



HAL
open science

Diversité et variabilité de l'architecture vasculaire et hydraulique de la pousse feuillée chez des arbres de canopée d'une forêt tropicale humide

Sébastien Levionnois

► **To cite this version:**

Sébastien Levionnois. Diversité et variabilité de l'architecture vasculaire et hydraulique de la pousse feuillée chez des arbres de canopée d'une forêt tropicale humide. Sylviculture, foresterie. Université de Guyane, 2019. Français. NNT : 2019YANE0011 . tel-02928247

HAL Id: tel-02928247

<https://theses.hal.science/tel-02928247v1>

Submitted on 2 Sep 2020

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

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



Thèse

En vue de l'obtention du grade de
Docteur de l'université de Guyane
Spécialité : *Dynamique de la biodiversité en Amazonie*

Présentée et soutenue publiquement le *13 décembre 2019* par :

SÉBASTIEN LEVIONNOIS

Diversité et variabilité de l'architecture
vasculaire et hydraulique de la pousse
feuillée chez des arbres de canopée d'une
forêt tropicale humide

JURY

Jean-Christophe DOMECH
Jérôme CHAVE
Éric MARCON
Stéphane HERBETTE
Pierre-Éric LAURI
Patrick HEURET

PU, HDR
DR, HDR
HDR
MCF, HDR
IR, HDR
CR, HDR

Président du Jury
Examineur
Examineur
Rapporteur
Rapporteur
Directeur de Thèse

REMERCIEMENTS I

Je remercie l'**Université de Guyane** et son **École Doctorale** (ED 587) d'avoir accepté d'assurer ma formation doctorale. Je remercie aussi l'Université de Guyane d'avoir participé financièrement au fonctionnement de cette thèse par ses appels à projets annuels de soutien aux doctorants.

Je remercie le **Labex CEBA** de m'avoir fait confiance pour ce projet de thèse que je défendais en juin 2016, et d'avoir financé ma bourse doctorale. Je remercie aussi le Labex CEBA pour avoir financé le projet annuel 2018 PIXIE, financement qui a été déterminant pour la conception et la réalisation de trois chapitres de cette thèse.

Je remercie le **CIRAD** d'avoir participé financièrement au fonctionnement de cette thèse via ces Actions Incitatives de soutien aux doctorants.

Je remercie le **FEDER**, dans le cadre des projets GFCLim et ForesTreeCulture 2 d'avoir participé financièrement au fonctionnement de cette thèse, notamment par le financement de deux stages.

Je remercie l'**INRA** d'avoir financé ma formation à la grimpe arboricole.

REMERCIEMENTS II

J'exprime ma profonde gratitude à **Patrick Heuret**, pour la qualité de son enseignement et de son encadrement, sa grande patience, sa capacité d'écoute et de dialogue, son esprit critique. Je te remercie pour la liberté d'initiative et surtout la grande confiance que tu m'as accordée : des sujets de stage que tu m'as proposés, au sujet de thèse un peu risqué que je souhaitais développer malgré le fait qu'il s'éloignait de tes champs communs, et tout au long de la thèse malgré la distance géographique. Cette confiance a été déterminante pour réaliser la thèse que je voulais, et surtout pour ma propre confiance en moi, ma construction et mon épanouissement, au-delà même du cadre de la thèse.

Je remercie **Stéphane Herbette** et **Pierre-Éric Lauri** d'avoir accepté d'être rapporteurs de cette thèse. Je remercie également **Jérôme Chave**, **Jean-Christophe Domec** et **Éric Marcon** d'avoir accepté d'être membre du jury et d'évaluer ce travail. Je ne pouvais rêver mieux comme jury.

Je remercie **Jacques Beauchêne** de sa participation à l'encadrement de cette thèse, ainsi que ces petits délicieux bouts de discussion, de temps en temps l'après-midi, autour des microscopes. Je le remercie aussi pour son dévouement dans l'activité du Laboratoire des Sciences du bois de Pariacabo, et pour avoir toujours répondu présent pour apporter son expertise et son assistance technique malgré sa faible disponibilité.

