sur l'efficacité (excentrement, épaisseur d'écorce, etc.) ainsi que la contrainte de maturation du bois de tension sont étudiés (article 6).

Dans les analyses précédentes, l'efficacité du redressement est normalisée entre les individus par la quantité de bois formé (quelle efficacité pour épaisseur de bois additionnel formé), mais l'efficacité pourrait aussi être comparée par unité de temps (combien de temps pour arriver à un niveau de redressement) ou pour un coût de construction donné (quelle efficacité pour une biomasse produite donnée). Il semble donc intéressant de comparer les dynamiques de croissance et d'allocation de biomasse associé au redressement pour les différents mécanismes identifiés précédemment.

La croissance en hauteur et en diamètre ainsi que la répartition de biomasse entre les différents compartiments de l'arbre (feuilles, tige, racines) sont étudiées chez des arbres droits et des arbres artificiellement inclinés de 3 espèces à bois de tension contrastés.

Enfin, la différence d'infradensité d'écorce et du bois selon le côté opposé ou tension est également discutée.

5.2. Efficience du redressement chez 20 espèces à mécanismes biomécaniques contrastés (article 6)

5.2.1. Avant-propos

L'article 6 compare l'efficience du redressement de 20 espèces à bois de tension contrastés. La contribution du bois et de l'écorce de chaque mécanisme de génération de contraintes de tension est discutée. Les résultats permettent de discuter le rôle de la lignine dans la couche G et amènent de nouveaux éléments par rapport aux compromis fonctionnel entre le bois et l'écorce pour les mécanismes « couche G » et « sans couche G ».

Cet article est en cours de préparation (Ghislain *et al.* in prep.).

5.2.2. Article 6 : The diversity of gravitropic reactions among 20 tropical tree species leads to similar up-righting efficiency ³⁴

Barbara Ghislain¹, Tancrède Alméras² and Bruno Clair¹

¹CNRS, UMR EcoFoG, AgroParisTech, Cirad, INRA, Université des Antilles, Université de Guyane, 97310 Kourou, France

²Laboratoire de Mécanique et Génie Civil (LMGC), CNRS, Université de Montpellier, cc 048, Place E. Bataillon, 34095 Montpellier, France

5.2.2.1. Abstract

Angiosperm trees produce tension wood on the upper side of leaning stem. Tension wood has a motor function. It enables the control of the shape and orientation of woody axes by inducing changes in stem curvature. Tension wood exhibits contrasted anatomy compared to normal wood, and can be classified into 3 groups: tension wood with typical unlignified G-layer, tension wood with lignified G-layer and tension wood with no G-layer. This study aims at assessing whether the diversity in tension wood anatomy reflects a diversity in efficiency of the mechanism underlying its motor function. The study was conducted on 20 tropical species belonging to the three above-mentioned anatomical groups. Seedlings were tied to a stake, inclined, and let grow in inclined position. At the end of the experiment, the instantaneous change in curvature that occurs when releasing the stem from the stake was measured. The contribution of bark to the up-righting process was assessed by measuring the change in curvature that occurs when bark is removed. Sections were ob-

³⁴ . Contribution : collecte de graines et de plantules et croissance des arbres, installation de l'expérience en serre et inclinaison des arbres, mise au point des méthodes, mesures de courbures, coupes et mesures anatomiques, organisation des données, analyse statistique et co-écriture de l'article.

served and their morphology was quantified. From these data, we compute three parameters of efficiency: wood and bark efficiencies quantify the biomechanical properties of these tissues; the gravitropic efficiency quantifies the overall up-righting ability, influenced by the biomechanical properties of the tissues as well as their distribution within the section. Wood efficiency was similar between the unlignified G-layer and lignified G-layer groups, suggesting that lignin is not involved in the mechanism. In species without G-layer, wood efficiency is close to 0 and bark efficiency has large magnitude, showing that most of these species rely entirely on a mechanism based on the interaction between wood and bark. The 3 groups had similar gravitropic efficiency, showing that the three mechanisms are equally efficient.

Key-words: Gravitropism, tension wood, biomechanics, tropical rainforest, G-layer, lignification.

5.2.2.2. Introduction

The vertical orientation of plant stems is highly instable. It can be easily disturbed, for example by wind, animals, falling trees or debris. Growth itself is a source of disturbance: because of gravity, the increasing self-load of the plant tends to bend stems downwards. To cope with these situations and control or restore vertical growth in the field of gravity, plants need an active motor system (Moulija *et al.* 2006) to correct mechanical disturbances. In trees, this motor function is taken on by secondary growth. When needed, woody stems of angiosperms produce a special tissue in their wood called tension wood. This tissue is located on the upper side of the cross section of a leaning axis and generates tensile forces during wood maturation. Production of tension wood is often accompanied with eccentric growth, increasing the amount of forces on one side of the stem. This asymmetric production of tensile forces in a stem section generates a bending moment that tends to curve it up, in order to maintain or restore optimal orientation of the woody axes.

In tension wood studies, poplar is a model species (Pilate *et al.* 2004b). Tension wood in poplar is characterized by the presence of a gelatinous layer replacing part (or the whole) of the S₂ layer of wood fibres. This gelatinous layer is composed of highly crystalline cellulose oriented along the axis of the fibre, embedded in a matrix of polysaccharides and proteins (Guedes *et al.* 2017) with little or no amounts of lignin (Pilate *et al.* 2004a). When screening a diversity of species, tension wood was first thought to be either with or without G-layers (Onaka 1949; Clair *et al.* 2006). In the meantime, in *Simarouba amara*, a species previously classified as “without G-layer” (Ruelle *et al.* 2007b), it was observed that the G-layer is visible in early stages of cell-wall maturation, but is lately lignified and therefore masked (Roussel & Clair 2015). Most species previously classified as “without G-layer” may have a G-layer masked by lignification. Consequently, when reviewing the literature of tension wood anatomy on diverse species, tension wood anatomy is finally defined as having G-layer, with or without lignin, or having no G-layer at all (Ghislain & Clair 2017). The main aim of this paper is to examine whether or not such diversity in the anatomy of tension wood reflects variations in the efficiency of the up-righting mechanism.

Concerning the mechanism of the G-layer, it was shown on poplar that a strong tensile stress is generated in cellulose microfibrils during the cell-wall maturation process (Clair *et al.* 2011). Various models have been proposed to explain how the formation of the secondary cell-wall generates mechanical stress (as reviewed in Alméras & Clair 2016). Because unligified G-layer was taken as a model, none of the models developed for the G-layer considers the possible implication of lignin in this mechanism. Yet, lignin is considered to have a role in the generation of maturation stress for normal and compression wood. The so-called “unified hypothesis” (Okuyama *et al.* 1994; Yamamoto 1998) currently explaining the relations between variations in maturation stress and microfibril angle, assumes that lignin is swelling during maturation and thus adds compressive stress to the cell wall. In the case of lignified G-layers, this additional compressive stress would tend to reduce the tensile stress generated during the maturation process. On the other hand, the most recent model of stress generation in the G-layer (Alméras & Clair 2016) assumes that tensile stress is generated in the direction of the cell axis due to the interaction between the swelling of the matrix and a connected microfibril network. It assumes that the polysaccharide matrix swells and pushes laterally on the cellulose microfibril network, thus creating a strong tensile stress in the direction of microfibrils. If this mechanism is assumed, the addition of lignin to the matrix may create more matrix swelling and therefore more tension in the cellulose network, leading to an increased tensile stress.

Concerning tension wood without G-layer, it was shown that its action relies on a mechanism primarily based on the interaction between wood and bark (Clair *et al.* in prep.). Phloem fibres are organised as a network in which enlarged parenchyma cells are nested. The mechanism implies a radial eccentric growth of wood, pulling tangentially the bark due to expanding diameter which will generate longitudinal stress on the eccentric side thanks to the organisation of the fibres network. The primary action of wood in these species is then to push radially on the bark. This may add to a direct action of wood, if this wood is also put under tension during its maturation process, as was shown for two species on which direct measurement of residual strains have been performed on adult trees (Clair *et al.* in prep.). The question arises of whether these species are able to cumulate the two mechanisms for an improved efficiency, or whether there is a compromise between these two mechanisms.

Answering these questions requires comparing the efficiency of the stem up-righting for a set of species in which a diversity of reaction anatomy is observed. Basically, the result of the production of tension wood is a change in stem curvature. It has been shown that this change in curvature depends at first order on the diameter of the stem and the amount of diameter growth (Alméras & Fournier 2009). In order to compare stems of different species, with different size and growth rate, this change in curvature has to be standardized. The concept of gravitropic efficiency, as proposed in Alméras *et al.* (2009), enables such standardisation, based on a biomechanical analysis of size effects (Alméras & Fournier 2009). This gravitropic efficiency quantifies the ability to generate a movement in a stem of a given size, for a given investment in biomass (i.e. for a given growth increment). The grav-

itropic efficiency results from all factors that contribute to the up-righting process, i.e. the mechanical stress in bark, the mechanical stress in wood, the amount of tension wood (through the extension of the tension wood arc) and eccentric growth. The effect of these different factors can be distinguished by defining parameters characterizing the efficiency of bark and wood independently. Both can be defined as the ratio between the mechanical stress induced in them and the stiffness of the material on which their bending action apply, i.e. wood elastic modulus. Bark efficiency can be computed from the change in curvature that occurs when the bark is removed from a stem segment (Clair *et al.* in prep.). Wood efficiency can be computed from change in curvature that occurs during stem up-righting (Alméras *et al.* in prep.). By definition, it is equal to the magnitude of maturation strain in tension wood (Alméras *et al.* in prep.). It enables comparison of the quality of tension woods, independently of geometric factor (eccentricity and extension of the tension wood arc) affecting the gravitropic efficiency.

In previous studies estimating the gravitropic efficiency (Coutand *et al.* 2007; Alméras *et al.* 2009), the analysis of curvature and computation of the efficiency was performed on trees tilted and let free to up-right. Here we used a new methodology, where the stems are tied to a stake in tilted position, grown in that position, and released from the stake at the end of the experiment. With this method, the stimulus (inclination) is maintained maximal, uniform along the stem and constant during the experiment. The release from the stake induces an instantaneous change in curvature. The dependence between curvature, efficiency, diameter and diameter growth in this case differs from the case of free up-righting, and adapted models are necessary (Alméras *et al.* in prep.). This method is used here to compare the gravitropic efficiency, the wood efficiency and bark efficiency on seedlings of a diversity of species representing the three above-mentioned types of tension wood: with unligified G-layer, with lignified G-layer and with no G-layer.

5.2.2.3. Materiel and methods

5.2.2.3.1. *Plant material*

Seeds or young seedlings of 23 tropical tree species (Table 11) were collected in the tropical rainforest in French Guiana and grown up in a greenhouse in Kourou (FG). After being transplanted in pots, 10 to 15 plants per species were tied to a pole and acclimatized in the experimentation greenhouse for one month. The stem was tied to a pole every 20 cm to avoid damage of the stem.

In February 2016 stems were tilted at 45°. Eventual sprouts were cut during the whole experiment, to ensure that the main stem continues reacting and producing tension wood. The trees or species that did not grow or died during the experiment were removed from the study and the number of studied species was reduced to 20. Final mean stem basal diameter ranges between 5.6 and 13.5 mm.

Table 11. List of species grown for the study. *D_f*, mean final diameter of the stem (mm); *N_w*, number of trees for which wood efficiency was recorded; *Anat group*, anatomical group of the species based on its tension wood anatomy.

<i>Species</i>	<i>Code</i>	<i>D_f</i>	<i>N_w</i>	<i>Anat group</i>
<i>Cecropia palmata</i>	Cpa	10.8	9	Unlignified G-layer
<i>Hevea guianensis</i>	Hg	13.5	9	Unlignified G-layer
<i>Macarlobium bifolium</i>	Mbf	10.6	10	Unlignified G-layer
<i>Protium heptaphyllum</i>	Ph	7.6	8	Unlignified G-layer
<i>Protium opacum</i>	Po	6.8	4	Unlignified G-layer
<i>Simarouba amara</i>	Sa	7.9	8	Unlignified G-layer
<i>Bagassa guianensis</i>	Bg	6.0	4	Lignified G-layer
<i>Eperua grandiflora</i>	Eg	8.2	9	Lignified G-layer
<i>Guarea guidonia</i>	Ggu	7.6	9	Lignified G-layer
<i>Licania macrophylla</i>	Lm	8.4	9	Lignified G-layer
<i>Lecythis persistens</i>	Lpe	7.2	10	Lignified G-layer
<i>Laetia procera</i>	Lp	7.1	10	Lignified G-layer
<i>Manilkara bidentata</i>	Mbd	7.1	11	Lignified G-layer
<i>Sextonia rubra</i>	Sr	7.3	10	Lignified G-layer
<i>Cordia alliodora</i>	Ca	10.6	9	No G-layer
<i>Gossypium hirsutum</i>	Gh	6.1	11	No G-layer
<i>Pachira aquatica</i>	Pa	9.2	14	No G-layer
<i>Theobroma cacao</i>	Tc	10.4	15	No G-layer
<i>Theobroma grandiflorum</i>	Tg	6.6	3	No G-layer
<i>Virola michelii</i>	Vm	5.6	9	No G-layer

5.2.2.3.1.1. Curvature measurements

The curvature of a stem segment is equal to the change in angle along this segment, divided by its length. Two marks drawn on each side on the stem allowed drawing two lines. The initial (α_i) and final (α_f) angle between these two lines and the length of the concerned portion of the stem (*L*) give the change in curvature (ΔC) through the equation: $\Delta C = (\alpha_f - \alpha_i) / L$. The sign of the curvature is positive if the segment curves upward.

Figure 76 illustrates the change in curvature of the stem when released from the pole (Figure 76-a,b) and when its bark is removed (Figure 76-c,d). The change in curvature of the stem (ΔC_S) due to the release of the pole was measured on a portion of 20 cm of the stem (Figure 76). The final angle was recorded after cutting a 20 cm-long segment of the stem and laying it on the floor, to cancel the effect of self-weight. Then, the bark (including all tissues located outside the vascular cambium) was removed on a central 5 cm-long portion of the stem, and the change in curvature due to debarking (ΔC_B) was measured. A negative value of ΔC_B indicates that the stem is less curved after removing the bark. This means that the bark was actively contributing to the tree up-righting. Conversely, a positive value of ΔC_B indicates that bark was partly impeding wood up-righting.

The change in curvature of the wood segment is deduced as: $\Delta C_W = \Delta C_S + \Delta C_B$.



Figure 76. Picture used to measure change of curvature due to the release of the pole (a,c) and due to debarking (c,d) on a 20 cm portion of the stem. Picture b was used to check up-righting movement following the release of the pole.

5.2.2.3.1.2. Stem anatomy and morphological measurements

A 20 – 50 μm -thick cross-section of the whole stem near the debarked area was cut with a sliding microtome and stained with safranin and Astra blue. The anatomical group of the species was defined based on tension wood anatomy of the observed seedlings. Tension and opposite bark thicknesses, tension and opposite wood ring thicknesses, extension of the tension wood sector and diameters of pith, initial wood and final wood were measured with ImageJ (Figure 77). In all species except *Guarea guidonia*, the position corresponding to the date of tilting was easily detected on stem sections thanks to the change in morphology: growth eccentricity, change in fibre cell wall thickness and change in the stain of the fibre cell wall. For *Guarea guidonia* the rings at the tilting date were less marked on opposite wood. Position at the tilting date was therefore calculated from position at the day of tilting determined on tension side with hypothesis of circularity of the stem before tilting. Together with curvature measurements, these morphological measurements are used to calculate the efficiency parameters to compare gravitropic reactions of the trees.

The eccentricity of diameter growth was quantified for wood and bark as (abbreviations of parameters are detailed in the legend of the Figure 77):

$$\text{Wood ecc} = \frac{T_{TW} - T_{OW}}{T_{TW} + T_{OW}}$$

$$\text{Bark ecc} = \frac{T_{TB} - T_{OB}}{T_{TB} + T_{OB}}$$

Eccentricity has no units and ranges between -1 and 1. It is positive when more wood or bark is produced on the tension side, and reaches 1 if the thickness of the wood or bark ring is reduced to 0 on the lower side.

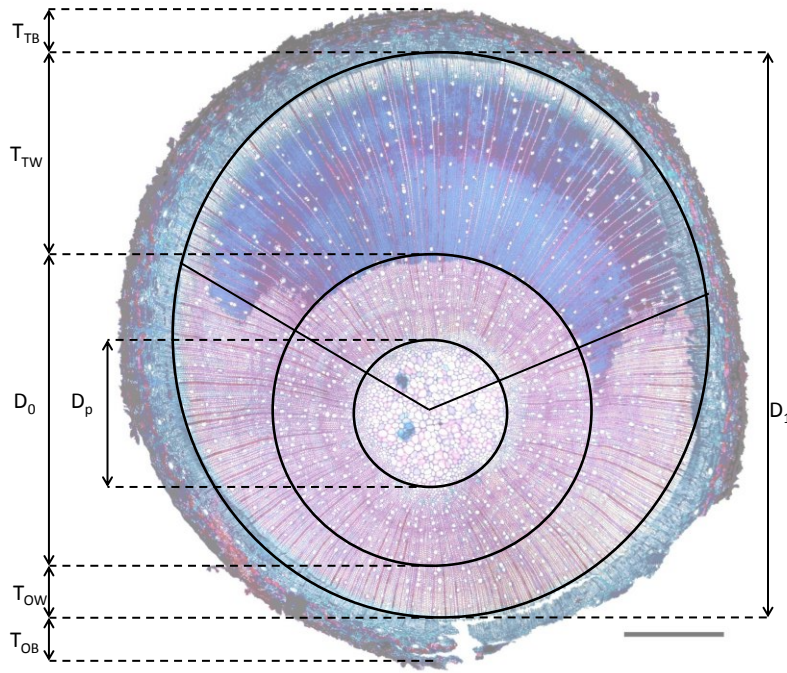


Figure 77. Schematic representation of the parameters describing section's morphology. D_0 : Initial wood diameter; D_1 : Final wood diameter; D_p : Pith diameter; T_{TW} : Tension wood ring thickness, T_{OW} : Opposite wood ring thickness, T_{TB} : Tension bark thickness, T_{OB} : Opposite bark thickness.

5.2.2.3.1.3. Computation of gravitropic efficiency

The computation of the gravitropic efficiency is based on the analysis of size effects for the change in curvature of a stem maintained tilted (Alméras *et al.* in prep.). The underlying model assumes that a stem section is maintained tilted and submitted to a growth increment with heterogeneous maturation strains. The section is assumed homogeneous and concentric, with sine variations in maturation strain (Alméras *et al.* in prep.). The change in curvature that occurs when releasing the stem from the pole can be expressed as a function of the diameter at the beginning (D_i) and at the end (D_f) of the experiment, and the maximal maturation strain in the section. The gravitropic efficiency is equal to this maximal maturation strain, and will be expressed in microstrains (10^{-6} m/m).

$$\text{Gravitropic efficiency} = -\frac{3}{4} \Delta C \frac{D_f^4}{D_f^3 - D_i^3}$$

The curvature of the whole stem (ΔC_s) is here used to calculate the gravitropic efficiency. It represents the ability of the whole stem to upright using both wood and bark. A stem able to upright has a positive curvature of the whole stem ($\Delta C_s > 0$) and will therefore have a negative value of gravitropic efficiency (corresponding to a tensile maturation strain).

5.2.2.3.1.4. Computation of bark efficiency

Bark efficiency is defined as the ratio of the mechanical stress induced in bark to the elastic modulus of wood. As demonstrated in Clair *et al.* (in prep.), it can be deduced from the change in curvature during debarking as:

$$\text{Bark efficiency} = \Delta C_B \frac{I_{\text{wood}}}{I_{\text{bark}}} R_{w+b}$$

I_{wood} and I_{bark} refer to the second moment of area of wood and bark respectively, with R_{w+b} the radius before debarking and R_{wood} the radius after debarking:

$$I_{\text{wood}} = \frac{\pi}{4} R_{\text{wood}}^4$$

$$I_{\text{bark}} = \frac{\pi}{4} (R_{w+b}^4 - R_{\text{wood}}^4)$$

Bark efficiency has units of strain and will be expressed in microstrains (10^{-6} m/m).

5.2.2.3.1.5. Computation of wood efficiency

The wood efficiency, i.e. the maturation strain of tension wood, is computed from the change in curvature of wood only (ΔC_W) using the model with step variation of material properties of Alméras *et al.* (in prep.). It was computed numerically using Microsoft Excel and Visual Basic. The strain of normal wood (α_{NW}) was considered to be -500 μ strains. Indeed, mean strain of normal wood of adult trees of previous studied trees was estimated at -723 μ strains (Clair *et al.* 2006) and -286 μ strains (Clair *et al.* in prep.). In this model, wood growth is considered eccentric and tension wood is characterized by its angular extension (β) and mechanical properties compared to normal wood. The ratio of modulus between tension wood and normal wood of tropical species varies between 0.8 and 1.5 (Alméras *et al.* 2005; Ruelle *et al.* 2007a). In this study it is considered to be 1, on account of the weak variation of the curvature for a ratio between 0.8 and 1.5 (Alméras *et al.* in prep.). Wood efficiency has units of strain and will be expressed in microstrains (10^{-6} m/m). It is generally negative, and a more negative value indicates that tension wood is more stretched.

5.2.2.3.1.6. Statistical analyses

Statistical analysis was performed using R. To compare species performance, homogeneity of the variance of studied parameters was checked with package *lawstat* and either an ANOVA or a Kruskal Wallis test was performed with package *stats*. Either Tukey test or Dunn test was used to perform multiple pairwise comparison. Student's t-Test was performed with package *stats* to test the difference with a theoretical mean. To compare the effect of the anatomical group on the variables, a nested ANOVA was performed with species nested as a random effect. Package *lsmeans* was used to perform multiple pairwise comparison.

5.2.2.3.2. Results

5.2.2.3.2.1. Tension wood anatomy and anatomical groups

All trees reacted by producing tension wood on the upper side of the section of the leaning axes. Tension wood was produced continuously from the beginning to the end of the experiment. Species were classified in three anatomical groups following the presence/absence of G-layer and the main trend in G-layer lignification: with unligified G-layers, with ligified G-layers or without G-layer (Figure 78). We did not include presence or absence of multi-layered G-layers (Ruelle *et al.* 2007c) in our classification of tension wood, as they were only present in two studied species: *He-*

vea guianensis and *Laetia procera*. These species have multi-layered G-layers respectively made of two or multiple sub-layers.

As the aim of this paper is to characterize the maturation strain of different anatomies of tension wood, we based our classification on the sections observed in this study. For instance, the seedlings of *Simarouba amara* of this study were sampled before their lignification and are therefore classified as “Unlignified G-layer” whereas it is known that in this specie tension wood often becomes lignified (Roussel & Clair 2015).

Tension wood lignification is not always a binary trait. In some species, both lignified and non-lignified G-layers can be observed on the same section. For instance, in *Protium opacum*, most G-layers are not lignified, although a few lignified G-layers are visible (see anatomical section of Figure 77). This species was classified as having unlignified G-layers. In most cases, the species could be easily classified based on the most represented type of G-layer. G-layers of *Laetia procera* are lately lignified. Half of the seedlings of this study were sampled after their lignification. The species was classified as “Lignified G-layer”.

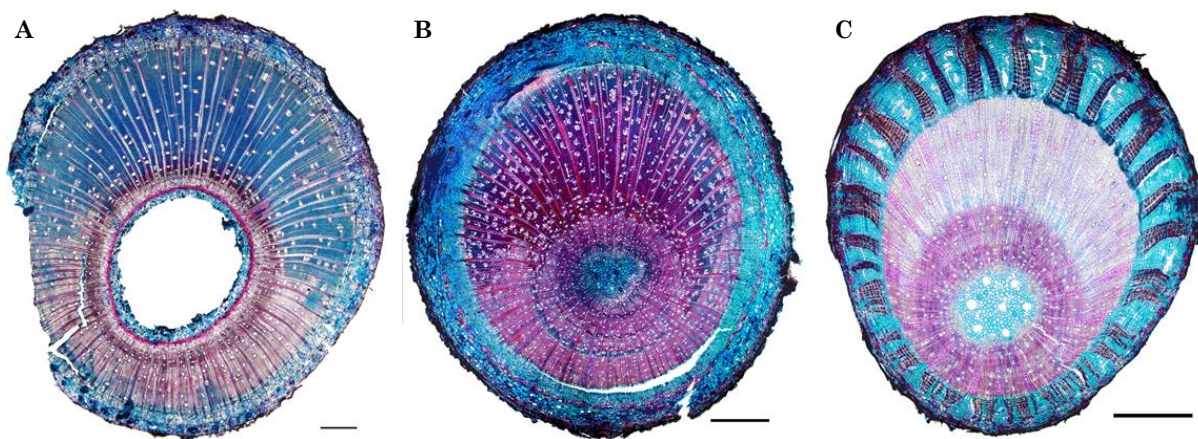


Figure 78. Anatomical groups of tension wood defined for this study. Unlignified G-layer in *Cecropia palmata* (A), Lignified G-layer in *Sextonia rubra* (B) and No G-layer in *Theobroma grandiflorum*. Scalebar = 1 mm.