Je remercie **Éric Nicolini** d'avoir longtemps encadré officiellement cette thèse. Je le remercie de s'être rendu disponible pour les comités de thèse malgré son emploi du temps épais. Ses remarques autour de sa vision de l'arbre ont toujours été enrichissantes. Je le remercie enfin pour tous les très bons moments –botaniques ou pas- partagés sur le terrain.

Je remercie **Sabrina Coste** et **Clément Stahl** pour leur encadrement de loin –mais de qualité- de cette thèse, et surtout les super collègues pleins de bonne humeur qu'ils sont, des sessions de terrain sous la pluie à la rédaction des papiers. Je remercie chaleureusement **Sabrina Coste** de m'avoir soutenu dans l'initiative de mesurer la résistance à l'embolie des feuilles, et d'avoir fait beaucoup pour m'accueillir au sein du laboratoire d'écophysiologie en rendant possible cette dernière manip' qui me tenait à cœur. Je la remercie une dernière fois pour le dévouement dont elle fait preuve pour faire tourner au mieux le laboratoire d'écophysiologie.

Je remercie **Yves Caraglio**, **Hervé Cochard** et **Erwin Dreyer** d'avoir accepté de constituer le comité de thèse. Votre lecture critique et avisée du contenu et de l'avancée de la thèse a été déterminante pour sa forme finale et sa qualité. Je remercie **Hervé Cochard** de m'avoir accueilli une journée entière pour discussions à l'UMR PIAF à Clermont-Ferrand.

Je remercie **Christine Heinz**, **Yves Caraglio** et **Claude Edelin** de m'avoir montré pour la première fois de ma vie ce qu'était une plante, durant les enseignements de licence. Je leur suis très reconnaissant pour tout le dévouement dont ils font –ou ont fait- preuve dans l'enseignement de la botanique à la faculté. Sans vous, je crois que j'aurais difficilement pu trouver mieux comme trajectoire de vie pouvant s'accorder un tant soit peu avec le monde de fous dans lequel nous vivons en ce moment.

Je les remercie une fois de plus, ainsi que **Charles Doumenge**, **Doyle McKey**, **Raphaël Manley**, **Laurence Pascal**, **François Munoz**, **Nick Rowe** et l'ensemble de l'équipe

pédagogique pour la création et le maintien de la formation de qualité qu'a été le master BVT (2010-2015), et qu'est maintenant le master BioGET.

Je remercie **Jérôme Munzinger, Marc Jeanson et Caroline Loup** qui, en 2013, m'ont ouvert les portes de l'herbier MPU, ainsi qu'offert ma première expérience de stage de recherche. Sans trop le savoir certainement, ils m'ont ouvert sur un monde et des possibilités que je ne soupçonnais pas à un moment où j'étais perdu. Je remercie une fois de plus **Jérôme Munzinger** pour la possibilité qu'il m'a offert de travailler avec lui sur le genre *Citronella*. Ce fût une expérience riche d'enseignements.

Je remercie profondément **Camille Ziegler** : un super coloc', un super compagnon de thèse, et surtout un grand ami. Si mon expérience guyanaise a été une superbe expérience, tu en es pour beaucoup. Tribulation !

Tom Hattermann, je te dois beaucoup. TMTC.

Je remercie la coloc' Ernest Prudent, la base arrière, le sous-bassement du maintien moral, le refuge. Un grand merci à **Camille Pioniot**, et la confiance en la vie que tu inspires. Un grand merci à **Alexandre De Haldat**, sa grande cuisine et sa musique. Un grand merci à **Louis Tantot**, le plus beau blaireau tout doux que je connaisse. Un grand merci à **Jessica et Killian**, pour leurs bienveillances, et d'avoir gardé les chats au quotidien.

Je remercie **Bruno Clair** pour son accompagnement, de près ou de loin, dans la vie au labo', et au-delà maintenant. Merci pour ces petits joyaux de discussions autour d'un café sous le carbet. Je te suis très reconnaissant de m'avoir intégré à ta mission aux Nouragues, c'était un point fort de mon expérience guyanaise. Merci enfin pour ton altruisme et ton humilité qui m'ont toujours laissé admirateur.