5.2.2.3.2.2. Gravitropic efficiency

In all trees, stem growth generated mechanical stress in the tissues that induced an instantaneous upward change in curvature when releasing the stem from the stake. As a consequence, all measured values of the gravitropic efficiency are negative. The higher the magnitude of (i.e. the more negative) the gravitropic efficiency, the higher the ability of the tree to up-right. Analysis of variance revealed significant differences between species ($P < 0.001$; Figure 79). The mean value of gravitropic efficiency per species ranged between $-19311 \mu\text{strains}$ for *Lecythis persistens* and $-2376 \mu\text{strains}$ for *Cordia alliodora* (Table 12) for an overall mean of $-10054 \mu\text{strains}$. Highest magnitude of gravitropic efficiency is achieved by *Cecropia palmata*, *Macarolobium bifolium*, *Eperua grandiflora*, *Lecythis persistens*, *Laetia procera* and *Theobroma grandiflorum*. Lowest magnitude of gravitropic efficiency are observed on

Hevea guianensis, *Protium heptaphyllum*, *Guarea guidonia*, *Licania macrophylla* and *Cordia alliodora* (Figure 79).

Nested analysis of variance did not reveal any significant effect of anatomical groups on the gravitropic efficiency ($P>0.05$; Figure 80).

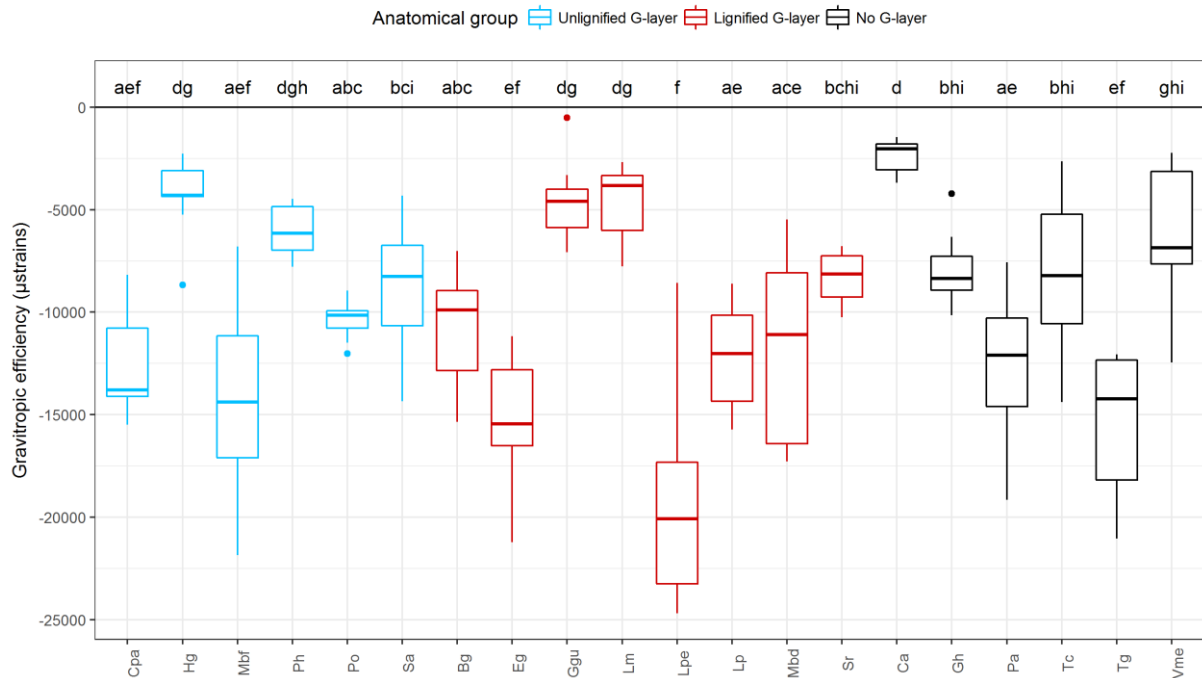


Figure 79. Inter-specific comparison of gravitropic efficiency. Result of Dunn test is indicated above boxplots, same letters indicate no significant difference of gravitropic efficiency between species. Abbreviations of species names are indicated as in Table 11. Colours represent anatomical group of tension wood of the species.

5.2.2.3.2.3. Bark efficiency

The sign of the change in curvature during debarking varied between species, being either negative, close to zero or positive. Mean value of bark efficiency per species varies from $-5332 \mu\text{strains}$ (*Pachira aquatica*) to $+5437 \mu\text{strains}$ (*Macrolobium bifolium*). To assess bark contribution to up-righting, the difference with a theoretical null mean is tested per species. A significant positive value indicates that bark impedes wood up-righting, a significant negative value means that bark is contributing to up-righting. A null value indicates bark is sufficiently strained to follow wood up-righting without impeding or improving it. Bark significantly impedes wood up-righting for *Cecropia palmata*, *Macrolobium bifolium*, *Lecythis persistens*, *Laetia procera*, *Manilkara bidentata* and *Sextonia rubra* (Table 12). Bark is significantly contributing to up-righting for *Cordia alliodora*, *Gossypium hirsutum*, *Pachira aquatica*, *Theobroma cacao*, *Theobroma grandiflorum* and *Virola michelii*. For the other species, bark was not significantly impeding or improving wood up-righting.

Table 12. Mean value per species of the gravitropic efficiency (Grav. eff.), bark efficiency (Bark eff.), maturation strain of tension wood (Wood eff.), wood eccentricity index (Wood ecc.) and bark eccentricity (Bark ecc.). Stars indicate the difference with a theoretical null mean (Grav. eff., Bark eff., Wood ecc. and Bark ecc.) or with a theoretical mean of -500 (Wood eff.). *: $P<0.05$; **: $P<0.01$; * $P<0.001$; NS: not significant.**

<i>Species</i> <i>units</i>	<i>Grav. eff.</i> (μ strains)	<i>Bark eff.</i> (μ strains)	<i>Wood eff.</i> (μ strains)	<i>Wood ecc.</i> (-)	<i>Bark ecc.</i> (-)
<i>Cecropia palmata</i>	-15127***	5086**	-7110***	0.59***	0.04 ^{NS}
<i>Hevea guianensis</i>	-4334***	-884 ^{NS}	-2040**	0.69***	0.14*
<i>Macarlobium bifolium</i>	-14070***	5437***	-9190***	0.44***	0.14**
<i>Protium heptaphyllum</i>	-6051***	511 ^{NS}	-3614***	0.48***	-0.07 ^{NS}
<i>Protium opacum</i>	-10334***	1595 ^{NS}	-5083**	0.67***	0.01 ^{NS}
<i>Simarouba amara</i>	-10330***	-13 ^{NS}	-5107***	0.83***	0.19***
<i>Bagassa guianensis</i>	-10769***	1833 ^{NS}	-5872**	0.50***	0.12**
<i>Eperua grandiflora</i>	-15215***	1676 ^{NS}	-7380***	0.68***	0.07 ^{NS}
<i>Guarea guidonia</i>	-4669***	453 ^{NS}	-2766***	0.33***	0.00 ^{NS}
<i>Licania macrophylla</i>	-4559***	253 ^{NS}	-2049***	0.73***	0.08 ^{NS}
<i>Lecythis persistens</i>	-19311***	1180**	-7625***	0.85***	0.13*
<i>Laetia procera</i>	-12182***	1554***	-5304***	0.78***	-0.01 ^{NS}
<i>Manilkara bidentata</i>	-11776***	375***	-3802***	0.68***	0.02 ^{NS}
<i>Sextonia rubra</i>	-8322***	284*	-3390***	0.55***	0.02 ^{NS}
<i>Cordia alliodora</i>	-2376***	-669**	-581 ^{NS}	0.94***	0.20***
<i>Gossypium hirsutum</i>	-7908***	-3689***	501 ^{NS}	0.83***	0.30***
<i>Pachira aquatica</i>	-13856***	-5332***	1368*	0.91***	0.21***
<i>Theobroma cacao</i>	-8191***	-34769***	510 ^{NS}	0.85***	0.26***
<i>Theobroma grandiflorum</i>	-15446***	-4528**	707*	0.90***	0.39***
<i>Virola michelii</i>	-6254***	-585*	-2212***	0.68***	0.27***

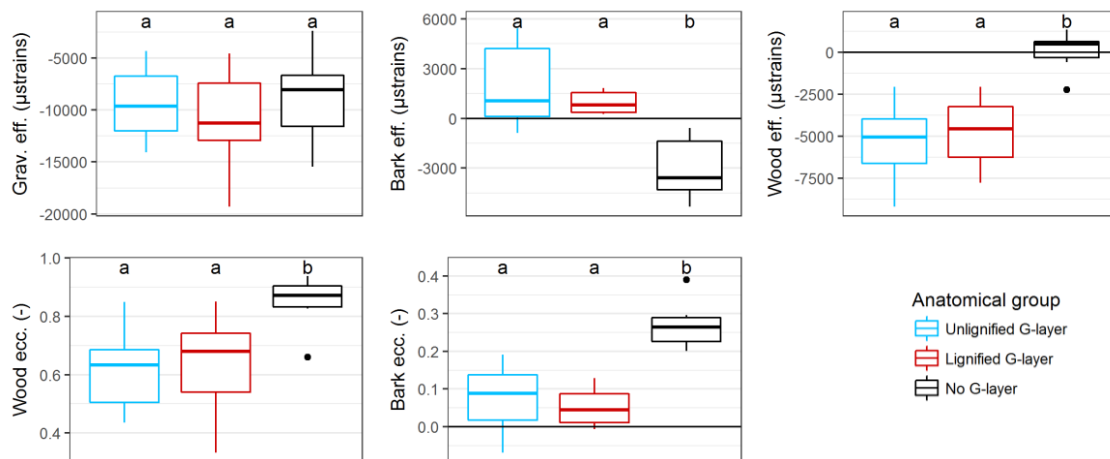


Figure 80. Anatomical groups comparison of the gravitropic efficiency (Grav. eff.), bark efficiency (Bark eff.), wood efficiency (Wood eff.), wood eccentricity (Wood ecc.) and bark eccentricity (Bark ecc.). Letters indicate results of post-hoc pairwise comparison test: same letters indicate there is no significant difference between anatomical groups.

Nested analysis of variance revealed a significant effect of anatomical group on bark efficiency ($P<0.001$). Post-hoc analysis indicated a significant difference between the

group without G-layer and groups with G-layer (Figure 80). Species with no G-layer clearly have a significantly more negative bark efficiency (-3394 μ strains) and have thereby a stronger contribution of their bark to the up-righting process. In species with G-layer, bark efficiency is generally positive, meaning that bark tends to impede the up-righting movement.

5.2.2.3.2.4. Wood efficiency (tension wood maturation strain)

Analysis of variance revealed significant differences in wood efficiency between species. Mean value of wood efficiency ranges between -9190 μ strains (*Macrolobium bifolium*) and +1368 μ strains (*Pachira aquatica*) for an overall mean of -3502 μ strains. Positive values of wood efficiency indicate that wood of the upper side is under compression stress within the tree. In the model for computing wood efficiency, the maturation strain of normal wood was fixed at -500 μ strains. The difference between tension wood maturation strain and this theoretical value is tested. Only *Pachira aquatica* and *Theobroma grandiflorum* have significantly less tension in tension wood compared to normal wood (Table 12). For *Cordia alliodora*, *Gossypium hirsutum* and *Theobroma cacao* difference in maturation strain between normal and tension wood was not significant. All other species have tension wood generating significantly more tensile stress in tension wood than in normal wood. Among G-layers species, *Laetia procera* does not seem to have stronger or lower wood efficiency due to multi-layered G-layers in its tension wood.

The anatomical group has a significant effect on the values of wood efficiency ($P < 0.001$; Figure 80). There is no significant difference between the wood efficiency of unligified and ligified G-layers. On the other hand, the anatomical group “no G-layer” has significantly lower magnitude of maturation strain of tension wood (+152 μ strains) than the “G-layer” anatomical groups (-5022 strains, i.e. 10 times the maturation strain of normal wood).

5.2.2.3.2.5. Wood and bark eccentricity

Wood eccentricity has a value of 1 if wood is produced on the tension side only, a value of 0 if the newly produced wood is equally distributed between tension and opposite woods, and a value of -1 if newly produced wood is exclusively produced in the opposite wood. For all trees, wood eccentricity is positive, i.e., all trees produced more wood on the tension side (Table 12). The mean value per species varies between 0.33 and 0.94, with a global mean of 0.69. This high eccentricity may be exaggerated by the solicitation: maintained tilted at 45° all along the experiment, trees are strongly reacting without reaching the vertical. There is a significant difference between species ($P < 0.001$), and between anatomical groups ($P < 0.05$; Figure 80). Wood eccentricity of unligified G-layer is not significantly different from ligified G-layer. Wood eccentricity of the anatomical group “No G-layer” is significantly higher (0.86) than the anatomical groups with G-layers (0.64).

Bark eccentricity has a value of 0 if both tension and opposite sides have a similar bark thickness. A positive value indicates that bark on the upper side is thicker than on the lower side. There are significant differences between species and the mean value per species varies between -0.07 and 0.39. None of the species have a

significant thicker bark on the opposite side. Some species have a significantly thicker bark on the tension side than on the opposite side: *Hevea guianensis*, *Macarobium bifolium*, *Simarouba amara*, *Bagassa guianensis*, *Lecythis persistens*, *Cordia alliodora*, *Gossypium hirsutum*, *Pachira aquatica*, *Theobroma cacao*, *Theobroma grandiflorum* and *Virola michelii*. For the other species, no significant difference was found between upper and lower bark thickness. The anatomical group “No G-layer” has a significantly higher bark eccentricity ($P < 0.001$; Figure 80).

5.2.2.3.3. Discussion

5.2.2.3.3.1. Diversity of gravitropic reactions

All tree reacted continuously to tilting during the experiment in response to the stimulus maintained constant all along the experiment. This experimental design allow for a continuously strong reaction, in contrast with trees freely recovering verticality which decreased production of tension wood when stabilising to a vertical position (Alméras *et al.* 2009). Magnitude of gravitropic efficiency is therefore expected to be higher than when measured on un-staked trees. Two species and one genus are in common with the experiment of Alméras *et al.* (2009). For two species, trees freely recovering from tilting reach indeed a lower magnitude of gravitropic efficiency than trees maintained tilted by the stake. *Eperua grandiflora* and *Cecropia obtusa* have gravitropic efficiency of respectively -8260 et -9720 μ strains in Alméras *et al.* (2009) whereas staked trees of *Eperua grandiflora* and *Cecropia palmata* reach values of -15215 and -15127 μ strains. *Virola michelii* has closer values of gravitropic efficiency when comparing the free up-righting and the staking methods (-8160 and -6254 μ strains respectively). Interestingly, *V. michelii* trees were characterised by the production of sprouts all along the growth. Here the lower reaction in our experiment may indicate that confronted to this extreme stress, *V. michelii* trees are searching an alternative way of reaction through the production of sprouts to replace the tilted stem. Sprouts production was also as observed for other species (among others *Cordia alliodora*, *Lecythis persistens* and *Theobroma grandiflorum*).

The difference in gravitropic efficiency between species within a group is higher than the difference between anatomical groups, which indicate a strong inter-specific variation. No significant difference of gravitropic efficiency was recorded between anatomical groups. Therefore, similar levels of gravitropic efficiency can be achieved either by strong wood efficiency (tension wood with G-layers, lignified or not) or by strong bark efficiency and large wood and bark eccentricity (tension wood without G-layers).

5.2.2.3.3.2. Lignin in the G-layer does not contribute to wood efficiency

Main trend in G-layer lignification does not allow to significantly distinguish groups based on their wood efficiency. In four species, we sampled trees with various levels of lignification. Even at the intra-specific level, no trend was observable between G-layer lignification and wood efficiency; trees with more lignified G-layers are not associated to a stronger or weaker wood efficiency compared to trees with more un-lignified G-layers (Figure 81).

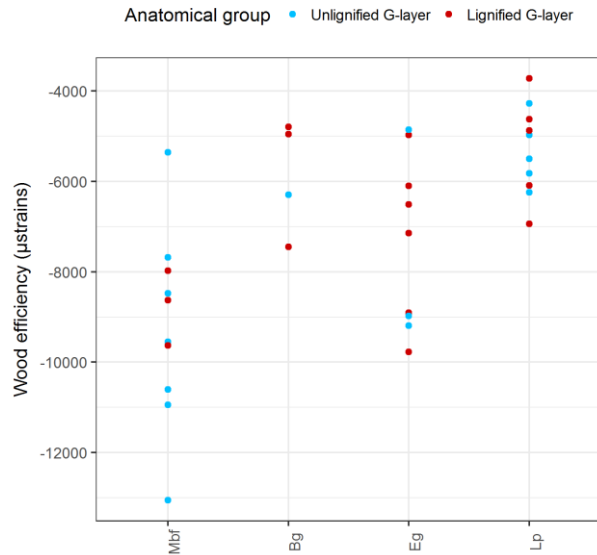


Figure 81. Wood efficiency of four species (*Macrolobium bifolium*, *Bagassa guianensis*, *Eperua grandiflora*, *Lactia procera*) with intra-specific variations of the main trend in G-layer lignification.

It therefore seems that lignin in the G-layer does not contribute to generation of maturation stress in tension wood. To be consistent with the current model of stress generation in the G-layer (Alméras & Clair 2016), lignin would therefore be deposited in the G-layer without creating either any swelling of the matrix or any interaction with the cellulose microfibril network. This could be, if lignin is deposited inside the mesopores without any change in the pore structure. This hypothesis is supported by the observation of mesoporous texture in G-layers during the maturation process of *Simarouba amara* tension wood fibres. Before lignification, mesoporosity is similar to mesoporous structure in unlignified G-layers of poplar, then the mesoporosity disappears with lignification (Chang 2014).

Lignin does not contribute significantly to generation of maturation stress in tension wood whereas it represents a higher carbon costs for the tree compared to unlignified G-layers. This opens the question of the function of lignin in tension wood. Several hypotheses can be formulated for this function. It is known that tension wood has lower strength than normal wood in poplar (Fang *et al.* 2008a) but does not significantly differ from normal wood in nine tropical species (Ruelle *et al.* 2007a). Lignification may be a way to build a wood with both the active contractile properties of tension wood, and the large strength of normal wood.

5.2.2.3.3. A continuous switch between bark efficiency and wood efficiency

Bark efficiency and wood efficiency are significantly correlated ($P < 0.001$, $R^2 = 63\%$; Figure 82). Species never associate strong wood efficiency with strong bark efficiency. Instead, a continuous switch between the mechanical function of wood and bark is observed. Bark efficiency increases with decreasing wood efficiency. In species of the anatomical groups with G-layers, bark often avoids impeding wood up-righting (its efficiency is close to zero).

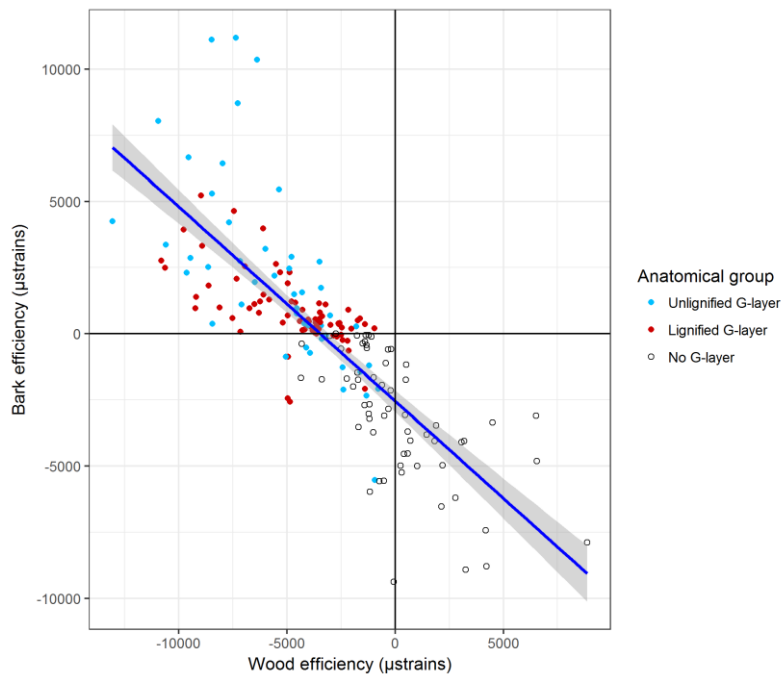


Figure 82. Regression between bark efficiency and wood efficiency.

5.2.2.3.3.4. Trade-off in mechanical functions of wood

The continuous switch between the mechanical function of wood and bark results from a trade-off in the mechanical function of wood between anatomical groups with G-layers and without G-layers. Up-righting mechanism in anatomical groups with G-layer is based on a strong longitudinal tensile stress generated in wood fibres, whereas in anatomical group without G-layers mechanism is based on the radial compression exerted by wood on bark (Clair *et al.* in prep.). In G-layer tension wood, the maturation process leading to longitudinal tensile stress also induces the generation of a tangential compressive stress in fibres (Clair *et al.* 2013). It is likely that wood maturation induces a similar compressive stress in radial direction. This radial stress seems to be sufficient to produce a low bark efficiency together with wood action in some species. However, this level of compression does not seem to be sufficient to produce large bark efficiency. In species without G-layers, a switch from main cell type is observed: fibres are replaced by turgescent elongated parenchyma cells, which probably induce higher radial compression than fibres with G-layers. In contrast with fibres, parenchyma cells are almost isotropic and radial compression may induce longitudinal compression as well, which would explain positives values of wood efficiency recorded. Ability to produce strong radial compressive stress and therefore to use bark as a motor of the up-righting may be related to the ratio between fibres and parenchyma. Additional information about the proportion of cell types would be interesting to clarify this question.

Among species without tension wood, the case of *Virola michelii* is special as this species has a significantly negative wood efficiency, whereas its wood is mainly made of parenchyma with low amount of fibres. The mechanism by which this kind of wood is able to generate tension remains enigmatic.

5.2.2.3.3.5. Terminology of tension wood

The term “tension wood” stands for the longitudinal mechanical state of wood typically produced on the upper side of leaning stems of angiosperm (Fournier *et al.* 2014). It is opposed to the term “compression wood”, referring to wood produced by gymnosperms on the lower side of a leaning axis, in a state of longitudinal compression. Here we see that we reached the limit of the terminology. Most of the studied species form wood under strong tensile stress on the upper side. But here we evidenced that in *Pachira aquatica* and some other species, the wood formed on the upper side of leaning young angiosperms may be in a mechanical state of longitudinal compression. This compressive stress is recorded in juvenile trees whereas adult trees evidenced a light tensile stress in wood, higher on the upper side than on the lower side (Clair *et al.* in prep.). Therefore, diversity of species makes old terminology no more sufficient. Wood produced on the upper side of this species in response to a gravitropic stimulus is in compression, and therefore cannot be termed “tension wood”. It would be more accurate to talk about reaction wood as it is, in most species, strongly modified compare to normal wood, but can act or under tension as tension wood or under compression to make the bark the muscle of tree.

5.2.2.4. Acknowledgements

The authors wish to thank Jonathan Prunier for measurements on additional trees. This work was supported by the French National Research Agency in the framework of the project “StressInTrees” (ANR-12-BS09-0004). BG benefits from an “Investissements d’Avenir” grant managed by French National Research Agency (CEBA, ANR-10-LABX-25-01).

5.2.3. Complément de l’article 6

En complément de l’article 6, l’angle d’extension du secteur du bois de tension a été mesuré sur les sections de l’ensemble des individus selon la Figure 83. La moyenne par espèce de l’angle d’extension du secteur du bois de tension varie entre 103° (*Simarouba amara*) et 157° (*Licania macrophylla*), pour une moyenne globale de 138 °. Les espèces ont des valeurs significativement différentes ($P < 0.001$), ainsi que les groupes anatomiques ($P < 0.05$; Figure 84). Le groupe anatomique « couche G non lignifiée » a un angle d’extension du secteur de bois de tension inférieur au groupe anatomique « couche G lignifiée ». L’angle d’extension du groupe anatomique « sans couche G » n’est pas significativement différent des autres groupes anatomiques. La raison de ces différences significatives entre groupes anatomiques n’est pas encore comprise.

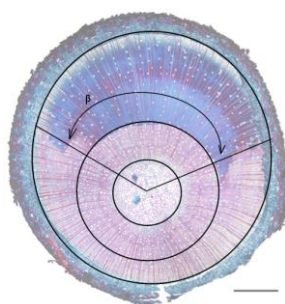


Figure 83. Représentation schématique de la mesure du paramètre de l'angle d'extension du secteur de bois de tension (β). Echelle = 1 mm.

Table 13. Valeurs moyennes par espèce de l'angle d'extension du secteur de bois de tension (Beta).

<i>Species</i> <i>units</i>	<i>Beta</i> (°)
<i>Cecropia palmata</i>	139
<i>Hevea guianensis</i>	135
<i>Macarlobium bifolium</i>	132
<i>Protium heptaphyllum</i>	118
<i>Protium opacum</i>	137
<i>Simarouba amara</i>	103
<i>Bagassa guianensis</i>	138
<i>Eperua grandiflora</i>	155
<i>Guarea guidonia</i>	150
<i>Licania macrophylla</i>	157
<i>Lecythis persistens</i>	133
<i>Laetia procera</i>	134
<i>Manilkara bidentata</i>	147
<i>Sextonia rubra</i>	149
<i>Cordia alliodora</i>	149
<i>Gossypium hirsutum</i>	124
<i>Pachira aquatica</i>	130
<i>Theobroma cacao</i>	136
<i>Theobroma grandiflorum</i>	151
<i>Virola michelii</i>	149

L'analyse paramétrique du modèle de variation par étape des propriétés du matériau (« step model » dans l'article 2) indique que dans le cas de tiges inclinées tuteurées, la variation de la courbure de la tige (ainsi que la contrainte de maturation du bois de tension) est moins sensible pour des angles d'extension du secteur de bois de tension d'environ 130°. Pourtant, les individus étudiés dépassent cette valeur théorique.

Une explication pourrait venir du gradient d'intensité observé dans le bois de tension. Dans les arbres adultes, les contraintes de maturation passent progressivement d'une tension faible du côté opposé à une tension élevée du côté tension (Ruelle *et al.* 2007a). Cette augmentation progressive des contraintes de maturation

est lié à l'augmentation de la proportion des fibres ayant des couches G et l'augmentation de l'épaisseur de la couche G (Fang *et al.* 2008a). Ainsi, les individus étudiés dépassent peut-être la valeur théorique de 130° afin qu'une valeur maximale de contrainte de maturation soit atteinte à un angle de 130°.

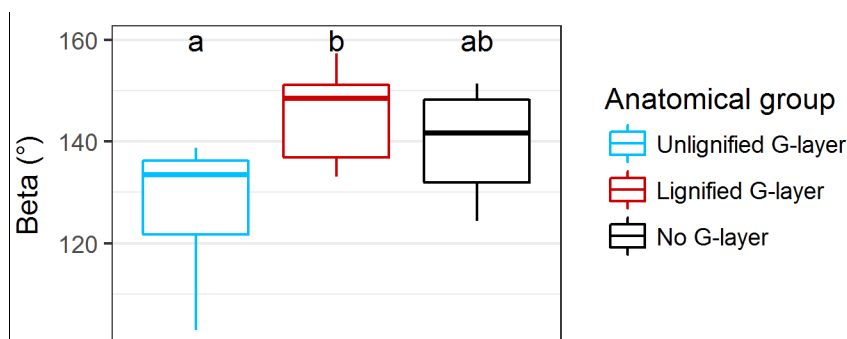


Figure 84 Comparaison entre les groupes anatomiques de la valeur de l'angle d'extension du secteur de bois de tension (β). Les lettres indiquent le résultat d'un test post-hoc de comparaison multiple : les mêmes lettres indiquent l'absence de différence significative entre deux groupes anatomiques.

5.3. Croissance et allocation de la biomasse

5.3.1. Dynamique de croissance et allocation de la biomasse chez les arbres inclinés sur 3 espèces à bois de tension contrastés³⁵

La croissance et l'allocation de biomasse est comparée entre des individus inclinés tuteurés et des individus droits de *Pachira aquatica*, *Simarouba amara* et *Sextonia rubra*. Ces trois espèces ont été choisies pour leur bois de tension contrastés : celui de *Pachira* n'a pas de couche G, celui de *Simarouba* a des couche G tardivement lignifié et celui de *Sextonia* était présenté par Chang et al. (2009) comme produisant des couche G non lignifiées (mais s'avère être partiellement lignifié sur nos observations). Dans ce point, une partie des résultats de croissance et d'allocation de biomasse sont présentés succinctement.

5.3.1.1. Matériel végétal

Les mesures ont été réalisées sur environ 56 arbres par espèce, répartis en deux traitements : la moitié des arbres sont inclinés tuteurés à 45° et l'autre moitié des arbres sont tuteurés droits en guise de témoin (163 individus au total). Les arbres ont au préalable été acclimatés tuteurés droits en serre pendant un mois. Les trai-

³⁵ Ce travail a été réalisé en collaboration avec Sabrina Coste (Ecophysiologiste à l'UMR EcoFoG). Il a bénéficié du soutien de Jocelyn Cazal et Jonathan Prunier et fait l'objet du stage de Grégory Faure (6 mois césure, Formation ingénieurs forestier AgroParisTech). Les résultats préliminaires de ce travail sont présentés ici succinctement et donneront lieu à la rédaction d'un article détaillé à soumettre à Tree Physiology.

tements sont appliqués pendant environ 14 semaines pour *Pachira aquatica* et environ 18 semaines pour *Simarouba amara* et *Sextonia rubra*. Les arbres étudiés ont des diamètres moyens initiaux de 8,5 mm, 3,9 mm et 3,6 mm et une hauteur de 72 cm, 26 cm et 21 cm pour respectivement *Pachira*, *Simarouba* et *Sextonia*.

Le point 2.3.4 donne le détail du matériel et méthodes de cette étude.

5.3.1.2. Suivi de croissance

Les diamètres (parallèle et perpendiculaire à l'inclinaison), la hauteur et de l'apparition de nouvelles feuilles sont mesurés tous les 15 jours. Les données sont ensuite transformées en indices de suivis de croissance. L'incrément en diamètre moyen de la tige (ou en hauteur) au temps t par rapport au temps initial i se calcule selon l'équation (1). L'indice d'ovalisation est le ratio du diamètre mesuré dans le sens de l'inclinaison (D_a) sur le diamètre mesuré perpendiculairement à l'inclinaison (D_b), comme l'indique l'équation (58). Un ratio de 1 indique que la tige est circulaire, et un ratio supérieur à 1 indique que la tige est ovalisée suivant la direction d'inclinaison. Hauteurs et diamètres moyen permettent de définir un indice d'élanement de la tige est calculé comme le rapport de la hauteur sur le diamètre moyen de la tige, selon l'équation (59). Le nombre d'apparition de nouvelles feuilles depuis le début de l'expérimentation est compté.

$$\text{Rel. increment diameter} = D_t - D_i \quad (57)$$

$$\text{Ovalisation index} = D_a/D_b \quad (58)$$

$$\text{Slenderness index} = H/D \quad (59)$$

La Figure 85 synthétise l'évolution de ces indices au cours du temps pour des individus inclinés tuteurés et des individus tuteurés droits de *Pachira aquatica*, *Simarouba amara* et *Sextonia rubra*.

Les trois espèces augmentent significativement leur diamètre moyen suite à l'inclinaison artificielle, avec une évolution régulière au cours du temps. Les différences entre les valeurs d'incrément de diamètre des espèces sont probablement dues aux valeurs initiales de diamètre moyen de chaque espèce. L'indice de circularité montre que le diamètre dans le sens de l'inclinaison (D_a) est significativement supérieur au diamètre perpendiculaire (D_b) pour *Pachira* et *Simarouba*. Au contraire l'indice d'ovalisation oscille autour de 1 pour *Sextonia*, ce qui indique que sa tige reste circulaire et ce, même sur les individus inclinés. *Pachira* a une évolution rapide de l'indice d'ovalisation, qui atteint une valeur de 1.10 après 2 semaines et demi d'inclinaison et semble se stabilise ensuite à environ 1.14. L'évolution de l'indice d'ovalisation est plus régulière pour *Simarouba* qui met environ 6 semaines d'inclinaison pour atteindre une valeur de 1.10. La croissance en hauteur est drastiquement diminuée sur les individus inclinés par rapport aux individus droits de *Pachira*, modérément réduite chez *Simarouba* et non significativement différente chez *Sextonia*. Malgré la forte diminution de croissance en hauteur des individus

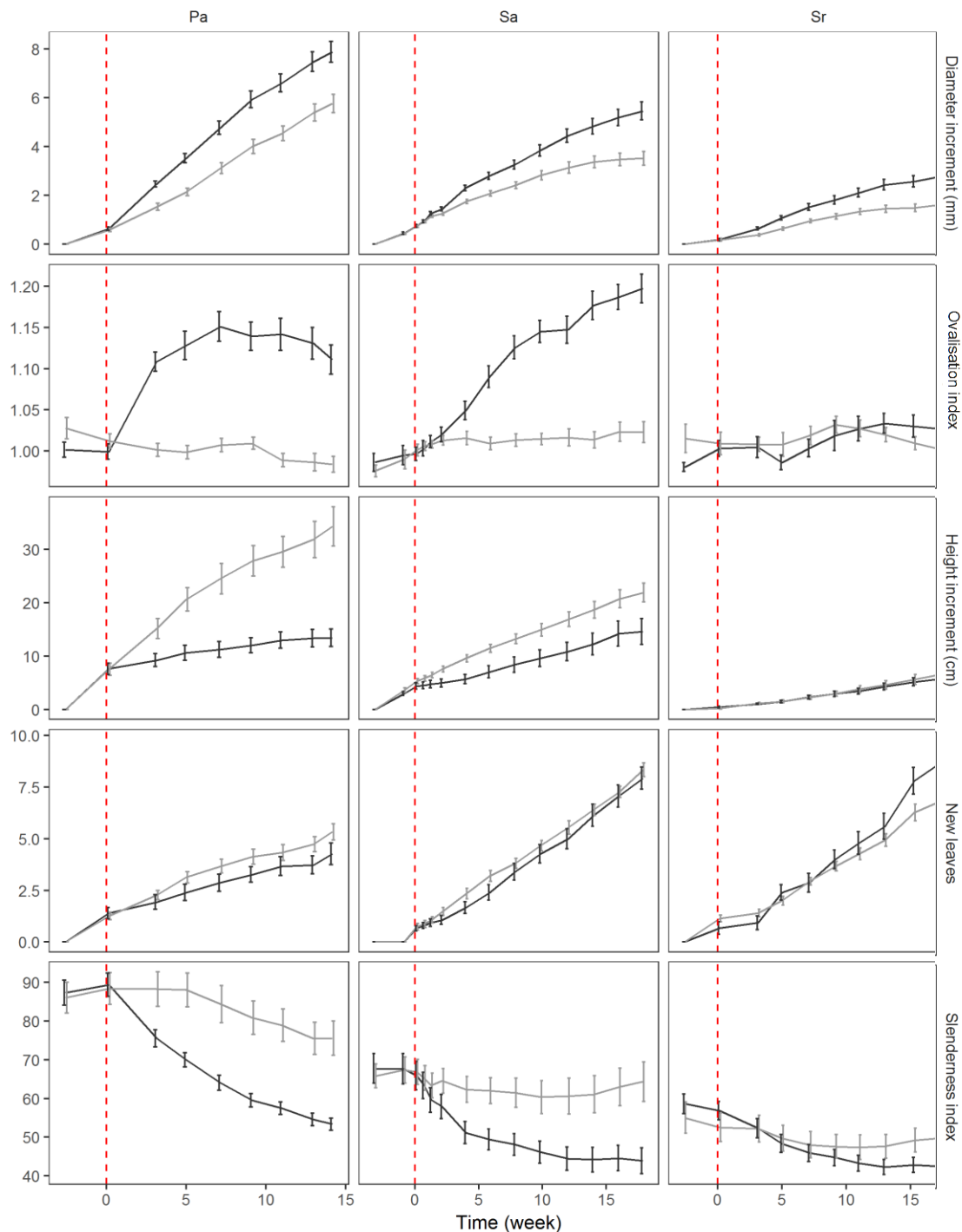


Figure 85. Evolution de l'incrément moyen en diamètre moyen de la tige depuis la première mesure (Diameter increment), de l'index d'ovalisation moyen de la section (Ovalisation index), de l'incrément moyen en hauteur moyenne de la tige depuis la première mesure (Height increment), nombre moyen de nouvelles feuilles apparues (New leaves) et de l'indice d'élancement moyen de la tige (Slenderness index) en fonction du temps d'inclinaison pour *Pachira aquatica* (Pa), *Simarouba amara* (Sa) et *Sextonia rubra* (Sr). La droite en pointillé indique le jour de l'inclinaison. Les individus tuteurés droit sont représentés en gris et les inclinés tuteurés en noir. L'erreur type est indiquée.

inclinés de *Pachira*, le nombre de nouvelles feuilles mises en place semble peu affecté. En effet, *Pachira* semble réduire la taille des entre-nœuds produits, sans affecter le nombre de feuilles de chaque entre-nœud. L'inclinaison n'affecte pas le nombre de nouvelles feuilles mises en place chez *Simarouba*. Chez *Sextonia*, il semble que le nombre de nouvelles feuilles mises en place augmente légèrement à partir de la

15^{ème} semaine chez les individus inclinés par rapport aux individus maintenus droits. Les arbres de *Pachira* mettent en moyenne moins de feuilles en place que *Simarouba* et *Sextonia*. Les feuilles semblent en effet plus durables. L'augmentation du diamètre moyen et la diminution de la hauteur moyenne des individus inclinés de *Pachira* et *Sextonia* induisent une diminution de l'élanement de la tige. La diminution de l'élanement de la tige des individus inclinés est moins marquée sur *Sextonia*, dont le diamètre seul est affecté par l'inclinaison de la tige.

5.3.1.3. Allocation de biomasse

5.3.1.3.1. Biomasse des feuilles, tige et racines

Les résultats de masses séchées à 103 °C des racines, tiges, feuilles mises en place avant le jour de l'inclinaison et celles mises en place après le jour de l'inclinaison sont représentés à la Figure 86. Sur *Pachira*, seules la quantité de feuilles mises en place après le jour de l'inclinaison est significativement différente entre les individus inclinés et sur les individus droits. Cette différence reflète probablement la

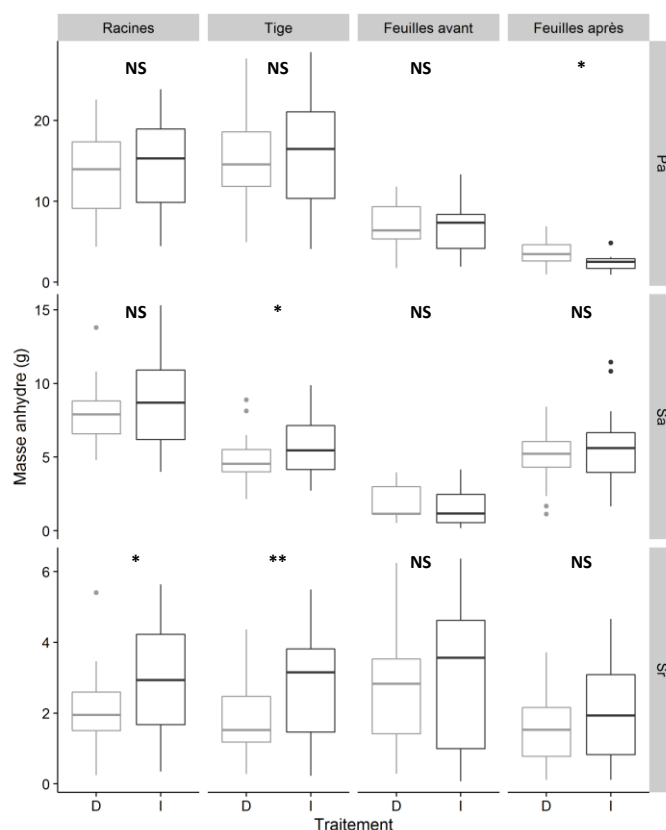


Figure 86. Comparaison des masses sèches à 103°C des racines, de la tige, des feuilles mises en place avant le jour de l'inclinaison (Feuilles avant) et des feuilles mises en place après le jour de l'inclinaison (Feuilles après) pour les individus droits (D) et inclinés (I) de *Pachira aquatica* (Pa), *Simarouba amara* (Sa) et *Sextonia rubra* (Sr). La p-value du test t de Student de comparaison des moyennes entre les individus droits et inclinés est indiquée comme suit : NS, P > 0,05 ; *, P < 0,05 ; **, P < 0,01 ; ***, P < 0,001.

légère diminution du nombre de nouvelles feuilles mises en place chez les individus inclinés. Chez *Simarouba*, seule la masse de la tige est significativement différente entre les individus inclinés et les droits. Chez *Sextonia*, la masse de la tige et des

racines est significativement supérieure sur les individus inclinés par rapport aux individus droits.

Aucune espèce ne semble faire un compromis entre la biomasse des racines et la biomasse de la tige chez les individus inclinés. Ceci peut être dû au tuteurage de la tige, qui empêche la sollicitation des racines. En effet pour une même biomasse totale, la biomasse est préférentiellement allouée aux racines chez les individus dont la tige est mécaniquement stimulée par rapport à des individus témoin, tous deux à l'abri du vent (Coutand *et al.* 2008).

La biomasse totale des individus inclinés n'est pas significativement différente des individus droits chez *Pachira* ($P=0.81$) et *Sextonia* ($P=0.052$) et est significativement supérieure chez *Simarouba amara* (Figure 87).

5.3.1.3.2. Répartition de matière entre le bois et l'écorce

L'infradensité du bois et de l'écorce est mesurée sur l'ensemble du bois ou de l'écorce d'un segment de tige, sans séparer le côté tension du côté opposé dans le cas des individus inclinés. La Figure 88 représente ces résultats.

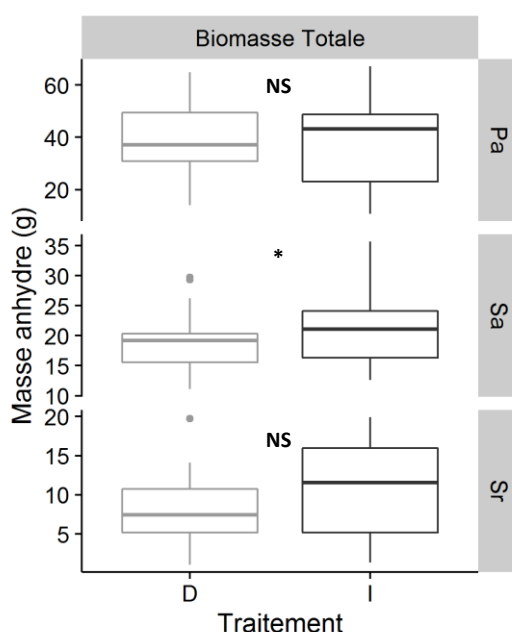


Figure 87. Comparaison des masse sèches à 103° de l'ensemble de l'arbre chez les individus droits (D) et les individus inclinés (I) de *Pachira aquatica* (Pa), *Simarouba amara* (Sa) et *Sextonia rubra* (Sr). La p-value du test t de Student de comparaison des moyennes entre les individus droits et inclinés est indiquée comme suit : NS, $P>0,05$; *, $P<0,05$; **, $P<0,01$; ***, $P<0,001$.

L'infradensité du bois est significativement moins élevée sur les individus inclinés par rapport aux individus droits de *Pachira*, tandis que l'inverse est observé sur *Simarouba*. Chez *Sextonia*, aucune différence significative n'est observée sur l'infradensité du bois entre les individus inclinés et les individus droits.

L'infradensité de l'écorce est significativement moins élevée sur les individus inclinés par rapport aux individus droits chez *Simarouba* et *Sextonia*.

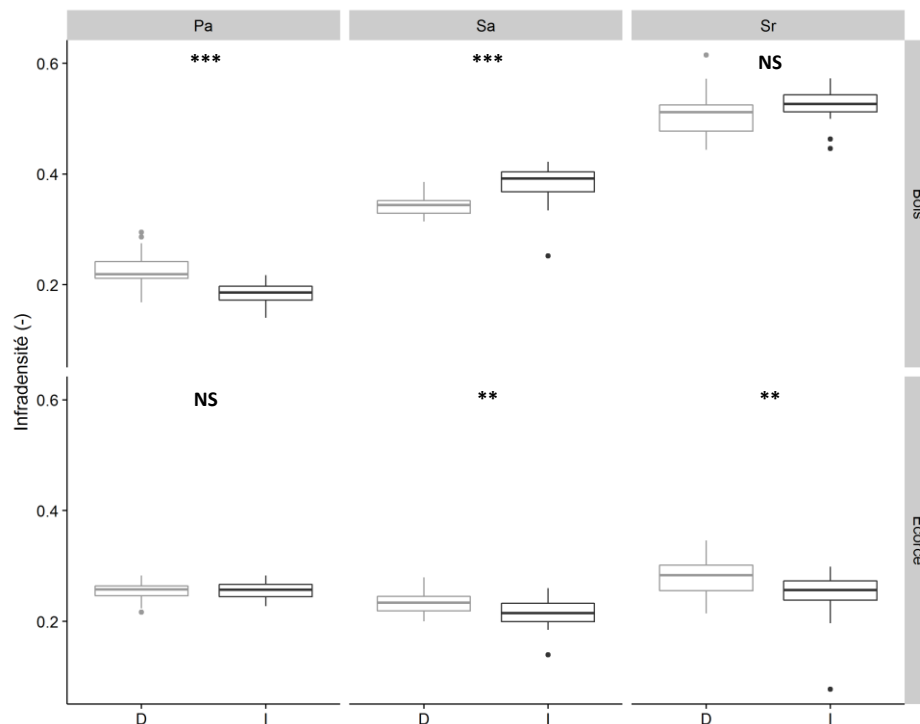


Figure 88. Comparaison de l'infradensité du bois et de l'écorce pour les individus droits (D) et inclinés (I) de *Pachira aquatica* (Pa), *Simarouba amara* (Sa) et *Sextonia rubra* (Sr). La p-value du test t de Student de comparaison des moyennes entre les individus droits et inclinés est indiquée comme suit : NS, $P > 0,05$; *, $P < 0,05$; **, $P < 0,01$; ***, $P < 0,001$.

Des mesures de l'épaisseur d'écorce du côté opposé et du côté tension montrent que les épaisseurs d'écorce ne sont pas significativement différent entre le côté opposé et le côté tension des individus inclinés de *Simarouba* et *Sextonia*. En revanche, les individus inclinés de *Pachira* ont une épaisseur d'écorce significativement plus élevée du côté tension que du côté opposé.

5.3.1.4. Conclusions sur la dynamique de croissance et l'allocation de biomasse de *Pachira*, *Simarouba* et *Sextonia*

Pachira a un bois de tension sans couche G et mécanisme de redressement basé sur l'écorce. Pour cela, il met en place un bois moins dense et une épaisseur d'écorce plus élevée du côté tension chez les arbres inclinés. La hauteur est diminuée et la croissance excentrique est favorisée peu de temps après l'inclinaison. D'ailleurs la faible densité du bois des individus inclinés leur permet sans doute cette augmentation rapide en diamètre dans le sens de l'inclinaison (D_a). La biomasse de la tige reste constante grâce à la compensation de l'augmentation du diamètre par une diminution de la hauteur et une diminution de la densité du bois. L'infradensité de l'écorce reste constante malgré l'augmentation de l'épaisseur du côté tension. Ce résultat sera discuté au point 5.3.2. Le redressement des jeunes *Pachira* se fait donc sans surcrot global pour les individus inclinés.

Simarouba et *Sextonia* ont des couches G dans leur bois de tension, ils ont néanmoins deux dynamiques de redressement différentes. *Simarouba* privilégie l'ovalisation de sa tige et une certaine diminution de la hauteur, contrairement à *Sextonia*. Le bois de *Simarouba* est plus dense chez les individus inclinés dû à la présence de couche G lignifiées. Au contraire le bois de *Sextonia* n'est pas significativement plus dense chez les arbres inclinés, malgré la présence de couche G. Le redressement des jeunes *Simarouba* demande une augmentation de la biomasse par rapport aux individus droits, contrairement à *Sextonia* (dont la p-value est néanmoins proche de la valeur seuil de 5%).

5.3.2. Infradensité du bois et de l'écorce côté tendu et opposé

L'infradensité de l'écorce et du bois côté tendu et opposé est mesuré sur 27 individus de 6 espèces. Dans la mesure d'infradensité le volume est mesuré par une double pesée d'Archimède. Cette méthode est couramment utilisée pour le bois, dont la saturation en eau varie peu. En revanche, nous avons réalisé a posteriori que l'écorce peut avoir un comportement bien différent de celui du bois. Les mesures d'infradensité de l'écorce sont donc à prendre avec précaution car selon l'heure dans la journée, le temps d'attente avant la mesure, etc, l'écorce pourrait être plus ou moins saturée en eau, ce qui influencerait sur la mesure de volume et par conséquent sur son infradensité. Une étude métrologique de la mesure d'infradensité de l'écorce est en cours de réalisation par J. Prunier.

La Figure 89 compare le ratio d'infradensité côté tension sur côté opposé du bois avec celui de l'écorce. Le mécanisme « sans couche G » se distingue par son ratio de densité bois de tension sur bois opposé, qui est largement en dessous de 1, comparé au mécanisme « couche G » qui est supérieur à 1, voire aux alentours de 1. L'augmentation de la taille des parenchymes chez *Pachira aquatica* et l'augmentation de la taille du lumen chez *Virola michelii* diminuent, parfois même drastiquement (ratio jusqu'à 0,4), la densité du bois de tension. Tandis que les bois de tension à couches G (lignifiées ou non) ont tendance à être plus denses que les bois opposés, par la présence de couches G (lignifiées ou non) qui augmentent souvent l'épaisseur de paroi, et potentiellement d'autres changements dans l'anatomie comme la diminution en fréquence des vaisseaux.