Je remercie –par ordre chronologique- **Phoebe Ruth Tchana Wandji, Camille Salmon, Emma Calvet et Charlotte Guichard** pour leur grande contribution respective dans l'édification de cette thèse, au travers de leur stage. Je les remercie sincèrement pour la confiance qu'elles m'ont accordée. Je les remercie pour leur partage de leurs analyses et leur vision du monde, vous avez su ébranler certaines de mes certitudes et c'était salvateur. Je vous dois beaucoup.

Un grand merci à **Jocelyn Cazal**, pour m'avoir fait confiance dans la manip' que j'ai proposée, et de l'avoir rendu possible dans la pratique. Sans toi il n'y aurait pas de thèse. Je te remercie pour ta grande gentillesse, ta patience et ton optimisme à toute épreuve. Je te remercie enfin pour avoir continué ma formation à la grimpe arboricole, je ne pouvais espérer meilleur moniteur. Je te dois beaucoup.

Je remercie **Benoit Burban, Jean-Yves Goret, Jonathan Prunier, Jocelyn Cazal et Audin Patient** pour leur rôle précieux dans le fonctionnement de la recherche, leur aide précieuse en laboratoire comme sur le terrain.

Je remercie **Jacques Beauchêne, Bruno Clair, Patrick Heuret, Jonathan Prunier, Hélène Morel, Nadine Amusant, Yannick Estevez, Eric Nicolini, Soepe Koese, Gildas Medjigbodo, Bach Xuan Nguyen Le, Barbara Ghislain, Andres Gonzales, Romain Lehnebach, Julie Bossu**, et l'ensemble des stagiaires qui y sont passés, d'avoir, depuis 2015, constamment ou successivement fait de Pariacabo le meilleur lieu de travail que j'ai pu connaître. Merci à **Romain Lehnebach** pour ces discussions toujours autant enrichissantes que

tordantes. Merci à **Bach** pour ta bienveillance et tes dépannages informatiques. Muchas gracias **Andres**, eres un gran amigo.

Je remercie **Valentine Alt** pour son enthousiasme débordant et sa grande aide apportée sur le terrain. Je remercie aussi **Anthony Percevaux**, **Elodie Courtois**, **Samuel Council** pour leur aide pour la grimpe arboricole.

Je remercie **Steven Jansen** pour m'avoir accueilli durant 1 mois au sein de son laboratoire à Ulm. Je le remercie aussi pour toutes ses lectures avisées des manuscrits, j'ai beaucoup appris en rédaction.

Je remercie **Julien Ruelle** pour m'avoir accueilli durant trois semaines au sein de l'UMR Silva à Nancy pour la réalisation des coupes anatomiques. Je remercie très chaleureusement **Maryline Harroué** pour la réalisation de l'immense majorité des coupes anatomiques à la base de cette thèse. Un grand merci pour ta bonne humeur débordante lors de mon séjour à Nancy.

Je remercie **Frédéric Fung-Fong-You**, **Oscar Affholder**, **Valentin Cadet**, **Hugo Pacholsky** et **Noémie Videau** pour leur aide précieuse apportée au travers de leurs stages.

Je remercie **Mélaine Aubry-Kientz** d'avoir gentiment accepté d'étendre son modèle à nos espèces étudiées et d'en utiliser les données dans cette thèse.

Je remercie tous les copains, qui ont un peu pris part à cette aventure de gré ou de force, de près ou de loin, ou bien qui ont été d'un grand soutien. J'espère que l'on ne se perdra pas de vu. Merci à **Alex Schmeltz** et **Olivia Braconnier**, vous êtes une grande source d'inspiration. Merci à **François Valès**. Merci à **Marc-Alexandre Tareau**. Merci à **Louise Authier**. Merci à **Marilou Hircq**.

Je remercie **Norbert Turion** pour la formation à la grimpe de qualité qu'il m'a donné. Cette rencontre puis formation ont été décisives pour la réalisation de cette thèse.

Je remercie l'ensemble des stagiaires, missionnaires et étudiants du FTH que j'ai pu croiser, notamment sur le campus, depuis 2015. Merci pour ces discussions, ces sorties en week-end d'Ouest en Est, ces week-ends en carbet, ces randonnées, pour ces bols d'air, pour ces ti'punchs.