Pour le mécanisme « sans couche G », l'écorce opposée est plus dense que l'écorce de tension (ratio <1). En effet, les flammes de fibres du phloème de *Pachira aquatica* sont plus resserrées dans le côté opposé que dans le côté tension, où des parenchymes dilatés sont présents en plus grand nombre. Ainsi, l'infradensité de la totalité de l'écorce d'individus droits reste égale à celle des individus inclinés par une compensation entre côté opposé et côté tendu des proportions de parenchymes et de fibres dans le phloème (voir point 5.3.1.4). Pour le mécanisme couche G, certaines écorces sont plus denses et d'autres moins denses du côté opposé que du côté tension. En particulier, *Simarouba amara* et *Cecropia palmata*, dont l'anatomie d'écorce présente également quelques « flammes », bien que moins nettes que celles

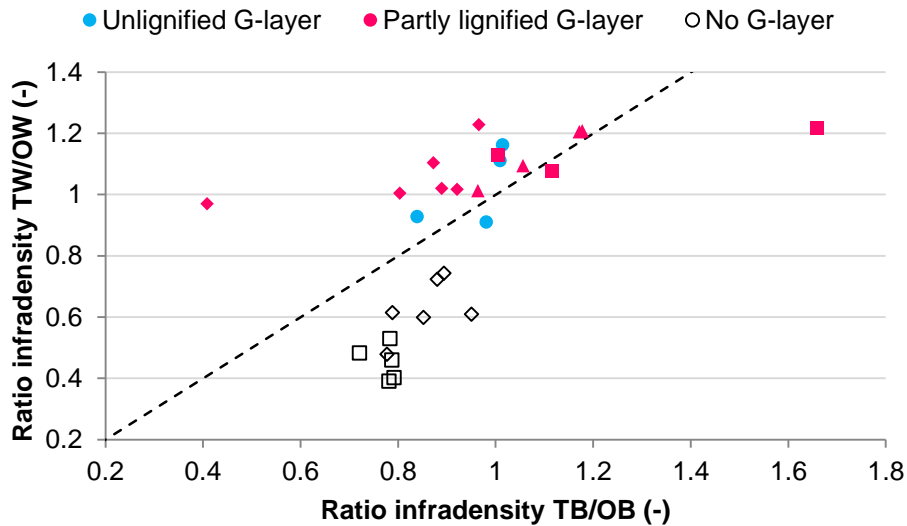


Figure 89. Ratios d'infradensité de bois de tension sur bois opposé (TW/OW) et de l'écorce du côté tension sur l'écorce du côté opposé (TB/OB) chez *Pachira aquatica* (carré noir), *Virola michelii* (losange noir), *Cecropia palmata* (cercle bleu), *Banara guianensis* (carré rose), *Laetia procera* (triangle rose) et *Simarouba amara* (losange rose) inclinés et tuteurés en serre. La droite $x=y$ est représentée en trait noir.

des espèces « sans couche G », ont l'écorce du côté tension moins dense que l'écorce du côté opposé, à l'image des espèces « sans couche G ».

La Figure 90 montre le ratio d'infradensité écorce sur bois du côté tension avec celui du côté opposé. Dans le mécanisme « sans couche G », on distingue à présent les *Pachira aquatica* des *Virola melinonii*. Dans le côté opposé, qui se rapproche de conditions normales de développement du bois et de l'écorce, *Pachira aquatica* tend déjà à allouer au moins autant voire plus de densité à son écorce qu'à son bois (ratio ≥ 1). A l'opposé, l'écorce de *Virola michelii* ne vaut que la moitié de la densité de son bois. L'écorce de *V. michelii* ne possède en effet pas de fibres à parois épaisses dans le phloème, du moins au stade juvénile, contrairement à *Pachira aquatica*.

Dans le côté tension, l'écorce de *Pachira aquatica* est bien plus dense que le bois du côté tension (ratio $\gg 1$) contrairement à *Virola michelii*. Les deux espèces ont néanmoins un ratio écorce sur bois plus élevé du côté tension que du côté opposé, à l'opposé des espèces du mécanisme « couche G » pour lequel le ratio reste identique voire diminue légèrement. L'arbre défavorise l'allocation vers le bois en faveur de l'écorce du côté tension par rapport au côté opposé chez ces deux espèces.

Le mécanisme « couche G » se trouve proche de la droite $x=y$. Peu importe le côté étudié, le ratio écorce sur bois est inférieur 1, le bois reste d'infradensité supérieure à l'écorce, excepté pour le côté opposé d'un individu de *Simarouba amara*. L'allocation entre le bois et l'écorce reste constante entre le côté opposé et tendu pour les espèces à couche G.

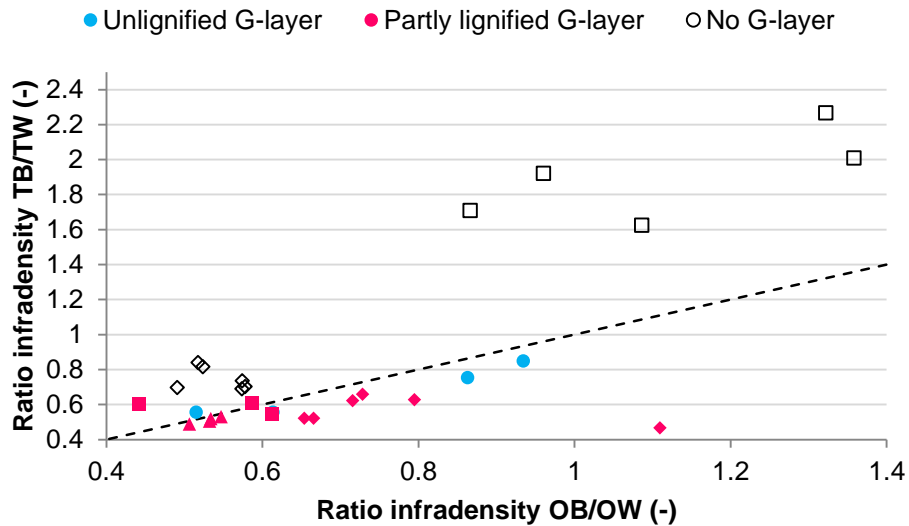


Figure 90. Ratios écorce sur bois de l'infradensité du côté tension (TB/TW) et du côté opposé (OB/OW) chez *Pa-chira aquatica* (carré noir), *Virola michelii* (losange noir), *Cecropia palmata* (cercle bleu), *Banara guianensis* (carré rose), *Laetia procera* (triangle rose) et *Simarouba amara* (losange rose) inclinés et tuteurés en serre. La droite $x=y$ est représentée en trait noir.

En conclusion, l'infradensité de l'écorce et du bois côté tension et côté opposé semble être un bon indicateur du mécanisme de génération de la tension (« sans couche G » comparé à « couche G ») chez des jeunes arbres. L'écorce et le bois mis en place dans le côté tension sont plus légers que ceux mis en place dans le côté opposé chez les espèces sans couches G. Contrairement aux espèces à couche G, les espèces sans couche G sont capables de modifier leur allocation entre le bois écorce en fonction du côté opposé ou tendu.

Les données d'infradensité n'ont pas permis de distinguer les différentes anatomies au sein des espèces à couche G. Néanmoins, les éprouvettes millimétriques (parfois sub-millimétriques) utilisées pour la mesure de densité ont été prélevées proche cambium. On peut imaginer que les couches G ne soient pas encore lignifiées à l'endroit du prélèvement pour *Banara guianensis*, *Laetia procera* et *Simarouba*. Ces 3 espèces ont en effet une lignification tardive de leur couche G. Il faudrait des espèces dont la couche G se lignifie proche du cambium pour vérifier l'effet de la lignification de la couche G sur l'infradensité.

Le bois de tension comme moteur dans l'arbre

La majorité des espèces contiennent de la lignine dans les couches G du bois de tension. Pourtant, les coûts de construction associés aux couches G lignifiées semblent supérieurs à ceux associés aux couches G non lignifiées. Les 3 hypothèses pour le maintien de lignine dans la couche G, présentées brièvement dans l'article 6 et étayées dans ce paragraphe, se basent par conséquent sur un éventuel rôle fonctionnel de la lignine pour le bois de tension. Dans la première hypothèse, la lignine permettrait d'améliorer la fonction motrice du bois de tension. En effet, un gonflement de la lignine au cours de la maturation cellulaire dans les mésopores de la matrice gélatineuse de la couche G aurait permis une augmentation de la tension générée. Pour certaines espèces, la lignine est déposée longtemps après l'épaississement de la paroi, auquel cas l'effet de la lignine sur les contraintes de tension générées est moins évidente. Nos résultats sur 6 espèces ayant des couches G peu ou pas lignifiées et 8 espèces ayant des couches G moyennement à complètement lignifiées de l'article 6 indiquent que la lignine dans la couche G n'a pas d'effet significatif sur les contraintes de maturation du bois de tension. Cette hypothèse semble compromise. Dans une deuxième hypothèse, le dépôt de lignine dans la couche G permettrait d'améliorer la fonction squelettique du bois de tension. Notamment, la résistance à la compression est diminuée dans le bois de tension ayant des couches G non lignifiées par rapport au bois normal (Fang *et al.* 2008b). Sur des espèces tropicales la résistance à la compression du bois de tension est inférieure ou non significativement différente du bois normal (Ruelle *et al.* 2007a, 2011) sans qu'un effet évident de la présence de lignine dans la couche G puisse être mis en avant. Pour vérifier cette hypothèse, des essais de résistance à la compression couplés à des coupes anatomiques sont nécessaires. Dans l'idéal, les échantillons devraient provenir d'une espèce dont la présence de lignine est variable dans le bois de tension. Dans une troisième hypothèse, la présence de lignine dans la couche G varie en réaction à un facteur environnemental. Ni les peupliers élevés en Guyane ni les essais de haubanages en conditions d'engorgement du sol ne supportent cette hypothèse. Il faudrait néanmoins sélectionner les espèces qui présentent des anatomies contrastées au stade juvénile, comme *Goupia glabra*, et comparer l'anatomie de bois de tension de ces espèces en variant les conditions environnementales (taux de sécheresse, température, durée de l'ensoleillement, etc).

Dans ces 3 hypothèses, la présence de lignine dans la couche G permettrait de remplir une fonction pour l'arbre. Dans une quatrième hypothèse, une pression évolutive aurait permis de garder la lignine dans la couche G grâce à ses éventuelles fonctions pour l'arbre. L'évolution des conduits de trachéides jusqu'aux vaisseaux (Sperry 2003) découple la fonction mécanique de la fonction de conduction, qui sont dès lors assurées par des types cellulaires distincts. A l'origine, la lignine a proba-

blement permis d'augmenter le diamètre des trachéides grâce à sa rigidité (Sperry 2003). Lors de l'évolution des vaisseaux et des fibres et l'apparition de bois de tension, les parois sont probablement restées entièrement lignifiées. Des études phylogéniques devraient compléter cette hypothèse, afin de voir si la perte de lignification de la couche G est liée à un signal phylogénétique. Plus particulièrement, il serait intéressant de regarder si un éventuel soulagement de la pression évolutive dans les climats tempérés aurait permis une convergence vers des couches G non lignifiées, en comparaison avec des espèces tropicales.

Outre la question de l'intérêt de la lignine dans la couche G pour l'arbre, les processus de lignification de la couche G semblent diversifiés. Certaines espèces lignifient au cours de la maturation cellulaire et d'autres après l'épaississement de la paroi. L'étude de ces bois de tension pourrait permettre de mieux comprendre le processus de lignification dans le bois depuis le dépôt de monomères dans la paroi jusqu'à la polymérisation des lignines. De plus, la coloration en safranine semble indiquer une différence de qualité (ou une différente accessibilité pour le colorant) des lignines entre les couches S_1 et S_2 et la couche G lignifiée. La caractérisation des lignines présentes dans la couche G aiderait à comprendre son éventuel rôle fonctionnel. Ces questions seront peut-être traitées dans le cadre d'un éventuel Post-doc (JSPS Standard Program) avec le laboratoire « Tree Cell Laboratory » de l'université de Kyoto.

Par ailleurs, la présence de fines couches lignifiées et similaires à des couches S_3 au sein des couches G multicouche pourrait potentiellement être intéressante pour la compréhension de la dynamique de mise en tension de la couche G. Sur le peuplier, le gonflement de la matrice au cours de la maturation cellulaire génère une tension au sein des microfibrilles de cellulose de la couche G (Clair *et al.* 2011; Chang *et al.* 2015). Si la biochimie du mécanisme de mise en tension est de mieux en mieux comprise (Guedes *et al.* 2017), la dynamique de la mise en tension reste peu comprise. Le dépôt de microfibrilles de cellulose dans la paroi de la couche G est-il synchrone à leur mise en tension par gonflement de la matrice ? Ou les microfibrilles de cellulose sont-elles déposées dans un premier temps et un signal biochimique viendrait provoquer le gonflement de la matrice dans un deuxième temps. Les fines couches lignifiées au sein des couches G multicouches forment des marqueurs naturels au sein de la couche G. L'observation au cours de la maturation cellulaire de l'épaisseur des sous-couches de couche G multicouches sur des coupes en inclusion résine devrait permettre de distinguer un éventuel décalage entre la déposition de la paroi de la couche G et son gonflement.

Concernant les espèces dont le bois de tension ne contient pas de couches G, les résultats de cette thèse semblent indiquer que le mécanisme de redressement pourrait évoluer au cours de l'ontogénie. Le mécanisme basé sur l'écorce est-il efficace sur des individus adultes ? Avec la diminution de la proportion d'écorce par rapport au bois entre les individus juvéniles et les individus adultes, ce mécanisme est-il capable de générer une contrainte suffisante de tension ? Les mesures de contraintes de maturation sur arbres adultes indiquent que le bois de tension génère une contrainte de tension supérieure au bois opposé. Ce mécanisme devrait être étudié sur différents stades ontogéniques afin de creuser cette question. Des obser-

vations en FE-SEM de l'angle des microfibrilles de cellulose des fibres de bois de tension et des mesures de porosité en proche cambium devraient confirmer l'absence de couche G dans ces espèces.

L'écorce a un rôle non négligeable dans le redressement des arbres de certaines espèces, notamment chez les espèces dont le bois de tension n'a pas de couches G. L'anatomie de l'écorce semble être un indicateur de sa contribution au redressement des arbres. La présence de fibres épaisses agencées en flammes est observée chez la plupart des espèces sans couches G, mais semble également présente sur certaines espèces ayant des couches G (notamment *Inga gracilifolia* et *Liriodendron tulipifera*). Nos résultats sur 20 espèces de l'article 6 indiquent que des bois efficaces ne sont pas associés à des écorces efficaces, mais qu'il existe un continuum entre l'efficacité de redressement du bois et celle de l'écorce. Des espèces comme *Inga gracilifolia* seraient-elles capables de combiner un bois efficace à une écorce efficace ? En outre, d'autres types cellulaires du phloème peuvent être agencés en flammes dans de nombreuses espèces. Il semblerait que ces écorces soient capables d'accompagner suffisamment le redressement du bois de manière à éviter de diminuer l'action de redressement du bois. La répartition de ces types anatomiques et plus globalement la diversité des mécanismes impliqués dans la fonction motrice de l'écorce fera l'objet d'un projet « MechaBark », financé par le CEBA et le laboratoire NUMEV, qui s'inscrit dans la suite de cette thèse. D'éventuelles études phylogéniques permettraient de comprendre l'évolution entre le rôle mécanique de l'écorce et celui du bois. Des fossiles présentant une écorce similaire à celle de *Pachira aquatica* datent du début du carbonifère (Decombeix *et al.* 2014).

Le bois de tension comme défaut du matériau bois

Les études sur le bois de tension se sont focalisées sur les espèces ayant des couches G non lignifiées dans leur bois de tension, comme le peuplier. Les couches G non lignifiées sont en effet facilement identifiables au moyen de doubles colorants comme la safranine et le bleu Astra. Le bois de tension de ces espèces, dont le peuplier fait partie, sont en outre connus pour être la cause de différents défauts lors de l'usinage de bois. Le bois de tension du peuplier est entre-autres connu pour son aspect pelucheux en surface, l'augmentation du module d'élasticité et du retrait au séchage par rapport au bois normal (Wimmer & Johansson 2014). La présence de lignine dans la couche G pourrait diminuer la gravité de ces défauts liés à l'usinage des bois. Les anatomies contrastées entre bois normal et bois de tension chez les individus juvéniles des espèces dont le bois de tension ne contient pas de couches G mènent probablement à des défauts du bois, probablement différents des bois de tension ayant des couches G. Des études sur les propriétés mécaniques de bois de tension avec et sans couche G, et avec ou sans lignine dans la couche G devraient permettre de caractériser les défauts du bois associés aux différents groupes anatomiques de bois de tension. Les systèmes de classement des bois selon leurs propriétés mécaniques pourraient intégrer ces données et nuancer les défauts associés au bois de tension des espèces en fonction de leur anatomie.

BIBLIOGRAPHIE

- Abedini R, Clair B, Pourtahmasi K, Laurans F & Arnould O. 2015. Cell wall thickening in developing tension wood of artificially bent poplar trees. *IAWA J.* 36: 44–57.
- Alford MH. 2005. Systematic studies in Flacourtiaceae. Dissertation, Cornell University, Ithaca, New York, 290 pp.
- Alméras T & Clair B. 2016. Critical review on the mechanisms of maturation stress generation in trees. *J. R. Soc. Interface.* 13: 20160550.
- Alméras T, Derycke M, Jaouen G, Beauchene J & Fournier M. 2009. Functional diversity in gravitropic reaction among tropical seedlings in relation to ecological and developmental traits. *J. Exp. Bot.* 60: 4397–4410.
- Alméras T & Fournier M. 2009. Biomechanical design and long-term stability of trees: Morphological and wood traits involved in the balance between weight increase and the gravitropic reaction. *J. Theor. Biol.* 256: 370–381.
- Alméras T, Ghislain B, Clair B, Secerovic A, Pilate G & Fournier M. in prep. Quantifying the motor power of trees.
- Alméras T, Thibaut A & Gril J. 2005. Effect of circumferential heterogeneity of wood maturation strain, modulus of elasticity and radial growth on the regulation of stem orientation in trees. *Trees.* 19: 457–467.
- Alméras T, Yoshida M & Okuyama T. 2006. The generation of longitudinal maturation stress in wood is not dependent on diurnal changes in diameter of trunk. *J. Wood Sci.* 52: 452–455.
- Andersson-Gunnerås S, Mellerowicz EJ, Love J, Segerman B, Ohmiya Y, Coutinho PM, Nilsson P, Henrissat B, Moritz T & Sundberg B. 2006. Biosynthesis of cellulose-enriched tension wood in *Populus*: global analysis of transcripts and metabolites identifies biochemical and developmental regulators in secondary wall biosynthesis. *Plant J.* 45: 144–165.
- Angyalossy V, Pace MR, Evert RF, Marcati CR, Oskolski AA, Terrazas T, Kotina E, Lens F, Mazzoni-Viveiros SC, Angeles G, Machado SR, Crivellaro A, Rao KS, Junikka L, Nikolaeva N & Baas P. 2016. IAWA list of microscopic bark features. *IAWA J.* 37: 517–615.
- Araki N, Fujita M, Saiki H & Harada H. 1982. Transition of the fiber wall structure from normal wood to tension wood in *Robinia pseudoacacia* L. and *Populus euramericana* Guinier. *Mokuzai Gakkaishi.* 28: 267–273.
- Araki N, Fujita M, Saiki H & Harada H. 1983. Transition of the fiber wall structure from normal wood to tension wood in certain species having S1 + G and S1 + S2 + S3 + G types. *Mokuzai Gakkaishi.* 29: 491–499.
- Archer RR. 1986. Growth stresses and strains in trees. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- Archer RR & Byrnes FE. 1974. On the distribution of tree growth stresses. Part I: An anisotropic plane strain theory. *Wood Sci. Technol.* 8: 184–196.
- Badia MA, Constant T, Mothe F & Nepveu G. 2006. Tension wood occurrence in three cultivars of *Populus × euramericana*. Part I: Inter-clonal and intra-tree variability of tension wood. *Ann. For. Sci.* 63: 23–30.

- Bailey IW & Kerr T. 1935. The visible structure of the secondary wall and its significance in physical and chemical investigations of tracheary cells and fibers. *J. Arnold Arbor.* 16: 273–300.
- Bastien R, Bohr T, Moulia B & Douady S. 2013. Unifying model of shoot gravitropism reveals proprioception as a central feature of posture control in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 110: 755–760.
- Baum S, Schwarze FWMR & Fink S. 2000. Persistence of the gelatinous layer within altered tension-wood fibres of beech degraded by *Ustulina deusta*. *New Phytol.* 147: 347–355.
- Bland DE & Scurfield G. 1964. The chemistry of reaction wood Part IV. The distribution and nature of the lignin in seedlings of hardwoods. *Holzforschung.* 18: 161–166.
- Böhlmann D. 1971. Zugbast bei *Tilia cordata* Mill. *Holzforschung.* 25: 1–4.
- Bonnesoeur V, Constant T, Moulia B & Fournier M. 2016. Forest trees filter chronic wind-signals to acclimate to high winds. *New Phytol.* 210: 850–860.
- Bossu J. 2015. Potentiel de *Bagassa guianensis* et *Cordia alliodora* pour la plantation en zone tropicale. Description d'une stratégie de croissance optimale alliant vitesse de croissance et qualité du bois. Thesis, Université de Guyane, Kourou, 331 pp.
- Bowling AJ & Vaughn KC. 2008. Immunocytochemical characterization of tension wood: gelatinous fibers contain more than just cellulose. *Am. J. Bot.* 95: 655–663.
- Butterfield BG & Meylan BA. 1980. Three-dimensional structure of wood. Springer Science & Business Media.
- Casperson G. 1961. Licht- und elektronenmikroskopische untersuchungen über den zeitlichen ablauf der zellwandbildung bei laubhölzern. *Berichte Dtsch. Bot. Ges.* 74: 271–273.
- Casperson G. 1967. Über die bildung von zellwänden bei laubhölzern. 4. Mitt.: untersuchungen an eiche (*Quercus robur* L.). *Holzforschung.* 21: 1–6.
- Cave ID. 1966. Theory of X-ray measurement of microfibril angle in wood. *For. Prod. J.* 16: 37–42.
- Chafe SC. 1977. Radial dislocations in the fibre wall of *Eucalyptus regnans* trees of high growth stress. *Wood Sci. Technol.* 11: 59–77.
- Chaffey N. 2000. Microfibril orientation in wood cells: new angles on an old topic. *Trends Plant Sci.* 5: 360–362.
- Chang SS. 2014. Study of macromolecular and structural modifications occurring during the building of the tension wood cell wall: a contribution to the understanding of the maturation stress generation in trees. Université de Montpellier 2, Montpellier, 136 pp.
- Chang S-S, Clair B, Ruelle J, Beauchêne J, Di Renzo F, Quignard F, Zhao G-J, Yamamoto H & Gril J. 2009. Mesoporosity as a new parameter for understanding tension stress generation in trees. *J. Exp. Bot.* 60: 3023–3030.
- Chang S-S, Quignard F, Alméras T & Clair B. 2015. Mesoporosity changes from cambium to mature tension wood: a new step toward the understanding of maturation stress generation in trees. *New Phytol.* 205: 1277–1287.
- Chase MW, Zmarzty S, Lledó MD, Wurdack KJ, Swensen SM & Fay MF. 2002. When in doubt, put it in Flacourtiaceae: A molecular phylogenetic analysis based on plastid rbcL DNA sequences. *Kew Bull.* 57: 141–181.
- Chave J, Coomes D, Jansen S, Lewis SL, Swenson NG & Zanne AE. 2009. Towards a worldwide wood economics spectrum. *Ecol. Lett.* 12: 351–366.

- Christenhusz MJM, Fay MF, Clarkson JJ, Gasson P, Morales Can J, Jiménez Barrios JB & Chase MW. 2010. Petenaeaceae, a new angiosperm family in Huerateales with a distant relationship to Gerrardina (Gerrardinaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 164: 16–25.
- Cirad. 2016. The Paracou station: Milieu. Available at: <https://paracou.cirad.fr/station/milieu> (last accessed June 16, 2017).
- Clair B, Alméras T, Pilate G, Jullien D, Sugiyama J & Riekel C. 2011. Maturation stress generation in poplar tension wood studied by synchrotron radiation microdiffraction. *Plant Physiol.* 155: 562–570.
- Clair B, Alteyrac J, Gronvold A, Espejo J, Chanson B & Alméras T. 2013. Patterns of longitudinal and tangential maturation stresses in *Eucalyptus nitens* plantation trees. *Ann. For. Sci.* 70: 801–811.
- Clair B, Fournier M, Prévost M-F, Beauchêne J & Bardet S. 2003a. Biomechanics of buttressed trees: bending strains and stresses. *Am. J. Bot.* 90: 1349–1356.
- Clair B, Ghislain B, Beauchêne J & Alméras T. in prep. Bark contribution to the posture control of trees.
- Clair B, Gril J, Baba K 'ichi, Thibaut B & Sugiyama J. 2005a. Precautions for the structural analysis of the gelatinous layer in tension wood. *IAWA J.* 26: 189–195.
- Clair B, Gril J, Di Renzo F, Yamamoto H & Quignard F. 2008. Characterization of a gel in the cell wall to elucidate the paradoxical shrinkage of tension Wood. *Biomacromolecules.* 9: 494–498.
- Clair B, Ruelle J, Beauchêne J, Prévost M-F & Fournier M. 2006. Tension wood and opposite wood in 21 tropical rain forest species. 1. Occurrence and efficiency of G-layer. *IAWA J.* 27: 329–338.
- Clair B, Ruelle J & Thibaut B. 2003b. Relationship between growth stress, mechanical-physical properties and proportion of fibre with gelatinous layer in chestnut (*Castanea sativa* Mill.). *Holzforschung.* 57.
- Clair B & Thibaut B. 2001. Shrinkage of the gelatinous layer of poplar and beech tension wood. *IAWA J.* 22: 121–131.
- Clair B & Thibaut B. 2014. Physical and mechanical properties of reaction wood. In Gardiner, B., Barnett, J., Saranpää, P. & Gril, J. (eds.), *The Biology of Reaction Wood*: 171–200. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Clair B, Thibaut B & Sugiyama J. 2005b. On the detachment of the gelatinous layer in tension wood fiber. *J. Wood Sci.* 51: 218–221.
- Coutand C, Dupraz C, Jaouen G, Ploquin S & Adam B. 2008. Mechanical stimuli regulate the allocation of biomass in trees: demonstration with young *Prunus avium* trees. *Ann. Bot.* 101: 1421–1432.
- Coutand C, Fournier M & Moulia B. 2007. The gravitropic response of poplar trunks: key roles of prestressed wood regulation and the relative kinetics of cambial growth versus wood maturation. *Plant Physiol.* 144: 1166–1180.
- Coutand C, Pot G & Badel E. 2014. Mechanosensing is involved in the regulation of autostress levels in tension wood. *Trees.* 28: 687–697.
- Daniel G, Filonova L, Kallas ÅM & Teeri TT. 2006. Morphological and chemical characterisation of the G-layer in tension wood fibres of *Populus tremula* and *Betula verrucosa*: Labelling with cellulose-binding module CBM1 H₂ Cel7A and fluorescence and FE-SEM microscopy. *Holzforschung.* 60.
- Daniel G & Nilsson T. 1996. Polylaminate concentric cell wall layering in fibres of *Homalium foetidum* and its effect on degradation by microfungi. In *Third Pa-*

- cific on Regional Conference on Recent Advances in Wood Anatomy: 369–372. New Zealand Forest Research Institute, Rotorua.
- Decombeix A-L, Galtier J & Meyer-Berthaud B. 2014. Secondary phloem in early carboniferous seed plants: anatomical diversity and evolutionary implication. *Int. J. Plant Sci.* 175: 891–910.
- Demenois J, Gourlet-Fleury S, Fuhr M & Jourget J-G. 2003. Sylviculture en forêt tropicale humide guyanaise. *Rev. For. Fr.* 55 (spec.): 273–290.
- Détienne P & Jacquet P. 1983. Atlas d'identification des bois de l'amazone et des régions voisines. GERDAT - CTFT, Nogent-sur-Marne.
- Donaldson LA. 2001. Lignification and lignin topochemistry — an ultrastructural view. *Phytochemistry.* 57: 859–873.
- Donaldson LA & Radotic K. 2013. Fluorescence lifetime imaging of lignin autofluorescence in normal and compression wood. *J. Microsc.* 251: 178–187.
- Du S & Yamamoto F. 2007. An overview of the biology of reaction wood formation. *J. Integr. Plant Biol.* 49: 131–143.
- Encinas O & Daniel G. 1997. Degradation of the gelatinous layer in aspen and rubberwood by the blue stain fungus *Lasiodiplodia theobromae*. *IAWA J.* 18: 107–115.
- Ennos AR. 1995. Development of buttresses in rainforest trees: the influence of mechanical stress. In Coutts, M. P. & Grace, J. (eds.), *Wind and Trees*: 293–301. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Fang C-H, Gril J, Clair B & Liu S-Q. 2008a. Growth stresses are highly controlled by the amount of G-layer in poplar tension wood. *IAWA J.* 29: 237–246.
- Fang C-H, Guibal D, Clair B, Gril J, Liu Y-M & Liu S-Q. 2008b. Relationships between growth stress and wood properties in poplar I-69 (*Populus deltoides* Bartr. cv. “Lux” ex I-69/55). *Ann. For. Sci.* 65: 307.
- Fayad I, Baghdadi N, Bailly J-S, Barbier N, Gond V, Hajj M, Fabre F & Bourguine B. 2014. Canopy height estimation in French Guiana with LiDAR ICESat/GLAS data using principal component analysis and random forest regressions. *Remote Sens.* 6: 11883–11914.
- Ferry B, Morneau F, Bontemps J-D, Blanc L & Freycon V. 2010. Higher treefall rates on slopes and waterlogged soils result in lower stand biomass and productivity in a tropical rain forest: Treefall and biomass in a tropical rain forest. *J. Ecol.* 98: 106–116.
- Fisher JB. 1982. A survey of buttresses and aerial roots of tropical trees for presence of reaction wood. *Biotropica.* 14: 56.
- Fisher JB & Mueller RJ. 1983. Reaction anatomy and reorientation in leaning stems of balsa (*Ochroma*) and papaya (*Carica*). *Can. J. Bot.* 61: 880–887.
- Fisher JB & Stevenson JW. 1981. Occurrence of reaction wood in branches of dicotyledons and its role in tree architecture. *Bot. Gaz.* 142: 82–95.
- Floudas D, Binder M, Riley R, Barry K, Blanchette RA, Henrissat B, Martinez AT, Otilar R, Spatafora JW, Yadav JS, Aerts A, Benoit I, Boyd A, Carlson A, Copeland A, Coutinho PM, de Vries RP, Ferreira P, Findley K, Foster B, Gaskell J, Glotzer D, Gorecki P, Heitman J, Hesse C, Hori C, Igarashi K, Jurgens JA, Kallen N, Kersten P, Kohler A, Kues U, Kumar TKA, Kuo A, LaButti K, Larrondo LF, Lindquist E, Ling A, Lombard V, Lucas S, Lundell T, Martin R, McLaughlin DJ, Morgenstern I, Morin E, Murat C, Nagy LG, Nolan M, Ohm RA, Patyshakuliyeva A, Rokas A, Ruiz-Duenas FJ, Sabat G, Salamov A, Samejima M, Schmutz J, Slot JC, St. John F, Stenlid J, Sun H, Sun S, Syed K, Tsang A, Wiebenga A, Young D, Pisabarro A, Eastwood DC, Martin F, Cullen

- D, Grigoriev IV & Hibbett DS. 2012. The Paleozoic Origin of Enzymatic Lignin Decomposition Reconstructed from 31 Fungal Genomes. *Science*. 336: 1715–1719.
- Fortunel C, Ruelle J, Beauchêne J, Fine PVA & Baraloto C. 2014. Wood specific gravity and anatomy of branches and roots in 113 Amazonian rainforest tree species across environmental gradients. *New Phytol.* 202: 79–94.
- Fournier M, Alméras T, Clair B & Gril J. 2014. Biomechanical action and biological functions. *In* Gardiner, B., Barnett, J., Saranpää, P. & Gril, J. (eds.), *The Biology of Reaction Wood*: 139–169. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Fournier M, Chanson B, Thibaut B & Guitard D. 1991. Mécanique de l'arbre sur pied: modélisation d'une structure en croissance soumise à des changements permanents et évolutifs. 2. Analyse tridimensionnelle des contraintes de maturation, cas du feuillu standard. *Ann. Sci. For.* 5: 527–546.
- Fournier M, Chanson B, Thibaut B & Guitard D. 1994. Mesures des déformations résiduelles de croissance à la surface des arbres, en relation avec leur morphologie. Observations sur différentes espèces. *Ann. Sci. For.* 249–266.
- Fournier M, Dlouhá J, Jaouen G & Almeras T. 2013. Integrative biomechanics for tree ecology: beyond wood density and strength. *J. Exp. Bot.* 64: 4793–4815.
- Fournier M, Moulia B, Stokes A, Coutand C & Fourcaud T. 2006. Tree biomechanics and growth strategies in the context of forest functional ecology. *In* Herrel, A., Rowe, N. & Speck, T. (eds.), *Ecology and Biomechanics*: 1–33. CRC Press.
- Fujino T & Itoh T. 1994. Architecture of the cell wall of a green alga, *Oocystis apiculata*. *Protoplasma*. 180: 39–48.
- Fujita M, Harada H & Saiki H. 1974. Electron microscopy of microtubules and cellulose microfibrils in secondary wall formation of poplar tension wood fibers. *Mokuzai Gakkaishi*. 20: 147–156.
- Furukawa I & Ohashi G. 1999. Anatomical features and characteristics of wood quality of leguminous woody xerophytes grown in China deserts. *Hardwood Res.* 8: 45–51.
- Gardiner B, Barnett J, Saranpää P & Gril J. 2014a. *The biology of reaction wood*. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Gardiner B, Flatman T & Thibaut B. 2014b. Commercial implications of reaction wood and the influence of forest management. *In* Gardiner, B., Barnett, J., Saranpää, P. & Gril, J. (eds.), *The Biology of Reaction Wood*: 249–274. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Gartner BL, Roy J & Huc R. 2003. Effects of tension wood on specific conductivity and vulnerability to embolism of *Quercus ilex* seedlings grown at two atmospheric CO₂ concentrations. *Tree Physiol.* 23: 387–395.
- Gérard J, Guibal D, Paradis S & Cerre J-C. 2016. *Atlas des bois tropicaux: caractéristiques technologiques et utilisations*.
- Ghislain B, Alméras T & Clair B. in prep. The diversity of gravitropic reactions among 20 tropical tree species leads to similar up-righting efficiency.
- Ghislain B & Clair B. 2017. Diversity in the organisation and lignification of tension wood fibre walls – A review. *IAWA J.* 38: 245–265.
- Ghislain B, Engel J & Clair B. in prep. Diversity of anatomical structure of tension wood among 291 species.
- Ghislain B, Nicolini E-A, Romain R, Ruelle J, Yoshinaga A, Alford MH & Clair B. 2016. Multilayered structure of tension wood cell walls in *Salicaceae sensu lato* and its taxonomic significance. *Bot. J. Linn. Soc.* 182: 744–756.

- Gierlinger N & Schwanninger M. 2006. Chemical imaging of poplar wood cell walls by confocal Raman microscopy. *Plant Physiol.* 140: 1246–1254.
- Gorshkova T, Mokshina N, Chernova T, Ibragimova N, Salnikov V, Mikshina P, Tryfona T, Banasiak A, Immerzeel P, Dupree P & Mellerowicz EJ. 2015. Aspen tension wood fibers contain β -(1→4)-galactans and acidic arabinogalactans retained by cellulose microfibrils in gelatinous walls. *Plant Physiol.* pp.00690.2015.
- Gritsch C, Wan Y, Mitchell RAC, Shewry PR, Hanley SJ & Karp A. 2015. G-fibre cell wall development in willow stems during tension wood induction. *J. Exp. Bot.* 66: 6447–6459.
- Guedes FTP, Laurans F, Quemener B, Assor C, Lainé-Prade V, Boizot N, Vigouroux J, Lesage-Descauses M-C, Leplé J-C, Déjardin A & Pilate G. 2017. Non-cellulosic polysaccharide distribution during G-layer formation in poplar tension wood fibers: abundance of rhamnogalacturonan I and arabinogalactan proteins but no evidence of xyloglucan. *Planta*.
- Hafren J, Fujino T & Itoh T. 1999. Changes in cell wall architecture of differentiating tracheids of *Pinus thunbergii* during lignification. *Plant Cell Physiol.* 40: 532–541.
- Hallé F, Oldeman RAA & Tomlinson PB. 1978. *Tropical Trees and Forests*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- Hallier H. 1908. Über Juliana, eine terebinthaceen-gattung mit cupula, und die wahren stammeltern de kaitzchenbliltler. *Beih. Zum Bot. Cent.* 23: 81–265.
- Hallier H. 1912. L'origine et le système phylétique des angiospermes exposés à l'aide de leur arbre généalogique. *Arch. Néerl. Sci. Exactes Nat. Série 3*: 146–234.
- Hammond D. 2005. *Tropical Forests of the Guiana Shield*. CAB International, Wallingford.
- Hernandez RE & Almeida G. 2003. Effect of wood density and interlocked grain on the shear strength of three anamonian tropical hardwoods. *Wood Fiber Sci.* 32: 154–166.
- Hiraiwa T, Aiso H, Ishiguri F, Takashima Y, Iizuka K & Yokota S. 2014. Anatomy and chemical composition of *Liriodendron tulipifera* stems inclined at different angles. *IAWA J.* 35: 463–475.
- Hiraiwa T, Toyozumi T, Yokota S, Ishiguri F, Iizuka K, Yokota S & Yoshizawa N. 2013. Characteristics of *Trochodendron aralioides* tension wood formed at different inclination angles. *IAWA J.* 34: 273–284.
- Hiraiwa T, Yamamoto Y, Ishiguri F, Izuka K, Yokota S & Yoshizawa N. 2007. Cell wall structure and lignin distribution in the reaction wood fiber of *Osmanthus fragrans* var. *aurantiacus* Makino. *Cellul. Chem. Technol.* 41: 537–543.
- Hirohashi A, Kojima M, Yoshida M, Yamamoto H, Watanabe Y, Inoue H & Kamoda S. 2012. Wood properties of 6 fast-growing *Eucalyptus* species grown in Japan. *Mokuzai Gakkaishi.* 58: 339–346.
- Höster H-R & Liese W. 1966. Über das vorkommen von reaktionsgewebe in wurzeln und ästen der dikotyledonen. *Holzforschung.* 20: 80–90.
- Huang Y-S, Hung L-F & Kuo-Huang L-L. 2010. Biomechanical modeling of gravitropic response of branches: roles of asymmetric periphery growth strain versus self-weight bending effect. *Trees.* 24: 1151–1161.
- IAWA. 1964. *Multilingual glossary of terms used in wood*. Verlagsbuchanstalt Konkordia, Winterthur.

- Ibragimova NN, Ageeva MV & Gorshkova TA. 2017. Development of gravitropic response: unusual behavior of flax phloem G-fibers. *Protoplasma*. 254: 749–762.
- IFN. 2004. La diversité floristique de la forêt française. L'IF. 1–8.
- IUSS Working Group WRB. 2014. World reference base for soil resources 2014: international soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. FAO, Rome.
- Jaouen G, Alméras T, Coutand C & Fournier M. 2007. How to determine sapling buckling risk with only a few measurements. *Am. J. Bot.* 94: 1583–1593.
- Joseleau J-P, Imai T, Kuroda K & Ruel K. 2004. Detection in situ and characterization of lignin in the G-layer of tension wood fibres of *Populus deltoides*. *Planta*. 219: 338–345.
- 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”). *IAWA J.* 22: 133–157.
- Jutte SM. 1956. Tension wood in wane (*Ocotea rubra* Mez). *Holzforschung*. 10: 33–35.
- Kempe A, Lautenschläger T & Neinhuis C. 2014. Reorientation in tilted stems of Papaya by differential growth. *Int. J. Plant Sci.* 175: 537–543.
- Kim JS & Daniel G. 2012. Distribution of glucomannans and xylans in poplar xylem and their changes under tension stress. *Planta*. 236: 35–50.
- Kretschmann DE. 2010. Mechanical properties of wood. *In Wood Handbook: Wood as an Engineering Material*: 46. Department of Agriculture Forest Service, Forst Products Laboratory, Madison, WI: U.S.
- Kubler H. 1987. Growth stresses in trees and related wood properties. *For. Abstr.* 131–189.
- Lachenbruch B & McCulloh KA. 2014. Traits, properties, and performance: how woody plants combine hydraulic and mechanical functions in a cell, tissue, or whole plant. *New Phytol.* n/a-n/a.
- Lachenbruch B, Moore JR & Evans R. 2011. Radial variation in wood structure and function in woody plants, and hypotheses for its occurrence. *In Size- and Age-Related Changes in Tree Structure and Function*: 121–164. Springer Netherlands, Dordrecht.
- 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 Phytol.* 164: 107–121.
- Larjavaara M & Muller-Landau HC. 2010. Rethinking the value of high wood density. *Funct. Ecol.* 24: 701–705.
- Lehnebach R. 2015. Etude de la variabilité ontogénique du profil ligneux chez quelques espèces forestières tropicales de Guyane Française. Université de Montpellier, Montpellier, 266 pp.
- Lehringer C, Daniel G & Schmitt U. 2009. TEM/FE-SEM studies on tension wood fibres of *Acer* spp., *Fagus sylvatica* L. and *Quercus robur* L. *Wood Sci. Technol.* 43: 691–702.
- Lehringer C, Gierlinger N & Koch G. 2008. Topochemical investigation on tension wood fibres of *Acer* spp., *Fagus sylvatica* L. and *Quercus robur* L. *Holzforschung*. 62: 255–263.
- Lemke DE. 1988. A synopsis of Flacourtiaceae. *Aliso*. 12: 28–43.

- Lens F, Schönenberger J, Baas P, Jansen S & Smets E. 2007. The role of wood anatomy in phylogeny reconstruction of Ericales. *Cladistics - Int. J. Willi Hennig Soc.* 23: 229–294.
- Leskinen E & Alström-Rapaport C. 1999. Molecular phylogeny of Salicaceae and closely related Flacourtiaceae: evidence from 5.8 S, ITS 1 and ITS 2 of the rDNA. *Plant Syst. Evol.* 215: 209–227.
- McCann MC, Wells B & Roberts K. 1990. Direct visualization of cross-links in the primary plant cell wall. *J. Cell Sci.* 96: 323–334.
- Metzger K. 1908. Über das Konstruktionsprinzip des sekundären Holzkörpers. *Naturwissenschaftliche Z. Für Forst- Landwirtsch.* 6: 249–278.
- Miller RB. 1975. Systematic anatomy of the xylem and comments on the relationships of Flacourtiaceae. *J. Arnold Arbor.* 56: 20–102.
- Molino J-F, Sabatier D, Prévost M-F, Frame D, Gonzales S & Bilot-Guérin V. 2009. Convention E 24/08 entre le Ministère de l'Agriculture et de la Pêche et l'IRD, dans le cadre du Programme 149 Forêt BOP 14901C, sous-action 15, destiné à la réalisation du programme intitulé « Etablissement d'une liste des espèces d'arbres de la Guyane Française » - Rapport final.
- Montes MM, Ewers FW & Bobich EG. 2015. Gelatinous fibres are not produced in response to induced stresses in *Ephedra*. *IAWA J.* 36: 121–137.
- Morey PR & Cronshaw J. 1968. Induction of tension wood by 2,4-dinitrophenol and auxins. *Protoplasma.* 65: 393–405.
- Morris H & Jansen S. 2016. Secondary xylem parenchyma – From classical terminology to functional traits. *IAWA J.* 37: 1–15.
- Moulia B, Coutand C & Lenne C. 2006. Posture control and skeletal mechanical acclimation in terrestrial plants: implications for mechanical modeling of plant architecture. *Am. J. Bot.* 93: 1477–1489.
- Moulia B & Fournier M. 2009. The power and control of gravitropic movements in plants: a biomechanical and systems biology view. *J. Exp. Bot.* 60: 461–486.
- Nakagawa K, Yoshinaga A & Takabe K. 2012. Anatomy and lignin distribution in reaction phloem fibres of several Japanese hardwoods. *Ann. Bot.* 110: 897–904.
- Nakagawa K, Yoshinaga A & Takabe K. 2014. Xylan deposition and lignification in the multi-layered cell walls of phloem fibres in *Mallotus japonicus* (Euphorbiaceae). *Tree Physiol.* 34: 1018–1029.
- Nakashima J, Mizuno T, Takabe K, Fujita M & Saiki H. 1997. Direct visualization of lignifying secondary wall thickenings in *Zinnia elegans* cells in culture. *Plant Cell Physiol.* 7: 818–827.
- Nanko H, Saiki H & Harada H. 1982. Structural modification of secondary phloem fibers in the reaction phloem of *Populus euramericana*. *Mokuzai Gakkaishi.* 28: 202–207.
- Niklas KJ. 1992. *Plant biomechanics. An engineering approach to plant form and function.* University of Chicago Press, Chicago.
- Niklas KJ. 1999. The mechanical role of bark. *Am. J. Bot.* 86: 465–469.
- Nishikubo N, Awano T, Banasiak A, Bourquin V, Ibatullin F, Funada R, Brumer H, Teeri TT, Hayashi T, Sundberg B & Mellerowicz EJ. 2007. Xyloglucan endotransglycosylase (XET) functions in gelatinous layers of tension wood fibers in poplar -- A glimpse into the mechanism of the balancing act of trees. *Plant Cell Physiol.* 48: 843–855.

- Norberg PH & Meier H. 1966. Physical and chemical properties of the gelatinous layer in tension wood fibres of aspen (*Populus tremula* L.). *Holzforschung*. 20: 174–178.
- Norimoto M, Tanaka F, Ohogama T & Ikimune R. 1986. Specific dynamic Young's modulus and internal friction of wood in the longitudinal direction (in Japanese). *Wood Res. Tech. Notes*. 53–65.
- Obataya E, Ono T & Norimoto M. 2000. Vibrational properties of wood along the grain. *J. Mater. Sci.* 2993–3001.
- Okuyama T, Yamamoto H, Yoshida M, Hattori Y & Archer R. 1994. Growth stresses in tension wood: role of microfibrils and lignification. *Ann. Sci. For.* 51: 291–300.
- Oldeman RAA & Van Dijk J. 1991. Diagnosis of the temperament of tropical rain forest trees. In Gómez-Pompa, A., Whitmore, T. C. & Hadley, M. (eds.), *Rain Forest Regeneration and Management*: 21–65. Unesco, Paris.
- Onaka F. 1949. Studies on compression and tension wood. *Wood Res.* 1–88.
- Paine CET, Stahl C, Courtois EA, Patiño S, Sarmiento C & Baraloto C. 2010. Functional explanations for variation in bark thickness in tropical rain forest trees: bark thickness in tropical trees. *Funct. Ecol.* 24: 1202–1210.
- Passas R. 2008. Tutoriel: Caractérisation de la morphologie des fibres de bois. I - Structure des arbres. Available at: <http://cerig.efpg.inpg.fr/tutoriel/morphologie-fibres-bois/page03.htm>.
- Patel RN. 1988. Wood anatomy of the dicotyledons indigenous to New Zealand 17. Tiliaceae. *N. Z. J. Bot.* 26: 337–343.
- Pélissier R, Dray S & Sabatier D. 2002. Within-plot relationships between tree species occurrences and hydrological soil constraints: an example in French Guiana investigated through canonical correlation analysis. *Plant Ecol.* 2: 143–156.
- Pilate G, Chabbert B, Cathala B, Yoshinaga A, Leplé J-C, Laurans F, Lapierre C & Ruel K. 2004a. Lignification and tension wood. *C. R. Biol.* 327: 889–901.
- Pilate G, Déjardin A, Laurans F & Leplé J-C. 2004b. Tension wood as a model for functional genomics of wood formation. *New Phytol.* 164: 63–72.
- Potter MC. 1904. On the occurrence of cellulose in the xylem of woody stems. *Ann. Bot.* 18: 121–140.
- Prodhan AKMA, Funada R, Ohtani J, Abe H & Fukazawa K. 1995a. Orientation of microfibrils and microtubules in developing tension-wood fibres of Japanese ash (*Fraxinus mandshurica* var. *japonica*). *Planta.* 196: 577–585.
- Prodhan AKMA, Ohtani J, Funada R, Abe H & Fukazawa K. 1995b. Ultrastructural investigation of tension wood fibre in *Fraxinus mandshurica* Rupr. var. *japonica* Maxim. *Ann. Bot.* 75: 311–317.
- Riera B, Puig H & Lescure J-P. 1990. La dynamique de la forêt naturelle. *Bois For. Trop.* 69–78.
- Rosell JA. 2016. Bark thickness across the angiosperms: more than just fire. *New Phytol.* 211: 90–102.
- Rosell JA, Gleason S, Méndez-Alonzo R, Chang Y & Westoby M. 2014. Bark functional ecology: evidence for tradeoffs, functional coordination, and environment producing bark diversity. *New Phytol.* 201: 486–497.
- Rosell JA & Olson ME. 2014. The evolution of bark mechanics and storage across habitats in a clade of tropical trees. *Am. J. Bot.* 101: 764–777.