Je remercie **Maxime Corbin** de sa bienveillance et sa gentillesse.

Je remercie profondément **l'ensemble des personnes travaillant ou rattachées à EcoFoG**. J'ai toujours été enthousiaste de me lever le matin pour aller au labo' et vous y êtes pour beaucoup. Un grand merci à **Stéphane Tressac** pour l'animation scientifique, merci de m'avoir offert ces différentes opportunités avec le module FTH.

Je remercie **Tancrède Almeras**, **Niklas Tysklind**, **Jean-François Barczy**, **Gilles Le Moguedec** pour tous leurs conseils et critiques avisés.

Je remercie l'**UMR AMAP** pour m'avoir accueilli durant mes derniers mois de thèse.

Je remercie Maki et Sushi, même si elles ne pourront me lire, à ce que je chat-che.

Un grand merci aux amis de Martinique, la famille. Un grand merci aux amis de master.

Je remercie chaleureusement mes parents, pour m'avoir toujours soutenu dans mes projets. Merci à mes parents, mes sœurs, mes grands-parents, pour leur affection et leur soutien. Merci de souvent supporter la distance.

INTRODUCTION GÉNÉRALE	13
1. Les forêts tropicales humides : diversité et fonctions écosystémiques	14
2. Le changement climatique dans le monde	15
3. Effets du changement climatique sur les forêts tropicales	16
4. Le fonctionnement hydraulique des plantes	20
5. La promesse de l'approche hydraulique des plantes	26
6. Architecture et fonctionnement hydraulique de la pousse feuillée	31
7. Objectifs de la thèse	32
8. Structure de la thèse	34
9. Site de l'étude	35
BIBLIOGRAPHIE	39
CHAPITRE 1	
Revue des principaux concepts en hydraulique des plantes.	47
CHAPITRE 2	
Anatomies, vasculatures, and mechanics underlying the leaf size-stem size spectrum for Neotropical tree species.	42 143
CHAPITRE 3	
Scaling of petiole anatomies, mechanics, and vasculatures with leaf size in the widespread Neotropical pioneer tree species <i>Cecropia obtusa</i> Trécul (Urticaceae).	171
CHAPITRE 4	
Ontogenetic, seasonality, and leaf senescence effects on leaf water-relation and gas-exchange traits for a Neotropical rainforest pioneer tree.	203
CHAPITRE 5	
Linking drought-induced embolism resistance in stem xylem tissue to multi-scale wood anatomical traits of Neotropical trees.	227
CHAPITRE 6	
Hydraulic and vulnerability segmentations at the leaf-stem interface: Coordination and anatomical determinants across Neotropical trees.	259
CHAPITRE 7	
Is vulnerability segmentation at the leaf-stem interface a drought resistance mechanism? A theoretical test with a trait-based model for some Neotropical canopy tree species.	291
CHAPITRE 8	
Does the anatomical and hydraulic traits of leaves and stems predict the ecology and water-stress impacts on tree growth in a local-scale tropical rainforest?	325

DISCUSSION GÉNÉRALE	365
I – SYNTHÈSE : STRUCTURE ET FONCTIONNEMENT DE LA POUSSE FEUILLÉE DES ARBRES TROPICAUX	366
II – IMPLICATIONS FONCTIONNELLES DE LA SURFACE DE LA FEUILLE	370
1. La surface de la feuille impacte-t-elle la conduction ?	370
2. La surface de la feuille impacte-t-elle la résistance à l’embolie ?	373
3. La surface foliaire est-elle un trait de résistance à la sécheresse ?	376
4. Le continuum tige-feuille	377
III – IMPLICATIONS FONCTIONNELLES DE LA SURFACE FOLIAIRE TOTALE DE L’ARBRE	380
1. La segmentation	380
2. Caducité foliaire et phénologie en forêt tropicale humide	382
IV – QUELLE STRATÉGIE DE RECHERCHE POUR PRÉDIRE LA RÉSISTANCE DES ARBRES A LA SÉCHERESSE ?	385
1. Qu’est-ce que la résistance à la sécheresse ?	385
2. Proxy de la résistance à l’embolie ?	386
3. Un faible pouvoir prédictif des traits de résistance à la sécheresse	387
V - CONCLUSION ET PERSPECTIVE	392
BIBLIOGRAPHIE	395