- Roussel J-R & Clair B. 2015. Evidence of the late lignification of the G-layer in *Simarouba* tension wood, to assist understanding how non-G-layer species produce tensile stress. *Tree Physiol.* 35: 1366–1377.
- Ruelle J. 2006. Analyse de la diversité du bois de tension de 3 espèces d'angiospermes de forêt tropicale humide de Guyane Française. Thesis, Université des Antilles et de la Guyane, Cayenne, France, 210 pp.
- Ruelle J. 2014. Morphology, Anatomy and Ultrastructure of Reaction Wood. In Gardiner, B., Barnett, J., Saranpää, P. & Gril, J. (eds.), *The Biology of Reaction Wood*: 13–35. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Ruelle J, Beauchene J, Thibaut A & Thibaut B. 2007a. Comparison of physical and mechanical properties of tension and opposite wood from ten tropical rainforest trees from different species. *Ann. For. Sci.* 64: 503–510.
- Ruelle J, Beauchêne J, Yamamoto H & Thibaut B. 2011. Variations in physical and mechanical properties between tension and opposite wood from three tropical rainforest species. *Wood Sci. Technol.* 45: 339–357.
- Ruelle J, Clair B, Beauchêne J, Prévost M-F & Fournier M. 2006. Tension wood and opposite wood in 21 tropical rain forest species. 2. Comparison of some anatomical and ultrastructural criteria. *IAWA J.* 27: 341–376.
- Ruelle J, Yamamoto H & Thibaut B. 2007b. Growth stresses and cellulose structural parameters in tension and normal wood from three tropical rainforest angiosperm species. *BioResources.* 2: 235–251.
- Ruelle J, Yoshida M, Clair B & Thibaut B. 2007c. Peculiar tension wood structure in *Laetia procera* (Poepp.) Eichl. (Flacourtiaceae). *Trees.* 21: 345–355.
- Sabatier D, Grimaldi M, Prévost M-F, Guillaume J, Godron M, Dosso M & Sabatier D. 1997. The influence of soil cover organization on the floristic and structural heterogeneity of a Guianan rain forest. *Plant Ecol. Former. Veg.* 131: 81–108.
- Saiki H & Ono K. 1971. Cell wall organization of gelatinous fibers in tension wood. *Bull. Kyoto Univ. For.* 42: 210–220.
- Samarakoon T. 2015. Phylogenetic relationships of Samydaceae and taxonomic revision of the species of *Casearia* in South-Central Asia. Dissertation, University of Southern Mississippi, 160 pp.
- Sanio KG. 1860a. Einige bemerkungen über den bau des holzes II. Ueber die tertiäre verdickungsschicht des holzzellen. *Bot. Ztg.* 23: 201–204.
- Sanio KG. 1860b. Einige bemerkungen über den bau des holzes I. Ueber den bau des tüpfels und hofes. *Bot. Ztg.* 22: 193–200.
- Sanio KG. 1863. Vergleichende untersuchungen über die elementarorgane des holzkörpers. *Bot. Ztg.* 21: 101–111.
- Schmitt U, Peek R-D & Wong A. 1995. A note on the fine structure of soft rot decay in the polylamellate fibre walls of kempas (*Koompassia malaccensis* Maing. ex Benth.). *Holz Als Roh- Werkst.* 54: 42–42.
- Schneider CA, Rasband WS & Eliceiri KW. 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat. Methods.* 9: 671–675.
- Schrader J. 2003. Developmental biology of wood formation: finding regulatory factors through functional genomics. Swedish University of Agricultural Sciences, Umeå, 60 pp.
- Schwarze FWMR & Fink S. 1998. Host and cell type affect the mode of degradation by *Meripilus giganteus*. *New Phytol.* 139: 721–731.
- Scurfield G. 1972. Histochemistry of Reaction Wood Cell Walls in Two Species of *Eucalyptus* and in *Tristania Conferta* R.Br. *Aust. J. Bot.* 20: 9–26.

- Scurfield G. 1973. Reaction wood: its structure and function: lignification may generate the force active in restoring the trunks of leaning trees to the vertical. *Science*. 179: 647–655.
- Scurfield G & Wardrop AB. 1963. The nature of reaction wood. VII. Lignification in reaction wood. *Aust. J. Bot.* 11: 107–116.
- Shotton DM. 2006. Freeze fracture and freeze etching. *In* Celis, J. E. (ed.), *Cell Biology: A Laboratory Handbook*: 257–263. 3rd ed. Elsevier Academic, Amsterdam ; Boston.
- Singh AP, Wong AHH, Kim YS & Wi SG. 2004. The relationship of fiber cell wall ultrastructure to soft rot decay in kempas (*Koompassia malaccensis*) heartwood. *In* 23. Ljubljana, Slovenia.
- Speck T & Rowe NP. 2003. Modelling primary and secondary growth processes in plants: a summary of the methodology and new data from an early lignophyte. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 358: 1473–1485.
- Sperry JS. 2003. Evolution of water transport and xylem structure. *Int. J. Plant Sci.* 163: S115–S127.
- Sperry JS, Hacke UG & Pittermann J. 2006. Size and function in conifer tracheids and angiosperm vessels. *Am. J. Bot.* 93: 1490–1500.
- Streit W & Fengel D. 1995. Formation and deposition of tannins in Quebracho Colorado (*Schinopsis balansae* Engl.). *Holz Als Roh- Werkst.* 53: 56–60.
- Sujan K, Yamamoto H, Matsuo M, Yoshida M, Naito K & Shirai T. 2015. Continuum contraction of tension wood fiber induced by repetitive hygrothermal treatment. *Wood Sci. Technol.* 49: 1157–1169.
- Sultana RS, Ishiguri F, Yokota S, Iizuka K, Hiraiwa T & Yoshizawa N. 2010. Wood anatomy of nine Japanese hardwood species forming reaction wood without gelatinous fibers. *IAWA J.* 31: 191–202.
- ter Steege H, Pitman NCA, Phillips OL, Chave J, Sabatier D, Duque A, Molino J-F, Prévost M-F, Spichiger R, Castellanos H, von Hildebrand P & Vásquez R. 2006. Continental-scale patterns of canopy tree composition and function across Amazonia. *Nature*. 443: 444–447.
- ter Steege H, Pitman NCA, Sabatier D, Baraloto C, Salomao RP, Guevara JE, Phillips OL, Castilho CV, Magnusson WE, Molino J-F, Monteagudo A, Nunez Vargas P, Montero JC, Feldpausch TR, Coronado ENH, Killeen TJ, Mostacedo B, Vasquez R, Assis RL, Terborgh J, Wittmann F, Andrade A, Laurance WF, Laurance SGW, Marimon BS, Marimon B-H, Guimaraes Vieira IC, Amaral IL, Brienen R, Castellanos H, Cardenas Lopez D, Duivenvoorden JF, Mogollon HF, Matos FD d. A, Davila N, Garcia-Villacorta R, Stevenson Diaz PR, Costa F, Emilio T, Levis C, Schiatti J, Souza P, Alonso A, Dallmeier F, Montoya AJD, Fernandez Piedade MT, Araujo-Murakami A, Arroyo L, Gribel R, Fine PVA, Peres CA, Toledo M, Aymard C. GA, Baker TR, Ceron C, Engel J, Henkel TW, Maas P, Petronelli P, Stropp J, Zartman CE, Daly D, Neill D, Silveira M, Paredes MR, Chave J, Lima Filho D d. A, Jorgensen PM, Fuentes A, Schongart J, Cornejo Valverde F, Di Fiore A, Jimenez EM, Penuela Mora MC, Phillips JF, Rivas G, van Andel TR, von Hildebrand P, Hoffman B, Zent EL, Malhi Y, Prieto A, Rudas A, Ruschell AR, Silva N, Vos V, Zent S, Oliveira AA, Schutz AC, Gonzales T, Trindade Nascimento M, Ramirez-Angulo H, Sierra R, Tirado M, Umana Medina MN, van der Heijden G, Vela CIA, Vilanova Torre E, Vriesendorp C, Wang O, Young KR, Baider C, Balslev H, Ferreira C, Mesones I, Torres-Lezama A, Urrego Giraldo LE, Zagt R, Alexiades MN, Hernandez L, Huamantupa-Chuquimaco I, Milliken W, Palacios Cuenca

- W, Pauletto D, Valderrama Sandoval E, Valenzuela Gamarra L, Dexter KG, Feeley K, Lopez-Gonzalez G & Silman MR. 2013. Hyperdominance in the Amazonian Tree Flora. *Science*. 342: 1243092–1243092.
- Thompson DAW. 1917. *On growth and form*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Timell TE. 1986. *Compression wood in gymnosperms*. Springer, Berlin.
- Tippo O. 1946. The Role of Wood Anatomy in Phylogeny. *Am. Midl. Nat.* 36: 362–372.
- Tuskan GA, Difazio SP & Teichmann T. 2004. Poplar genomics is getting popular: the impact of the poplar genome project on tree research. *Plant Biol.* 6: 2–4.
- Wahlgren HE. 1957. *Tension wood in overcup oak*. U.S. Dept. of Agriculture, Forest Service, Forest Products Laboratory.
- Wardrop AB. 1964. The reaction anatomy of arborescent angiosperms. *In* Zimmermann, M. H. (ed.), *The Formation of Wood in Forest Trees*: 405–456. Academic Press.
- Wardrop AB & Dadswell HE. 1948. The nature of reaction wood. I. The structure and properties of tension wood fibres. *Aust. J. Sci. Res.* 1: 3–16.
- Wardrop AB & Dadswell HE. 1955. The nature of reaction wood. IV. Variation in the cell wall organization of tension wood fibres. *Aust. J. Bot.* 3: 177–189.
- Wegst UGK, Bai H, Saiz E, Tomsia AP & Ritchie RO. 2014. Bioinspired structural materials. *Nat. Mater.* 14: 23–36.
- Williamson GB & Wiemann MC. 2010. Measuring wood specific gravity...Correctly. *Am. J. Bot.* 97: 519–524.
- Wimmer R & Johansson. 2014. Effects of reaction wood on the performance of wood and wood-based products. *In* Gardiner, B., Barnett, J., Saranpää, P. & Gril, J. (eds.), *The Biology of Reaction Wood*: 225–248. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Worbes M. 2002. One hundred years of tree-ring research in the tropics – a brief history and an outlook to future challenges. *Dendrochronologia*. 20: 217–231.
- Xi Z, Ruhfel BR, Schaefer H, Amorim AM, Sugumaran M, Wurdack KJ, Endress PK, Matthews ML, Stevens PF, Mathews S & Davis CC. 2012. Phylogenomics and a posteriori data partitioning resolve the Cretaceous angiosperm radiation Malpighiales. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 109: 17519–17524.
- Yamamoto H. 1998. Generation mechanism of growth stresses in wood cell walls: roles of lignin deposition and cellulose microfibril during cell wall maturation. *Wood Sci. Technol.* 32: 171–182.
- Yamamoto H, Okuyama T & Yoshida M. 1993. Method of determining the mean microfibril angle of wood over a wide range by the improved Cave's method. *Mokuzai Gakkaishi*. 39: 375–381.
- Yoshida M. 2002. Techniques for measuring growth stress on the xylem surface using strain and dial gauges. *Holzforschung*. 56: 461–467.
- Yoshida M, Ohta H, Yamamoto H & Okuyama T. 2002. Tensile growth stress and lignin distribution in the cell walls of yellow poplar, *Liriodendron tulipifera* Linn. *Trees*. 16: 457–464.
- Yoshinaga A, Kusumoto H, Laurans F, Pilate G & Takabe K. 2012. Lignification in poplar tension wood lignified cell wall layers. *Tree Physiol.* 32: 1129–1136.
- Yoshizawa N, Inami A, Miyake S, Ishiguri F & Yokota S. 2000. Anatomy and lignin distribution of reaction wood in two *Magnolia* species. *Wood Sci. Technol.* 34: 183–196.

LISTE DE FIGURES

FIGURE 1. DIAGRAMME OMBROTHERMIQUE POUR LA STATION DE PARACOU, GUYANE FRANÇAISE (CIRAD 2016). LES PRECIPITATIONS MENSUELLES SONT INDIQUEES EN MM (EN NOIR) AINSI QUE LA TEMPERATURE MOYENNE MENSUELLE EN °C (EN GRIS).....	14
FIGURE 2. REPRESENTATION SCHEMATIQUE D'UN MODELE ARCHITECTURAL A AXE PRINCIPAL DROIT (A, MODELE D'AUBREVILLE) ET D'UN MODELE ARCHITECTURAL DONT L'AXE EST NATURELLEMENT INCLINE (B, MODELE DE TROLL). ILLUSTRATIONS PROVENANT DE HALLE ET AL. (1978).....	16
FIGURE 3. EVOLUTION DE LA CONTRAINTE (Σ) EN FONCTION DE LA DEFORMATION (E). DANS LE DOMAINE ELASTIQUE (EN NOIR), LE RELACHEMENT DE LA CONTRAINTE PERMET DE REVENIR A UNE DEFORMATION NULLE. DANS LE DOMAINE PLASTIQUE (EN GRIS), L'EPROUVETTE ETUDIEE EST ENDOMMAGEE ET NE REVIENT PAS A UNE DEFORMATION NULLE LORS DU RELACHEMENT DE LA CONTRAINTE (TRAIT POINTILLE). LE MODULE ELASTIQUE (E) EST CALCULE AVEC LA PENTE DE LA DROITE DANS LE DOMAINE ELASTIQUE.....	18
FIGURE 4. PLAN LIGNEUX DU BOIS : PLAN TRANSVERSAL (RT), PLAN RADIAL (RL) ET PLAN TANGENTIEL (LT). ADAPTE DE PASSAS (2008).....	19
FIGURE 5. INFLUENCE DE LA DENSITE SUR LE MODULE ELASTIQUE LONGITUDINAL POUR 125 ESPECES GUYANAISES (GERARD <i>ET AL.</i> 2016). LES MESURES SONT REALISEES A 12 % D'HUMIDITE. LES POINTS ROUGES INDIQUENT LA POSITION DE <i>VIROLA</i> SP. ET <i>BOCOA PROUACENSIS</i>	20
FIGURE 6. RELATION ENTRE LE MODULE SPECIFIQUE (E_L/P) ET L'ANGLE DES MICROFIBRILLES DE CELLULOSE (θ) POUR DU BOIS DE <i>CHAMAECYPARIS OBTUSA</i> . MODIFIE D'APRES NORIMOTO ET AL. (1986) DANS OBATAYA ET AL. (2000).	20
FIGURE 7. ILLUSTRATION SCHEMATIQUE D'UNE MEME FIBRE D'UN BOIS D'ANGLE DE FIL NUL (A) ET D'ANGLE DE FIL NON NUL (B). LES MICROFIBRILLES DE CELLULOSE SONT REPRESENTEES LES COURBES GRISES.	21
FIGURE 8. EFFET DE L'ANGLE DU FIL SUR LE MODULE SPECIFIQUE (E/P) DE <i>BAGASSA GUIANENSIS</i> (A), ESPECE POUR LAQUELLE L'ANGLE DES MICROFIBRILLES DE CELLULOSE (AMF) EST STABLE ET A PEU D'EFFET SUR LE MODULE SPECIFIQUE (B, POINTS NOIRS). LES GRAPHES SONT ISSUS DE BOSSU (2015).	21
FIGURE 9. MOMENT QUADRATIQUE SELON L'AXE Gz (I_{Gz}) POUR DES SECTIONS D'AIRES SIMILAIRES (A) ET DE GEOMETRIES DIFFERENTES : TUBE PLEIN DE SECTION CIRCULAIRE, TUBE PLEIN DE SECTION ELLIPTIQUE, TUBE CREUX, POUTRE PLEINE ET POUTRE EN I.....	22
FIGURE 10. ILLUSTRATION DE DIFFERENTES GEOMETRIES DE TRONCS D'ARBRES. SECTION ELLIPTIQUE AVEC EXCENTREMENT DE LA MOELLE CHEZ <i>CORDIA ALLIODORA</i> (A), SECTION EN TUBE CREUX POUR <i>CECROPIA SCIADOPHYLLA</i> (B) ET SECTION D' <i>ASPIDOSPERMA</i> SP. (C). BARRE D'ECHELLE = 2 CM.	22
FIGURE 11. TUBES PLEINS COMPOSES DU MEME MATERIAU ET EN QUANTITE EGALE, AVEC SOIT UNE HAUTEUR SUPERIEURE (A,D), SOIT UNE SECTION D'AIRES SUPERIEURE (B,E).	23
FIGURE 12. EVOLUTION DU TYPE DE PROFIL RADIAL D'INFRADENSITE EN FONCTION DU DEGRE D'HELIOPHILIE (LEHNEBACH 2015). L'AXE DES ABCISSES REPRESENTE L'INFRADENSITE ET L'AXE DES ORDONNEES REPRESENTE LA LOCALISATION DANS LE RAYON, DE LA MOELLE VERS L'ECORCE... ..	24
FIGURE 13. REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES CONTRAINTES DE CROISSANCE (Σ) EN FONCTION DE LA POSITION RADIALE DANS LE TRONC POUR UN ARBRE DROIT (A) ET UN ARBRE INCLINE PRODUISANT DU BOIS DE TENSION ACCOMPAGNE D'UNE EXCENTRICITE (B).....	25
FIGURE 14. MODELE DE GENERATION DE LA CONTRAINTE DE TENSION AU TRAVERS DE LA PRESSION DE GONFLEMENT DE LA MATRICE GELATINEUSE A L'INTERIEUR DU RESEAU DE MICROFIBRILLES DE CELLULOSE (CHANG <i>ET AL.</i> 2015).	26
FIGURE 15. REPRESENTATION SCHEMATIQUE ET DE L'ECORCE ET D'UNE PORTION DE BOIS (ROSELL 2016).	28
FIGURE 16. ORGANISATION DE LA ZONE CAMBIALE DES FEUILLUS ET TERMINOLOGIE DES TISSUS DE FORMATION DU BOIS ET DE L'ECORCE INTERNE (SCHRADER 2003).	30

- FIGURE 17. SCHEMATIC DIAGRAM OF THE CLASSIFICATION PROPOSED BY ONAKA (1949). *: CLASS CONTAINING ONLY *GARDENIA* AND *BUXUS*. **: CLASS REPRESENTED BY SHRUBS OR VINES AND TWO TREES, *PAULOWNIA TOMENTOSA* AND *CATALPA OVATA*. PICTURES OF THE CELLS ARE THE ORIGINAL DRAWINGS BY ONAKA (1949), THE UNLIGNIFIED G-LAYERS ARE IN GREY. 36
- FIGURE 18. SCHEMATIC REPRESENTATION OF THE ANATOMY OF TENSION WOOD FIBRES PRESENTING S AND G-LAYER (S_1 LAYER AND S_2 LAYER - IF ANY - ARE PRESENTED AS A SINGLE LAYER) (A-F), COMPARED TO A NORMAL WOOD FIBRE (N). – A₁-A₃: UNLIGNIFIED TO HIGHLY LIGNIFIED G-LAYER. – B₁-B₃: UNLIGNIFIED TO HIGHLY LIGNIFIED MULTI-LAYERED G-LAYER. – C: PROGRESSIVE DECREASE IN LIGNIN CONTENT FROM THE S_1 OR THE S_2 LAYER TO THE G-LAYER. – D: CONCENTRIC LIGNIN DEPOSITION IN THE G-LAYER. – E: INNER THIN LIGNIFIED RING IN THE G-LAYER. – F: THICK LIGNIFIED RING INSIDE THE G-LAYER. – N: NORMAL WOOD FIBRE, INCLUDING S_1 , S_2 , S_3 43
- FIGURE 19. REPRESENTATION SCHEMATIQUE DU MATERIEL ET METHODES DE CETTE THESE. EN ROUGE SONT REPRESENTES LES « METHODES » MISES AU POINT DURANT CETTE THESE. * INDIQUE UNE CONTRIBUTION DE 100 %. DANS LE CAS CONTRAIRE, UN POURCENTAGE APPROXIMATIF DE CONTRIBUTION EST INDIQUE ENTRE PARENTHESE, EN PLUS DU NOM DES AUTRES PERSONNES AYANT CONTRIBUE A LA MESURE : AC, AURELIE CUVELIER ; AP, AUDIN PATIENT ; BC, BRUNO CLAIR ; BG, BARBARA GHISLAIN ; CG, CAMILLE GERARD ; GF, GREGORY FAURE ; JC, JOCELYN CAZAL ; JP, JONATHAN PRUNIER ET RR, RAÏSSA ROMAIN ; SC, SABRINA COSTE ; SK, SOEPE KOESE ; TA, TANCREDE ALMERAS. ABBREVIATIONS : AMF, ANGLE DES MICROFIBRILLES DE CELLULOSE ; D, DIAMETRE ; EFF, EFFICIENCE ; H, HAUTEUR ; HYDRO, CONDUCTANCE ; M, DRY MASS ; NLEAVES, NOMBRE DE FEUILLES ; SP, NOMBRE D'ESPECES D'ARBRES ETUDIEES ; TW, BOIS DE TENSION. 52
- FIGURE 20. MATERIEL VEGETAL RECOLTE EN FORET TROPICALE (A-F) ET ELEVE EN SERRE (G-H) DURANT LA THESE. A,B, ARBRES NATURELLEMENT INCLINES ; C,D, PETITS ARBRES HAUBANES ; E,F, *PACHIRA AQUATICA* NATURELLEMENT INCLINE EN BORD DE FLEUVE ; G, GERMINATION ET CROISSANCE DE GRAINES ET PLANTULES RECOLTEES EN FORET ; H, INCLINAISON AVEC TUTEUR DE PLUS DE 400 PETITS ARBRES EN SERRE. SOURCE PHOTOGRAPHIQUE : A, AMRA ŠECEROVIC ; B,C, OLIVIER ARNOULD ; D,E,G,H, BARBARA GHISLAIN ; F, BRUNO CLAIR. 54
- FIGURE 21. SCHEMA DU PROTOCOLE DE « RAPID FREEZE AND DEEP ETCHING » (RFDE) UTILISE, MODIFIE D'APRES SHOTTON (2006). LES ETAPES DU PROTOCOLE QUI ONT ETE MODIFIEES SONT DECRITES EN GRAS. LES REGLAGES INDIQUES EN ROUGES ONT ETE SUIVIS (FUJINO & ITOH 1994; NAKASHIMA *ET AL.* 1997; HAFREN *ET AL.* 1999). 58
- FIGURE 22. REPRESENTATION SCHEMATIQUE D'UN ESSAI DE FLEXION SUR UN TRONÇON DE TIGE DE 20 CM. L_F , LONGUEUR ENTRE LES BRAS INTERNES ET L_A , LONGUEUR ENTRE LES BRAS EXTERNES. 61
- FIGURE 23. A, REPRESENTATION SCHEMATIQUE D'UN ESSAI EN FLEXION SUR UN SEGMENT HETEROGENE. B, REPRESENTATION SCHEMATIQUE D'UNE SECTION HETEROGENE AVEC QUATRE ZONES : ECORCE DE TENSION, ECORCE OPPOSEE, BOIS DE TENSION ET BOIS OPPOSE. E_T , DEFORMATION SUR LE COTE TENSION ; E_O , DEFORMATION SUR LE COTE OPPOSE ; D, DIAMETRE DE LA SECTION ; X^* , CENTRE DE FLEXION DE L'ESSAI AVEC OU SANS ECORCE ; X, CENTRE DE GRAVITE D'UNE ZONE ; S, SURFACE D'UNE ZONE ; I, INERTIE D'UNE ZONE. 62
- FIGURE 24. PROTOCOLE ALTERNATIF DE MESURE DE MODULE. LA FORCE APPLIQUEE EST CALCULEE SELON LE VOLUME D'EAU RAJOUTE ET DE LA GRAVITE. DES MORCEAUX DE TUYAU METALLIQUE EVITENT LA DETERIORATION DE L'ECHANTILLON AUX APPUIS. 64
- FIGURE 25. MODULE DE L'ECORCE DE TENSION (ETB) EN FONCTION DU MODULE DE L'ECORCE NORMALE (ENB). 65
- FIGURE 26. REPRESENTATION SCHEMATIQUE D'UN DOUBLE ESSAI DE FLEXION, DANS UN SENS PUIS DANS L'AUTRE. E_A , DEFORMATION LONGITUDINALE SUR LE COTE A ET E_B , DEFORMATION LONGITUDINALE SUR LE COTE B. LA DROITE GRISE REPRESENTE UN MATERIAU DONT LA LIGNE NEUTRE EST STABLE DURANT LE DOUBLE ESSAI. LA DROITE EN POINTILLE REPRESENTE UN MATERIAU AYANT DEPASSE LE DOMAINE ELASTIQUE ET DONT LA LIGNE NEUTRE VARIE AU COURS DE L'ESSAI. 66
- FIGURE 27. COMPARAISON DE LA VARIATION DE COURBURE MESUREE SUR PHOTOGRAPHIE (DELTA C MESUREE) ET DE CELLE ESTIMEE SELON LES JAUGES DE DEFORMATIONS (DELTA C CALCULEE DES JAUGES). LE BOIS EST REPRESENTE PAR DES SYMBOLES PLEIN ET L'ECORCE PAR DES SYMBOLES VIDES. LA DROITE EN POINTILLES REPRESENTE LA DROITE $y=x$ 66

FIGURE 28. REPRESENTATIONS OF A GROWING STEM SECTION. (A) SECTION OF ANY SHAPE WITH BILATERAL SYMMETRY. THE INITIAL SECTION IS S AND THE SECTION INCREMENT IS δS . VARIATION IN GREY LEVEL REPRESENT ANY VARIATIONS IN MECHANICAL PROPERTIES AROUND THE CIRCUMFERENCE OF THE SECTION. TISSUES WITH LARGER TENSION ON THE RIGHT SIDE GENERATE A BENDING MOMENT δM WHOSE SIGN IS INDICATED ON THE FIGURE. (A) REPRESENTATION WITH CIRCULAR SHAPE AND SINE VARIATIONS IN MATERIAL PROPERTIES. THE INITIAL SECTION HAS DIAMETER D AND THE NEWLY GROWN RING $D + \delta D$. THE GROWTH RING IS SUPPOSED ECCENTRIC AND THE RING THICKNESS AT ANGLE θ IS $\delta R(\theta)$. VARIATION IN GREY LEVEL REPRESENT SINE VARIATIONS IN MECHANICAL PROPERTIES AROUND THE CIRCUMFERENCE OF THE SECTION. (C) REPRESENTATION WITH CIRCULAR SHAPE, STEP VARIATIONS IN MATERIAL PROPERTIES AND ECCENTRIC GROWTH RING. GREY AREA REPRESENTS THE SECTOR OF REACTION WOOD (HERE TENSION WOOD), WITH ANGULAR EXTENSION β AND SPECIFIC MECHANICAL PROPERTIES.	72
FIGURE 29. RESULTS OF THE PARAMETRIC STUDY. RESULTS ARE GIVEN FOR THE TWO REPRESENTATIONS (STEP MODEL AND SINE MODEL) AND FOR THE TWO CASES (FREE UP-RIGHTING AND RESTRAINED REACTION). VERTICAL LINES INDICATES THE CENTRAL VALUE USED WHEN VARYING OTHER PARAMETERS.	81
FIGURE 30. ILLUSTRATION OF THE TREE REACTION. LEFT: STEM TIED TO A POLE THAT HAS GROWN TILTED. RIGHT: SPRING-BACK MOVEMENT AFTER RELEASING THE STEM FROM THE POLE.....	83
FIGURE 31. PARAMETER DESCRIBING SECTION'S MORPHOLOGY. D_0 : INITIAL WOOD DIAMETER; D_1 : FINAL WOOD DIAMETER; D_F : DIAMETER OF THE PITH; x_0 : POSITION OF THE CENTRE OF THE FINAL WOOD SECTION RELATIVE TO THE PITH; B : EXTENSION OF THE TENSION WOOD SECTOR.....	84
FIGURE 32. SUPPRESSION OF DIMENSIONAL EFFECTS BY THE MODEL: THE CHANGE IN CURVATURE IS STRONGLY CORRELATED TO INITIAL DIAMETER AND SLIGHTLY CORRELATED WITH RELATIVE GROWTH INCREMENT. COMPUTATION OF TENSION WOOD MATURATION STRAIN SUPPRESSES THESE CORRELATIONS.	86
FIGURE 33. COMPARISON OF NORMAL WOOD (A, C, E, G) AND TENSION WOOD (B, D, F, H) FIBRE WALL IN <i>POPULUS</i> (A–D) AND <i>LAETIA PROCERA</i> (E–H) OBSERVED IN BRIGHT FIELD AFTER STAINING WITH SAFRANIN/ALCIAN BLUE, SCALE BAR = 20 μM (A, B, E, F) AND WITH A 3D LASER SCANNING CONFOCAL MICROSCOPE, SCALE BAR = 10 μM (C, D, G, H). <i>POPULUS</i> TENSION WOOD IS CHARACTERIZED BY A TYPICAL UNLIGNIFIED G-LAYER AND <i>LAETIA</i> TENSION WOOD BY A MULTILAYERED G-LAYER. ARROWS INDICATE THE G-LAYER AND/OR ITS THICKNESS (G) AND AN ARTEFACT OF RESIDUAL TRACES OF THE DIAMOND KNIFE (K).....	95
FIGURE 34. TRANSVERSE SECTIONS OF TENSION WOOD FIBRES OBSERVED WITH A 3D LASER SCANNING CONFOCAL MICROSCOPE. SCALE BAR = 10 μM . A, B, ACHARIACEAE; C, GOUPIACEAE; D, LACISTEMATACEAE; E–R, SALICACEAE S.L. A, <i>CARPOTROCHE</i> SP.; B, <i>KIGGELARIA AFRICANA</i> ; C, <i>GOUPIA</i> SP.; D, <i>LACISTEMA AGGREGATUM</i> ; E, <i>IDESIA POLYCARPA</i> (SAMPLED IN AN ARTIFICIALLY TILTED TREE); F, <i>POPULUS ALBA</i> (THICK S ₂ LAYER); G, <i>SALIX LUCIDA</i> ; H, <i>AZARA DENTATA</i> ; I, <i>BANARA GUIANENSIS</i> ; J, <i>CARRIEREA CALYCINA</i> ; K, <i>CASEARIA</i> CF. <i>DECANDRA</i> ; L, <i>DOVYALIS CAFFRA</i> ; M, <i>HOMALIUM GUIANENSE</i> ; N, <i>LAETIA PROCERA</i> ; O, <i>NEOPTYCHOCARPUS APODANTHUS</i> ; P, <i>POLIOTHYRSIS SINENSIS</i> ; Q, <i>RYANIA SPECIOSA</i> ; R, <i>XYLOSMA BENTHAMII</i> . A–G, ONE LAYER OBSERVED IN THE G-LAYER; H–R, MORE THAN TWO LAYERS OBSERVED IN THE G-LAYER.....	102
FIGURE 35. TRANSVERSE SECTIONS OF OPPOSITE WOOD (A, C, E, G, I, K) AND TENSION WOOD (B, D, F, H, J, L) STAINED WITH SAFRANIN/ALCIAN BLUE. SCALE BAR = 20 μM . A, B, ACHARIACEAE; C–L, SALICACEAE S.L. A, B, <i>CARPOTROCHE</i> SP.; C, D, <i>BANARA GUIANENSIS</i> ; E, F, <i>CARRIEREA CALYCINA</i> ; G, H, <i>IDESIA POLYCARPA</i> (SAMPLED IN A NATURALLY TILTED TREE); I, J, <i>LAETIA PROCERA</i> ; K, L, <i>SALIX LUCIDA</i> . H, L, ONE LAYER OBSERVED IN THE G-LAYER; B, D, F, J, MORE THAN TWO LAYERS OBSERVED IN THE G-LAYER. NOTE THE PRESENCE OF LIGNIN IN THE G-LAYER.	103
FIGURE 36. SCHEMATIC REPRESENTATION OF PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS IN SALICACEAE S.L., BASED ON CHASE ET AL. (2002) AND ALFORD (2005). ARROW SHOWS IMMEDIATE RELATIVES OF <i>SALIX</i> AND <i>POPULUS</i> ACCORDING TO ALFORD (2005). STUDIED SPECIES AND SPECIES FROM THE LITERATURE ARE GIVEN IN BLACK. SPECIES WITH MULTILAYERED TENSION WOOD ARE UNDERLINED.	105
FIGURE 37. TRANSVERSE SECTIONS OF TENSION WOOD FIBRES OBSERVED WITH 3D LASER SCANNING CONFOCAL MICROSCOPE. SCALE BAR = 10 μM . A,B, LACISTEMATACEAE; C–S, SALICACEAE S.L. A, <i>LACISTEMA PUBESCENS</i> ; B, <i>LACISTEMA</i> SP (THICK S ₂ LAYER), C: <i>IDESIA POLYCARPA</i> (SAMPLED IN A NATURALLY TILTED TREE); D: <i>POPULUS NIGRA (ITALICA)</i> ; E, <i>P. TRICHOCARPA</i> ; F, <i>P. DELTOIDES</i> ×	

NIGRA (THICK S₂ LAYER); G, *SALIX MYRSINIFOLIA*; H, *S. PURPUREA* (THICK S₂ LAYER); I, *CASEARIA COMMERSONIANA*; J, *C. GRANDIFLORA*; K, *C. GUIANENSIS*; L, *C. JAVITENSIS*; M, *C. PITUMBA*; N, *C. SYLVESTRIS*; O, *HOMALIUM RACEMOSUM*; P, *RYANIA SPECIOSA* VAR. *BICOLOR*; Q, *XYLOSMA CONGESTA*; R, *X. FLEXUOSA*; S, *X. JAPONICA*. A-H, ONE LAYER OBSERVED IN THE G-LAYER; I-R, MORE THAN TWO LAYERS OBSERVED IN THE G-LAYER. 107

- FIGURE 38. COMPARISON OF A SECTION OF TENSION WOOD (A, B AND C) AND OF NORMAL WOOD (D) OF *BROSIMUM RUBESCENS*. A, B: 2 μm THIN SECTION WITHOUT STAIN OBSERVED BOTH WITH BRIGHT FIELD (A) AND UNDER UV LIGHT (B). C, D: SEMI-THIN SECTION OF 20-50 μm THICKNESS STAINED WITH SAFRANIN AND ASTRA BLUE. CAMBIUM IS LOCATED ON THE LEFT. CELL WALL THICKNESS (A) AND LIGNIN AUTOFLUORESCENCE (B) ALLOW TO DETECT ENTIRELY LIGNIFIED G-LAYERS (A), PARTLY LIGNIFIED G-LAYERS (B) AND UNLIGNIFIED G-LAYERS (C). AS THE STAINED SECTION IS THICKER (C) IT DOES NOT ALLOW LOCATING LIGNIN IN THE G-LAYER AS PRECISELY BUT GIVES INFORMATION ON THE VARIABILITY OF THE AMOUNT OF LIGNIN IN G-LAYERS. 113
- FIGURE 39. PATTERNS OF LIGNIFICATION OF THE G-LAYERS IN TENSION WOOD. TENSION WOOD (LEFT) AND OPPOSITE WOOD (RIGHT) OF *HEVEA GUIANENSIS* (A), *MACROLOBIUM BIFOLIUM* (B), *PROTIUM GUIANENSE* (C), *MANILKARA BIDENTATA* (D), *GUAREA GUIDONIA* (E), *LICANIA MACROPHYLLA* (F), *SEXTONIA RUBRA* (G), *EPERUA GRANDIFLORA* (H), *LACISTEMA GRANDIFOLIUM* (I), *TACHIGALI MELINONII* (J). G-LAYERS ARE EITHER UNLIGNIFIED (A-C), LIGNIFIED (D-F) OR IN BETWEEN (G-J). CAMBIUM IS LOCATED ON THE RIGHT. 114
- FIGURE 40. LIGNIFICATION OCCURRENCE DURING CELL MATURATION IN G-LAYERS: EITHER AFTER G-LAYER THICKENING WAS COMPLETED (A) OR DURING G-LAYER THICKENING (B). TENSION WOOD (LEFT) AND OPPOSITE WOOD (RIGHT) OF *OCOTEA PERCURRENS* (A) AND *CUPANIA SCROBICULATA* (B). CAMBIUM IS LOCATED ON THE RIGHT. 115
- FIGURE 41. SWOLLEN ASPECT OF THE LIGNIFIED G-LAYER, DETACHED FROM THE S₂ LAYER (A) COMPARED TO NORMAL WOOD FIBRES (B). TENSION WOOD (A) AND OPPOSITE WOOD (B) OF *DICORYNIA GUIANENSIS*. NOTE THE DIFFERENCE IN STAIN BETWEEN THE G-LAYER (A; DEEP RED) AND S₂ LAYER OF NORMAL WOOD FIBRES (B; PINK-RED) WITHIN A SINGLE WOOD SECTION. 116
- FIGURE 42. MULTILAYERED G-LAYER OF *LAETIA PROCERA* ON 2 μm THIN SECTION WITHOUT STAIN OBSERVED BOTH WITH UV LIGHT (LEFT) AND BRIGHT FIELD (RIGHT). MULTI-LAYERED G-LAYERS DURING CELL WALL MATURATION (A) AND AFTER THE END OF CELL WALL THICKENING (B). NOTE THE THIN LIGNIFIED LAYERS DIVIDING THE G-LAYER. UNCONTINUOUS THIN LIGNIFIED LAYER, FOR EXAMPLE OBSERVED ON THE RIGHT CELL OF B, IS DUE TO PHOTOGRAPH STACKING RECONSTRUCTION. 116
- FIGURE 43. PROGRESSIVE BI-LAYERING OF THE G-LAYER IN *DENDROBANGIA BOLIVIANA*. CAMBIUM IS LOCATED FARER ON THE RIGHT (NOT VISIBLE). PROGRESSIVE BI-LAYERING OCCUR WITH A CHANGE OF LIGNIFICATION IN THIS SPECIES. 117
- FIGURE 44. TRANSVERSE SECTION OF TRANSITION BETWEEN NORMAL WOOD AND TENSION WOOD (A, D, G) AND TANGENTIAL SECTION OF OPPOSITE WOOD (B,E,H) AND TENSION WOOD (C, F, I) OF ARTIFICIALLY STAKED TILTED SEEDLINGS OF *PACHIRA AQUATICA* (A-C), *THEOBROMA CACAO* (D-F) AND *THEOBROMA GRANDIFLORUM* (G-I). NOTE FIBRES ARE ALMOST ABSENT IN TENSION WOOD COMPARED TO NORMAL OR OPPOSITE WOOD (PHOTOS H. MOREL). 118
- FIGURE 45. CHANGE IN ANATOMICAL GROUP DURING ONTOGENY. REPARTITION BETWEEN ANATOMICAL GROUPS WITH OR WITHOUT G-LAYERS (LEFT) AND BETWEEN ANATOMICAL GROUPS OF G-LAYERS WITH DIFFERENCE IN G-LAYER LIGNIFICATION (RIGHT) BETWEEN JUVENILE TREES AND ADULT TREES. P-VALUE OF CHI-SQUARE TEST IS INDICATED (NS, $P>0.05$; *, $P<0.05$; **, $P<0.01$; ***, $P<0.001$). 120
- FIGURE 46. REPARTITION OF ANATOMICAL GROUP WITH G-LAYERS OF JUVENILE TREES SAMPLED IN CONTRASTED WATERLOGGING CONDITIONS. SAMPLES FROM BOTTOMLAND ARE IN HIGH WATERLOGGING CONDITION AND THOSE FROM HILLTOP OR SLOPES ARE IN LOW WATERLOGGING CONDITIONS. P-VALUE OF CHI-SQUARE TEST IS INDICATED (NS, $P>0.05$; *, $P<0.05$; **, $P<0.01$; ***, $P<0.001$). 121
- FIGURE 47. REPARTITION OF ANATOMICAL GROUP WITH OR WITHOUT G-LAYERS BETWEEN SPECIES TEMPERAMENT ON MERGED ADULT AND JUVENILE DATASET. P-VALUE OF CHI-SQUARE TEST IS INDICATED (NS, $P>0.05$; *, $P<0.05$; **, $P<0.01$; ***, $P<0.001$). 122

FIGURE 48. REPARTITION OF ANATOMICAL GROUP WITH G-LAYERS BETWEEN SPECIES TEMPERAMENT ON MERGED ADULT AND JUVENILE DATASET (LEFT), ON JUVENILE TREES ONLY (MIDDLE) AND ON ADULT TREES ONLY (RIGHT). P-VALUE OF CHI-SQUARE TEST IS INDICATED (NS, $P>0.05$; * , $P<0.05$; ** , $P<0.01$; *** , $P<0.001$).....	122
FIGURE 49. REPARTITION OF ANATOMICAL GROUP WITH OR WITHOUT G-LAYERS BETWEEN SPECIES WOOD DENSITY AT 12% (D12) ON MERGED ADULT AND JUVENILE DATASET. P-VALUE OF CHI-SQUARE TEST IS INDICATED (NS, $P>0.05$; * , $P<0.05$; ** , $P<0.01$; *** , $P<0.001$).	123
FIGURE 50. REPARTITION OF ANATOMICAL GROUP WITH G-LAYERS BETWEEN SPECIES WOOD DENSITY AT 12% (D12) ON MERGED ADULT AND JUVENILE DATASET (LEFT), ON JUVENILE TREES ONLY (MIDDLE) AND ON ADULT TREES ONLY (RIGHT). P-VALUE OF CHI-SQUARE TEST IS INDICATED (NS, $P>0.05$; * , $P<0.05$; ** , $P<0.01$; *** , $P<0.001$).....	123
FIGURE 51. REPARTITION DES GROUPES ANATOMIQUES AVEC ET SANS COUCHE G EN FONCTION DU DIAMETRE TANGENTIEL MEDIAN DES VAISSEAUX DU BOIS NORMAL, SUR LA BASE DE DONNEE REGROUPANT LES BOIS DE TENSION DES JUVENILES ET DES ADULTES. LA P-VALUE DU TEST CHI-CARRE EST INDIQUE (NS, NON SIGNIFICATIF ; * , $P<0,05$; ** , $P<0,01$; *** , $P<0,001$).....	126
FIGURE 52. REPARTITION DES GROUPES ANATOMIQUES A COUCHE G EN FONCTION DU DIAMETRE TANGENTIEL MEDIAN DES VAISSEAUX DU BOIS NORMAL, SUR LA BASE DE DONNEE REGROUPANT LES BOIS DE TENSION DES JUVENILES ET DES ADULTES (A GAUCHE), SUR LES ARBRES JUVENILES UNIQUEMENT (AU MILIEU) ET SUR LES ARBRES ADULTES UNIQUEMENT (A DROITE). LA P-VALUE DU TEST CHI-CARRE EST INDIQUE (NS, NON SIGNIFICATIF ; * , $P<0,05$; ** , $P<0,01$; *** , $P<0,001$).....	126
FIGURE 53. REPARTITION DES GROUPES ANATOMIQUES AVEC ET SANS COUCHE G EN FONCTION DE LA FREQUENCE DES VAISSEAUX DU BOIS NORMAL, SUR LA BASE DE DONNEE REGROUPANT LES BOIS DE TENSION DES JUVENILES ET DES ADULTES. LA P-VALUE DU TEST CHI-CARRE EST INDIQUE (NS, NON SIGNIFICATIF ; * , $P<0,05$; ** , $P<0,01$; *** , $P<0,001$).	126
FIGURE 54. REPARTITION DES GROUPES ANATOMIQUES A COUCHE G EN FONCTION DE LA FREQUENCE DES VAISSEAUX DU BOIS NORMAL, SUR LA BASE DE DONNEE UNIFIANT LES BOIS DE TENSION DES JUVENILES ET DES ADULTES (A GAUCHE), SUR LES ARBRES JUVENILES UNIQUEMENT (AU MILIEU) ET SUR LES ARBRES ADULTES UNIQUEMENT (A DROITE). LA P-VALUE DU TEST CHI-CARRE EST INDIQUE (NS, NON SIGNIFICATIF ; * , $P<0,05$; ** , $P<0,01$; *** , $P<0,001$).	127
FIGURE 55. COMPARAISON DU DIAMETRE TANGENTIEL (A GAUCHE), DU DIAMETRE RADIAL (AU MILIEU) ET DE LA SURFACE (A DROITE) DES PARENCHYMES AXIAUX DU BOIS OPPOSE (OW) A CEUX DU BOIS DE TENSION (TW) MESURES SUR UN INDIVIDU DE <i>PACHIRA AQUATICA</i> INCLINE ET TUTEURE A 45° EN SERRE. LA P-VALUE DU TEST KRUSKAL-WALLIS DE COMPARAISON DES MOYENNES EST INDIQUE (NS, NON SIGNIFICATIF ; * , $P<0,05$; ** , $P<0,01$; *** , $P<0,001$).	127
FIGURE 56. ZONE DE BOIS FINAL DE BOIS DE TENSION DE <i>POPULUS DELTOIDES</i> X <i>NIGRA</i> AYANT Pousse EN MILIEU TEMPERE (DOMAINE MASPIQUET, LYCEE AGROPOLIS MONTPELLIER, GRABELS, FRANCE). LA COUCHE G SEMBLE CONTENIR DES TRACES DE LIGNINE.	128
FIGURE 57. ZONE DE TRANSITION ENTRE LE BOIS NORMAL (A GAUCHE) ET LE BOIS DE TENSION (A DROITE) DE <i>LAETIA PROCERA</i> , UNE ESPECE AYANT DES COUCHE G MULTICOUCHE DANS SON BOIS DE TENSION, OBSERVEE SUR COUPE FINE SANS COLORATION GRACE A L'AUTOFLUORESCENCE DES LIGNINES A L'UV. UN ANNEAU EPAIS DE LIGNIFICATION EST OBSERVE VERS LE LUMEN DURANT LA ZONE DE TRANSITION.	129
FIGURE 58. MODELE DE GENERATION DE LA CONTRAINTE DE TENSION AU TRAVERS DE LA PRESSION DE GONFLEMENT DE LA MATRICE GELATINEUSE A L'INTERIEUR DU RESEAU DE MICROFIBRILLES DE CELLULOSE (CHANG <i>ET AL.</i> 2015).	130
FIGURE 59. OBSERVATION D'UNE COUPE RADIALE DE <i>POPULUS CAROLINENSIS</i> X <i>NIGRA</i> I-214 PENDANT LA MATURATION CELLULAIRE EN FE-SEM. LE CAMBIUM SE TROUVE DU COTE GAUCHE. L'ANGLE DES MICROFIBRILLES DE CELLULOSE PASSE SANS TRANSITIONS DE 35° DANS LA S ₂ A 0° DANS LA COUCHE G.	132
FIGURE 60. OBSERVATION D'UNE COUPE RADIALE DE <i>LAETIA PROCERA</i> PENDANT LA MATURATION CELLULAIRE EN FE-SEM. LE CAMBIUM SE TROUVE DU COTE GAUCHE. APPARITION SOUDAINNE DE LA COUCHE G (AU MILIEU ET A DROITE), APRES CE QUI SEMBLE ETRE LA PAROI PRIMAIRE (A GAUCHE).	132
FIGURE 61. OBSERVATION D'UNE COUPE RADIALE DE <i>SIMAROUBA AMARA</i> PENDANT LA MATURATION CELLULAIRE EN FE-SEM. L'ANGLE DES MICROFIBRILLES DE CELLULOSE PASSE PROGRESSIVEMENT	