INTRODUCTION GÉNÉRALE

1. Les forêts tropicales humides : diversité et fonctions écosystémiques

Les forêts tropicales abritent la plus grande diversité d'espèces animales et végétales sur la planète. Tout en représentant ~7 % des terres émergées, on y recense entre 50 et 70 % des espèces connues (Wilson *et al.*, 1988; Scheffers *et al.*, 2012). Ces forêts sont caractérisées par de fortes précipitations annuelles (2000 mm au minimum) et des températures moyennes annuelles élevées (~27°C), avec de faibles amplitudes saisonnières. Ces forêts sont distribuées principalement (1) en Amérique du Sud dans le bassin amazonien et en Amérique centrale, (2) en Afrique de l'Ouest et dans le bassin du Congo, et (3) en Asie du Sud-Est, en Micronésie, en Mélanésie et en Polynésie. Les forêts tropicales sont généralement divisées en trois biomes : les forêts tropicales humides, les forêts tropicales sèches et les mangroves. Les forêts tropicales humides hébergent de 50 000 à 60 000 espèces d'arbres (sur environ 300 000 espèces végétales estimées dans le monde)(Turner, 2001), tout en sachant que les autres formes de croissance (épiphytes et lianes) sont moins bien répertoriées. L'Amazonie représente la plus grande forêt continue du monde avec 5.4 millions de km² (Malhi *et al.*, 2008) et hébergerait ~16 000 espèces d'arbres (ter Steege *et al.*, 2006, 2013).

L'ensemble des forêts du monde, et les forêts tropicales en particulier, jouent un rôle essentiel dans le cycle du carbone de la biosphère. Elles stockent 45 % du carbone terrestre, et assurent la moitié de la productivité primaire nette des terres émergées pour 30 % des surfaces émergées (Field *et al.*, 1998; Bonan, 2008). La productivité primaire annuelle des forêts du monde en fait des puits nets de carbone, malgré les émissions anthropogéniques de gaz à effets de serre et les changements d'utilisation du sol (Pan *et al.*, 2011). Dans ce stockage et ces flux de carbone, les forêts tropicales jouent un rôle disproportionnel. Les forêts tropicales représentent ~25 % des stocks de carbone terrestres (Bonan, 2008) et ~55 % des stocks de carbone forestiers mondiaux (Pan *et al.*, 2011). Ces forêts représentent ~33% de la production primaire nette terrestre de carbone (Bonan, 2008). L'Amazonie représente à elle seule ~49 % du carbone stocké par l'ensemble des forêts tropicales (Saatchi *et al.*, 2011), soit ~15 % du carbone stocké par l'ensemble des forêts du globe (Saatchi *et al.*, 2011; Pan *et al.*, 2011).

Au-delà de leur implication dans le cycle du carbone, les forêts jouent également un rôle fondamental dans le cycle de l'eau de la biosphère. Une composante essentielle du cycle de l'eau est l'évapotranspiration, qui traduit la quantité d'eau restituée par un écosystème directement à l'atmosphère. Cette eau pourra alimenter les précipitations à venir, c'est le recyclage des précipitations (Eltahir and Bras, 1996). L'évapotranspiration comprend deux composantes : l'évaporation issue des sols et des cours d'eau, et la transpiration issue de la biomasse. Les forêts tropicales humides reçoivent ~35 % des précipitations terrestres

mondiales, et représentent ~33 % de l'évapotranspiration terrestre mondiale (Mu *et al.*, 2011; Schlesinger and Jasechko, 2014). Environ 70 % de l'évapotranspiration provient de la transpiration (Schlesinger and Jasechko, 2014). L'évapotranspiration totale annuelle est estimée comme représentant entre 25 et 50 % des précipitations des forêts tropicales, pointant le rôle essentiel du recyclage de l'eau dans l'hydrologie de ces forêts (Eltahir and Bras, 1994; Malhi *et al.*, 2002).

Si les forêts tropicales regroupent des écosystèmes parmi les plus riches en biodiversité, ce sont également les plus menacées par le changement climatique et le changement d'usage des terres. Elles sont en effet généralement situées dans des pays où les infrastructures et la recherche sont les moins développées, notamment dus à des contingences historiques de développement économique des états du monde (Diamond, 2007; Hallé, 2010; Golding *et al.*, 2010). De ce fait, l'application des concepts, théories, hypothèses et expérimentations types dans les régions tropicales a souvent un « temps de retard » par rapport aux modèles des régions tempérées.

2. Le changement climatique dans le monde

En 2014, le cinquième rapport du GIEC (Groupe d'experts Intergouvernemental sur l'Évolution du Climat ; IPCC en anglais pour *Intergovernmental Panel on Climate Change*) a fourni une synthèse scientifique de grande ampleur et catégorique quant au fait que le climat se réchauffe à cause de l'émission de gaz à effets de serre produits par les activités humaines (IPCC, 2014). La température moyenne globale à la surface du globe a augmenté de 0.85°C de 1880 à 2014, et la tendance s'est accélérée sur les 60 ans précédents 2014. Le réchauffement global a déjà provoqué des vagues de chaleur plus longues et plus intenses que ce qui était auparavant connu, ainsi que d'autres événements extrêmes comme des tempêtes, des ouragans, des inondations ou des sécheresses (Coumou and Rahmstorf, 2012). Ces événements ont déjà eu des impacts sur nos sociétés humaines, que cela soit en termes de mortalité (Robine *et al.*, 2008), de coûts économiques, ou de production agricole (Ciais *et al.*, 2005; Barriopedro *et al.*, 2011). D'après l'étude retentissante de Rockström *et al.* (2009), le changement climatique fait parti des frontières indépassables (avec entre autres la biodiversité qu'ils nomment « intégrité de la biosphère ») pour la survie de l'humanité. Cependant, ce qui nous intéresse ici en premier lieu est l'impact potentiel ou avéré du changement climatique sur les systèmes biologiques et écologiques, et en particulier sur la structure et le fonctionnement des écosystèmes.

La végétation structure la majorité des écosystèmes, dans la mesure où l'installation de la végétation est bien souvent un prérequis pour voir apparaître les consommateurs primaires et

secondaires. Les événements extrêmes et les vagues de chaleur induisent déjà une mortalité des arbres accrue partout dans le monde (Fig. 1; Mantgem *et al.*, 2009; Phillips *et al.*, 2009; Allen *et al.*, 2010; Carnicer *et al.*, 2011; Peng *et al.*, 2011; Williams *et al.*, 2012; Matusick *et al.*, 2013). Ce changement climatique aura aussi certainement des impacts sur les grands cycles biogéochimiques comme celui du carbone (Reichstein *et al.*, 2013) ou celui de l'eau (Oki and Kanae, 2006), parce que'ils sont en partie déterminés par la végétation. Ainsi, comprendre l'impact du changement climatique sur la structure et le fonctionnement des forêts tropicales est d'un enjeu crucial.