DE 34° DANS LA S ₂ ET DE 0° DANS LA COUCHE G. LE RESEAU DE MICROFIBRILLES DE CELLULE EST MASQUE PAR LA LIGNIFICATION DANS LA COUCHE G MATURE.	132
FIGURE 62. OBSERVATION D'UNE COUPE RADIALE DE <i>LAETIA PROCERA</i> PENDANT LA MATURATION CELLULAIRE EN FE-SEM. OBSERVATION DU RESEAU DE MICROFIBRILLES DE CELLULOSE PENDANT LA MATURATION, SELON DE NOMBRE DE COUCHE DES COUCHE G MULTICOUCHE (NOMBRE N NOTE G _N). G _{MATURE} INDIQUE LA FIBRE ARRIVEE A MATURATION AVEC UNE COUCHE G LIGNIFIEE.	133
FIGURE 63. ANGLE DES MICROFIBRILLES DE CELLULOSE (MFA) MESUREES PAR DIFFRACTION AU RAYON X SUR DU BOIS DE TENSION (TW) ET DU BOIS OPPOSE (OW) DE 21 ESPECES SUR ARBRES ADULTES (CERCLES) ET SUR DES ARBRES INCLINES ET TUTEURES EN SERRE (CARRES) LA DROITE EN POINTILLES REPRESENTE LA DROITE Y=X.	134
FIGURE 64. ANGLE DES MICROFIBRILLES DE CELLULOSE (MFA) MESUREES PAR DIFFRACTION AU RAYON X SUR DU BOIS DE TENSION (TW) ET DU BOIS OPPOSE (OW) DE <i>PACHIRA AQUATICA</i> (CARRE NOIR), <i>VIOLA MICHELII</i> (LOSANGE NOIR), <i>CECROPIA PALMATA</i> (CERCLE BLEU), <i>BANARA GUIANENSIS</i> (CARRE ROSE), <i>LAETIA PROCERA</i> (TRIANGLE ROSE) ET <i>SIMAROUBA AMARA</i> (LOSANGE ROSE) INCLINES TUTEURES EN SERRE. LA DROITE EN POINTILLES REPRESENTE LA DROITE Y=X.	136
FIGURE 65. SCHEMATIC REPRESENTATION OF MEASUREMENT OF THE CHANGE IN CURVATURE DURING DEBARKING. A IS THE ANGLE BETWEEN THE LINES JOINING TWO MARKS ONE ON THE LEFT AND ONE ON THE RIGHT SIDES. THE CHANGE IN A WHEN THE BARK WAS REMOVED FROM A SEGMENT OF LENGTH L IS RELATED TO THE CHANGE IN CURVATURE: $\Delta C = (A_f - A_i) / L$	141
FIGURE 66. SCHEMATIC REPRESENTATION OF THE POSITION OF THE SECTIONS. A, CROSS SECTION IN SEEDLING STEMS AND B, LONGITUDINAL – TANGENTIAL SECTIONS IN THE PHLOEM OF ADULT TREES (1) NEAR THE CAMBIUM, (2) IN THE MIDDLE OF THE PHLOEM AND (3) NEAR THE SUBER. LONGITUDINAL – TANGENTIAL SECTIONS WERE MADE ON LARGE DIAMETER TREES TO MINIMISE THE CURVATURE OF THE TANGENTIAL PLANE AND TO ENABLE ACCESS TO THICK BARK, WHICH MADE IT POSSIBLE TO OBTAIN SEVERAL SECTIONS WITHIN THE THICKNESS OF THE BARK.	143
FIGURE 67. PHOTOGRAPHS AND SCHEMATICS OF THE BENDING OF THE STEM DURING THE EXPERIMENT. A. EXAMPLE OF A SAPLING BEFORE (A1) AND AFTER (A2) RELEASE FROM THE POLE. B. PHOTOGRAPH OF A STEM SEGMENT BEFORE (B1) AND AFTER (B2) DEBARKING. C. SCHEMATICS OF BENDING AT EACH STEP: IN ALL TREES, RELEASE FROM THE POLE LED TO POSITIVE CURVATURE CHANGE (C2). LATER WHEN THE BARK WAS REMOVED, CURVATURE EITHER DECREASED (C3), REMAINED STABLE (C4) OR INCREASED (C5).	144
FIGURE 68. BARK EFFICIENCY INDEX (STANDARDISED CHANGE IN CURVATURE FOLLOWING DEBARKING) IN THE 5 SPECIES. A NEGATIVE CHANGE SHOWS THAT THE BARK CONTRIBUTED TO THE STEM BENDING. A POSITIVE CHANGE IN CURVATURE AFTER THE BARK WAS REMOVED SHOWS THAT THE BARK PARTIALLY IMPEDED STEM UP-RIGHTING FORCES. ABSENCE OF ADDITIONAL CURVATURE DURING DEBARKING SHOWS THAT BOTH WOOD AND BARK INFLUENCE THE BENDING OF THE STEM IN A SIMILAR WAY. * INDICATES THE SIGNIFICANCE DIFFERENCE TO ZERO AT P = 5 %.	145
FIGURE 69. DIFFERENTIAL LONGITUDINAL RELEASED STRAINS BETWEEN THE UPPER AND LOWER SIDES OF THE TILTED STEM: A. IN WOOD. THE ABSENCE OF POSITIVE VALUES CONFIRMS THAT THE WOOD DIFFERENTIAL STRESS IS A MECHANISM SHARED BY ALL SPECIES. B. IN BARK. * INDICATES THE SIGNIFICANCE DIFFERENCE TO ZERO AT P = 5 %.	145
FIGURE 70. CELL ORGANISATION IN WOOD AND BARK OF <i>PACHIRA AQUATICA</i> AND <i>LAETIA PROCERA</i> . 1- FULL CROSS SECTION OF A YOUNG STEM. THE TOP OF THE SECTION CORRESPONDS TO THE UPPER SIDE OF THE TILTED STEM, WHERE TENSILE STRESS IS GENERATED TO BEND THE STEM UPWARD. 2- DETAIL OF THE UPPER SIDE OF THE STEM, INCLUDING WOOD (BOTTOM) AND BARK (TOP), SEPARATED BY THE CAMBIUM. 3- DETAIL OF THE LOWER SIDE OF THE TILTED STEM INCLUDING BARK (BOTTOM) AND WOOD (TOP). 4-6 - LONGITUDINAL SECTIONS OF THE PHLOEM (INNER BARK) OF A LARGER TREE AT INCREASING DISTANCES FROM THE CAMBIUM. SCALE BARS: 1 MM. THE PHLOEM FIBRE NETWORK IS WELL ORGANISED IN <i>PACHIRA</i> AND NEARLY ABSENT IN <i>LAETIA</i> . CONVERSELY IN <i>LAETIA</i> , PHLOEM SHOWS NUMEROUS SCLEREIDS, WHICH ARE ABSENT IN <i>PACHIRA</i>	147
FIGURE 71. SCHEMATICS OF THE CHANGE IN CURVATURE INDUCED BY THE WOOD RADIAL GROWTH ON ONE SIDE OF THE STEM. WOOD RADIAL GROWTH (1) LEADS TO TANGENTIAL EXTENSION OF THE BARK (2) CAUSING LONGITUDINAL SHORTENING OF THE TRELLIS (3). DIFFERENTIAL GROWTH ON THE TWO SIDES OF THE AXIS LEADS TO DIFFERENTIAL SHORTENING AND THEREFORE BENDING OF THE STEM.	148

- FIGURE 72. BARK OF *GOUPIA GLABRA* AFTER PEELING OF THE EXTERNAL PART (SUBER). A. WRINKLED SURFACE ON THE UPPER SIDE OF THE TILTED STEM, TRACE OF THE COMPRESSION EXERTED BY THE WOOD ON THE BARK. B. SMOOTH SURFACE ON THE LOWER SIDE, CONSEQUENCE OF THE PULL EXERTED ON THE LOWER SIDE BY THE CURVING WOOD CORE..... 151
- FIGURE 73. CELL ORGANISATION IN THE WOOD AND BARK OF *CECROPIA PALMATA*, *GOUPIA GLABRA*, *SIMAROUBA AMARA* AND *VIROLA MELINONII*. 1- FULL CROSS SECTION OF A YOUNG STEM. THE TOP OF THE SECTION CORRESPONDS TO THE UPPER SIDE OF THE TILTED STEM WHERE TENSILE STRESS IS GENERATED TO BEND IT UPWARD. 2- DETAIL OF THE UPPER SIDE OF THE STEM, INCLUDING WOOD (BOTTOM) AND BARK (TOP), SEPARATED BY THE CAMBIUM. 3- DETAIL OF THE LOWER SIDE OF THE TILTED STEM INCLUDING BARK (BOTTOM) AND WOOD (TOP). 4-6. LONGITUDINAL SECTIONS OF THE PHLOEM (INNER BARK) OF A LARGE TREE MADE AT INCREASING DISTANCE FROM THE CAMBIUM. SCALE BARS: 1 MM. THE PHLOEM FIBRE NETWORK IS WELL ORGANISED IN *VIROLA* AND IN *PACHIRA* BUT NEARLY ABSENT IN *GOUPIA* AND IN *LAETIA*. IN *SIMAROUBA* AND *CECROPIA*, AN ORGANISED NETWORK IS VISIBLE NEAR THE CAMBIUM, THEN ENLARGES WITH THE DILATION OF THE PARENCHYMA BUT THE NETWORK TENDS TO BREAK AT A GREATER DISTANCE FROM THE CAMBIUM. *CECROPIA* IS CHARACTERISED BY VERY THICK PITH, WHICH IS PARTLY RESPONSIBLE FOR THE HIGH *BARK EFFICIENCY INDEXES* SHOWN IN FIG. 2. CROSS SECTION OF *GOUPIA* SEEDLINGS IS SHOWN AS ILLUSTRATION, BUT *BARK EFFICIENCY INDEXES* WERE NOT MEASURED ON *GOUPIA* SEEDLINGS. ... 152
- FIGURE 74. SCHEMATICS OF THE 3D ORGANISATION OF TISSUES IN A GROWING STEM OF *PACHIRA*. BOTH XYLEM AND PHLOEM CELLS ARE PRODUCED BY THE SAME MOTHER CELLS IN THE CAMBIUM THAT CAN DIVIDE EITHER ON THE WOOD SIDE OR ON THE BARK SIDE. THEN DURING STEM GROWTH, THE SISTER CELLS ARE SEPARATED BY THE NEWLY PRODUCED CELLS. TENSILE STRESS IN PHLOEM IS GENERATED BY RADIAL GROWTH OF THE XYLEM PUSHING THE PHLOEM OUTWARDS, THEREBY INDUCING TENSILE TANGENTIAL STRESS, WHICH IS TRANSMITTED IN THE AXIAL DIRECTION BY THE TRELLIS ORGANISATION OF THE PHLOEM FIBRES. T₁: EARLY STAGE DURING GROWTH, T₂: LATER STAGE. D_{XYL T1}: WOOD THICKNESS AT T₁, D_{PH T1}: BARK THICKNESS AT T₁. 152
- FIGURE 75. ANALOGY BETWEEN THE MECHANISMS GENERATING TENSILE STRESS IN TREES AT TWO DIFFERENT SCALES. A. IN THE GELATINOUS LAYER OF TENSION WOOD (AT THE NANOMETRIC SCALE) AND B. IN THE BARK OF *PACHIRA AQUATICA* (AT THE SUB-MILLIMETRE SCALE). CURRENT KNOWLEDGE OF THE MECHANISM ENABLING THE GELATINOUS LAYER TO GENERATE TENSILE STRESS (ALMERAS & CLAIR 2016) SUPPORTS THE HYPOTHESIS OF A MECHANISM BY WHICH THE SWELLING OF THE GELATINOUS MATRIX (CHANG *ET AL.* 2015) PUTS THE RIGID CELLULOSIC NETWORK INTO TENSILE STRESS (CLAIR *ET AL.* 2011) (CELLULOSE MICROFIBRIL AGGREGATES ARE 20 TO 40 NM THICK). IN THE BARK, THE MATRIX IS MADE OF PHLOEM PARENCHYMA CELLS AND THE NETWORK IS BUILT BY THE PHLOEM FIBRE BUNDLES (200-400 μM). HOWEVER THE ANALOGY IS LIMITED TO THE TRELLIS ORGANISATION OF THE FIBRE NETWORK, WHICH EFFICIENTLY REDIRECTS TRANSVERSE EXTENSION INTO LONGITUDINAL TENSION, BUT THE DRIVING FORCE IS DIFFERENT. 153
- FIGURE 76. PICTURE USED TO MEASURE CHANGE OF CURVATURE DUE TO THE RELEASE OF THE POLE (A,C) AND DUE TO DEBARKING (C,D) ON A 20 CM PORTION OF THE STEM. PICTURE B WAS USED TO CHECK UP-RIGHTING MOVEMENT FOLLOWING THE RELEASE OF THE POLE..... 161
- FIGURE 77. SCHEMATIC REPRESENTATION OF THE PARAMETERS DESCRIBING SECTION'S MORPHOLOGY. D₀: INITIAL WOOD DIAMETER; D₁: FINAL WOOD DIAMETER; D_F: PITH DIAMETER; T_{TW}: TENSION WOOD RING THICKNESS, T_{OW}: OPPOSITE WOOD RING THICKNESS, T_{TB}: TENSION BARK THICKNESS, T_{OB}: OPPOSITE BARK THICKNESS. 162
- FIGURE 78. ANATOMICAL GROUPS OF TENSION WOOD DEFINED FOR THIS STUDY. UNLIGNIFIED G-LAYER IN *CECROPIA PALMATA* (A), LIGNIFIED G-LAYER IN *SEXTONIA RUBRA* (B) AND NO G-LAYER IN *THEOBROMA GRANDIFLORUM*. SCALEBAR = 1 MM. 164
- FIGURE 79. INTER-SPECIFIC COMPARISON OF GRAVITROPIC EFFICIENCY. RESULT OF DUNN TEST IS INDICATED ABOVE BOXPLOTS, SAME LETTERS INDICATE NO SIGNIFICANT DIFFERENCE OF GRAVITROPIC EFFICIENCY BETWEEN SPECIES. ABBREVIATIONS OF SPECIES NAMES ARE INDICATED AS IN TABLE 11. COLOURS REPRESENT ANATOMICAL GROUP OF TENSION WOOD OF THE SPECIES. 165
- FIGURE 80. ANATOMICAL GROUPS COMPARISON OF THE GRAVITROPIC EFFICIENCY (GRAV. EFF.), BARK EFFICIENCY (BARK EFF.), WOOD EFFICIENCY (WOOD EFF.), WOOD ECCENTRICITY (WOOD ECC.) AND BARK ECCENTRICITY (BARK ECC.). LETTERS INDICATE RESULTS OF POST-HOC PAIRWISE COMPARISON

TEST: SAME LETTERS INDICATE THERE IS NO SIGNIFICANT DIFFERENCE BETWEEN ANATOMICAL GROUPS.....	166
FIGURE 81. WOOD EFFICIENCY OF FOUR SPECIES (<i>MACROLOBIUM BIFOLIUM</i> , <i>BAGASSA GUIANENSIS</i> , <i>EPERUA GRANDIFLORA</i> , <i>LAETIA PROCERA</i>) WITH INTRA-SPECIFIC VARIATIONS OF THE MAIN TREND IN G-LAYER LIGNIFICATION.	169
FIGURE 82. REGRESSION BETWEEN BARK EFFICIENCY AND WOOD EFFICIENCY.	170
FIGURE 83. REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA MESURE DU PARAMETRE DE L'ANGLE D'EXTENSION DU SECTEUR DE BOIS DE TENSION (B). ECHELLE = 1 MM.	172
FIGURE 84 COMPARAISON ENTRE LES GROUPES ANATOMIQUES DE LA VALEUR DE L'ANGLE D'EXTENSION DU SECTEUR DE BOIS DE TENSION (B). LES LETTRES INDIQUENT LE RESULTAT D'UN TEST POST-HOC DE COMPARAISON MULTIPLE : LES MEMES LETTRES INDIQUENT L'ABSENCE DE DIFFERENCE SIGNIFICATIVE ENTRE DEUX GROUPES ANATOMIQUES.	173
FIGURE 85. EVOLUTION DE L'INCREMENT MOYEN EN DIAMETRE MOYEN DE LA TIGE DEPUIS LA PREMIERE MESURE (DIAMETER INCREMENT), DE L'INDEX D'OVALISATION MOYEN DE LA SECTION (OVALISATION INDEX), DE L'INCREMENT MOYEN EN HAUTEUR MOYENNE DE LA TIGE DEPUIS LA PREMIERE MESURE (HEIGHT INCREMENT), NOMBRE MOYEN DE NOUVELLES FEUILLES APPARUES (NEW LEAVES) ET DE L'INDICE D'ELANCEMENT MOYEN DE LA TIGE (SLENDERNESS INDEX) EN FONCTION DU TEMPS D'INCLINAISON POUR <i>PACHIRA AQUATICA</i> (PA), <i>SIMAROUBA AMARA</i> (SA) ET <i>SEXTONIA RUBRA</i> (SR). LA DROITE EN POINTILLE INDIQUE LE JOUR DE L'INCLINAISON. LES INDIVIDUS TUTEURS DROIT SONT REPRESENTES EN GRIS ET LES INCLINES TUTEURS EN NOIR. L'ERREUR TYPE EST INDIQUEE.....	175
FIGURE 86. COMPARAISON DES MASSE SECHES A 103° DES RACINES, DE LA TIGES, DES FEUILLES MISES EN PLACE AVANT LE JOUR DE L'INCLINAISON (FEUILLES AVANT) ET DES FEUILLES MISES EN PLACE APRES LE JOUR DE L'INCLINAISON (FEUILLES APRES) POUR LES INDIVIDUS DROITS (D) ET INCLINES (I) DE <i>PACHIRA AQUATICA</i> (PA), <i>SIMAROUBA AMARA</i> (SA) ET <i>SEXTONIA RUBRA</i> (SR). LA P-VALUE DU TEST T DE STUDENT DE COMPARAISON DES MOYENNES ENTRE LES INDIVIDUS DROITS ET INCLINES EST INDIQUEE COMME SUIV : NS, $P > 0,05$; * , $P < 0,05$; ** , $P < 0,01$; *** , $P < 0,001$	176
FIGURE 87. COMPARAISON DES MASSE SECHES A 103° DE L'ENSEMBLE DE L'ARBRE CHEZ LES INDIVIDUS DROITS (D) ET LES INDIVIDUS INCLINES (I) DE <i>PACHIRA AQUATICA</i> (PA), <i>SIMAROUBA AMARA</i> (SA) ET <i>SEXTONIA RUBRA</i> (SR). LA P-VALUE DU TEST T DE STUDENT DE COMPARAISON DES MOYENNES ENTRE LES INDIVIDUS DROITS ET INCLINES EST INDIQUEE COMME SUIV : NS, $P > 0,05$; * , $P < 0,05$; ** , $P < 0,01$; *** , $P < 0,001$	177
FIGURE 88. COMPARAISON DE L'INFRADENSITE DU BOIS ET DE L'ECORCE POUR LES INDIVIDUS DROITS (D) ET INCLINES (I) DE <i>PACHIRA AQUATICA</i> (PA), <i>SIMAROUBA AMARA</i> (SA) ET <i>SEXTONIA RUBRA</i> (SR). LA P-VALUE DU TEST T DE STUDENT DE COMPARAISON DES MOYENNES ENTRE LES INDIVIDUS DROITS ET INCLINES EST INDIQUEE COMME SUIV : NS, $P > 0,05$; * , $P < 0,05$; ** , $P < 0,01$; *** , $P < 0,001$	178
FIGURE 89. RATIOS D'INFRADENSITE DE BOIS DE TENSION SUR BOIS OPPOSE (TW/OW) ET DE L'ECORCE DU COTE TENSION SUR L'ECORCE DU COTE OPPOSE (TB/OB) CHEZ <i>PACHIRA AQUATICA</i> (CARRE NOIR), <i>VIOLA MICHELII</i> (LOSANGE NOIR), <i>CECROPIA PALMATA</i> (CERCLE BLEU), <i>BANARA GUIANENSIS</i> (CARRE ROSE), <i>LAETIA PROCERA</i> (TRIANGLE ROSE) ET <i>SIMAROUBA AMARA</i> (LOSANGE ROSE) INCLINES ET TUTEURS EN SERRE. LA DROITE X=Y EST REPRESENTEE EN TRAIT NOIR.	180
FIGURE 90. RATIOS ECORCE SUR BOIS DE L'INFRADENSITE DU COTE TENSION (TB/TW) ET DU COTE OPPOSE (OB/OW) CHEZ <i>PACHIRA AQUATICA</i> (CARRE NOIR), <i>VIOLA MICHELII</i> (LOSANGE NOIR), <i>CECROPIA PALMATA</i> (CERCLE BLEU), <i>BANARA GUIANENSIS</i> (CARRE ROSE), <i>LAETIA PROCERA</i> (TRIANGLE ROSE) ET <i>SIMAROUBA AMARA</i> (LOSANGE ROSE) INCLINES ET TUTEURS EN SERRE. LA DROITE X=Y EST REPRESENTEE EN TRAIT NOIR.....	181
FIGURE 91. REPRESENTATION SCHEMATIQUE DU PLAN DE SERRE. EN ROUGE SONT ECRIT LES ARBRES DE L'EXPERIENCE « EFFICIENCE », EN VERT CELLES DE « BIOMECONOMY » ET EN BLEU CELLES DE « DIVERSITE ».....	209

LISTE DE TABLEAUX

TABLE 1. SUMMARY OF THE TENSION WOOD TYPE, SAMPLING LOCATION, TILTING CONDITION AND OCCURRENCE OF STRESS MEASUREMENT IN THE CITED LITERATURE. AXES: T = TRUNK, B = BRANCH, BU = BUTTRESS, BO = BOARD, HW = HEARTWOOD. – TILTING CONDITION: A = ARTIFICIALLY TILTED, N = NATURALLY TILTED, S = STRAIGHT TREE, NM = TENSION WOOD NOT MENTIONED. – STRESS MEAS.: Y INDICATES A STUDY WHERE MEASUREMENTS OF MATURATION STRESS WERE PERFORMED. – CLASSIF. FIGURE 18: TENSION WOOD TYPE (A – F) IS GIVEN ACCORDING TO THE CLASSIFICATION PICTURED IN FIGURE 18; H: TENSION WOOD WITHOUT G-LAYER. LETTERS IN PARENTHESIS REFERS TO LESS COMMON TYPES. QUESTION MARK INDICATES UNCERTAIN CLASSIFICATION. – REFERENCES *: ADDITIONAL OBSERVATIONS TO THE CITED STUDY.	37
TABLE 2. RANGE OF VALUES USED FOR THE PARAMETRIC STUDY. TW: TENSION WOOD, NW: NORMAL WOOD, MOE: MODULUS OF ELASTICITY.	80
TABLE 3. ANALYSES OF VARIANCE OF THE EFFECT OF GENOTYPE ON TENSION WOOD MATURATION STRAIN.ON THE FIRST STUDY (POPLAR TRANSGENIC LINES).....	84
TABLE 4. ANALYSES OF VARIANCE OF THE EFFECT OF GENOTYPE ON TENSION WOOD MATURATION STRAIN.ON THE FIRST STUDY (TROPICAL DIVERSITY OF TREE SPECIES).	85
TABLE 5. SPECIES OF TREES USED IN THIS STUDY. SAMPLES WERE COLLECTED IN EUROPE (FRANCE), THE CARIBBEAN (GUADELOUPE), SOUTH AMERICA (FRENCH GUIANA) AND ASIA (JAPAN). LOCATION OF SAMPLING PERFORMED IN FRENCH GUIANA IS PRESENTED AS: PLACE NAME, NEAREST CITY, FG. N, NUMBER OF TREES COLLECTED; V, REFERENCE OF THE VOUCHERS DEPOSITED IN THE HERBARIUM “HERBIER IRD DE GUYANE” (CAY); FG, FRENCH GUIANA; JP, JAPAN; FSERC, FIELD SCIENCE EDUCATION AND RESEARCH CENTER.	98
TABLE 6. GENERA OF SALICACEAE STUDIED, BASED ON CHASE ET AL. (2002). THE COLUMN ‘DESCRIBED SPECIES’ INDICATES THE NUMBER OF SPECIES OBSERVED IN A GIVEN GENUS. TENSION WOOD CELL WALL, THE NUMBER OF LAYERS OF THE G-LAYER (MIN. – MAX.) AND THE PRESENCE OF LIGNIFICATION OF THE G-LAYER ARE DESCRIBED. *THIS GENUS HAS NOW BEEN MOVED TO A DISTANTLY RELATED FAMILY (ALFORD, 2006).	100
TABLE 7. NUMBER AND PERCENTAGE OF THE STUDIED GENERA OF SALICACEAE AND OF THE PRESENCE OF MULTILAYERED WALLS IN TENSION WOOD FIBRES IN THE STUDIED GENERA.	104
TABLE 8. DESCRIPTION OF PLANT MATERIAL USED FOR THIS STUDY. NUMBER OF INDIVIDUALS, SPECIES AND BOTANICAL FAMILIES ARE INDICATED FOR JUVENILE TREES FROM FRENCH GUIANA (FG), FOR ADULT TREES FROM FG, FOR MERGED DATABASE OF JUVENILE AND ADULT TREES FROM FG AND FOR THE REST OF THE SAMPLING INCLUDING BRANCHES FROM FG AND BRANCHES OR JUVENILE TREES FROM GUADELOUPE, FRANCE, JAPAN AND MADAGASCAR.	111
TABLE 9. ANGLE DE MICROFIBRILLES DE CELLULOSE (AMF) MESURE SELON CAVE (1966) ET YAMAMOTO ET AL. (1993) DE 21 ESPECES. TW TYPE, ANATOMIE DU BOIS DE TENSION DE L’ESPECE ; TW MFA, AMF DU BOIS DE TENSION ; OW MFA, AMF DU BOIS OPPOSE ET RATIO TW/OW, RAPPORT DE L’AMF DU BOIS DE TENSION SUR L’AMF DU BOIS OPPOSE EXPRIME EN %. NO G, BOIS DE TENSION SANS COUCHE G ; LIGN. G, BOIS DE TENSION A COUCHE G LIGNIFIEE ; PART. LIGN. G, BOIS DE TENSION A COUCHE G PARTIELLEMENT LIGNIFIE ; UNLIGN. G, BOIS DE TENSION A COUCHE G NON LIGNIFIEES.	134
TABLE 10. VALUES MEASURED ON THE ADULT TREES. TREE DIAMETER (CM), RELEASE STRAIN IN THE LONGITUDINAL (LRS) AND TANGENTIAL (TRS) DIRECTION MEASURED IN BOTH BARK AND WOOD ON BOTH THE UPPER SIDE (US) AND LOWER SIDE (LS) OF THE TILTED STEMS. LRS AND TRS ARE IN $\mu\text{M}/\text{M}$	150
TABLE 11. LIST OF SPECIES GROWN FOR THE STUDY. D_F , MEAN FINAL DIAMETER OF THE STEM (MM); N_w , NUMBER OF TREES FOR WHICH WOOD EFFICIENCY WAS RECORDED; ANAT GROUP, ANATOMICAL GROUP OF THE SPECIES BASED ON ITS TENSION WOOD ANATOMY.	160
TABLE 12. MEAN VALUE PER SPECIES OF THE GRAVITROPIC EFFICIENCY (GRAV. EFF.), BARK EFFICIENCY (BARK EFF.), MATURATION STRAIN OF TENSION WOOD (WOOD EFF.), WOOD ECCENTRICITY INDEX	

(WOOD ECC.) AND BARK ECCENTRICITY (BARK ECC.). STARS INDICATE THE DIFFERENCE WITH A THEORETICAL NULL MEAN (GRAV. EFF., BARK EFF., WOOD ECC. AND BARK ECC.) OR WITH A THEORETICAL MEAN OF -500 (WOOD EFF.). *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; NS: NOT SIGNIFICANT. 166

TABLE 13. VALEURS MOYENNES PAR ESPECE DE L'ANGLE D'EXTENSION DU SECTEUR DE BOIS DE TENSION (BETA). 172