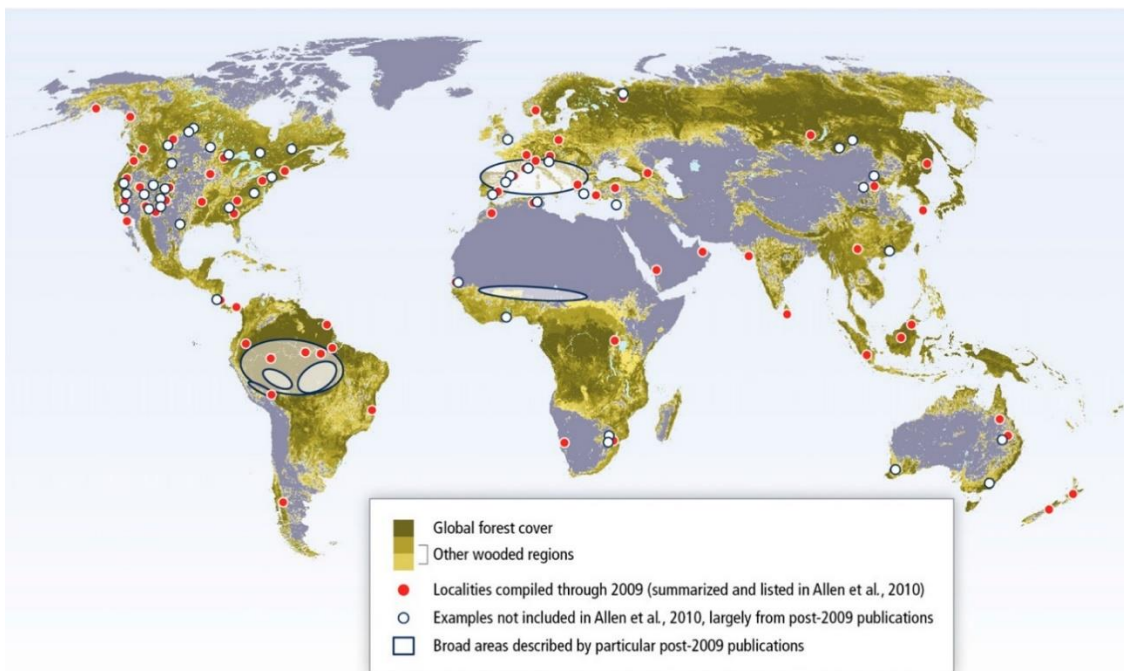


Fig. 1. Événements de mortalité induite par sécheresse des arbres aux échelles régionales à travers le monde. Les points rouges indiquent les études sur la mortalité avant 2009 synthétisées par Allen *et al.* (2010). Les points blancs représentent les études après 2010 synthétisées par Anderegg *et al.* (2016). Tiré de Anderegg *et al.* 2016.

3. Effets du changement climatique sur les forêts tropicales

Le changement climatique au niveau des forêts tropicales se matérialise de quatre grandes manières : (i) l'augmentation du taux de CO₂ dans l'atmosphère et (ii) la modification des régimes de précipitations, de températures, des vents et des tempêtes (Bonan, 2008; Aleixo *et al.*, 2019). Ici, je me focaliserai essentiellement sur les précipitations et les températures, qui peuvent être analysées conjointement du fait qu'ils sont en partie reliés par la couverture nuageuse. Les régimes de précipitations et de températures contrôlent ensemble les régimes de sécheresse qu'elles soient saisonnières, ou extrêmes et ponctuelles (Bonal *et al.*, 2016). De plus, les régimes de sécheresses nous intéressent en premier lieu vis-à-vis du fonctionnement

hydraulique des arbres, ce qui constitue le cœur de cette thèse. Je me focaliserai aussi essentiellement sur le cas amazonien.

Les projections concernant les précipitations et les températures suggèrent fortement des changements au niveau de la saisonnalité dans les régions tropicales, avec des saisons sèches plus marquées et plus longues (Touma *et al.*, 2015; Duffy *et al.*, 2015; Chadwick *et al.*, 2016). De plus, des événements de sécheresse extrêmes (c.-à-d. à plus faible fréquence que la saisonnalité annuelle) peuvent augmenter en fréquence et en intensité, notamment en lien avec l'intensification de l'oscillation australe du phénomène El Niño attendu selon certains modèles (Li *et al.*, 2006). En Amazonie, une augmentation de la longueur et de l'intensité de la saison sèche a déjà été observée (Hilker *et al.*, 2014; Gloor *et al.*, 2015), en plus de l'augmentation de l'occurrence d'évènements ponctuels de sécheresse extrême (Fig. 2; Marengo *et al.*, 2011; Lewis *et al.*, 2011; Marengo and Espinoza, 2016; Jiménez-Muñoz *et al.*, 2016; Erfanian *et al.*, 2017; Aleixo *et al.*, 2019). À ce tableau se rajoutent des tendances de fond, comme l'augmentation de la température moyenne d'environ 0.7°C sur le bassin amazonien depuis 1980 (Gloor *et al.*, 2015), ainsi qu'une diminution des précipitations totales annuelles au sud et au sud-est de l'Amazonie depuis 2000 (Hilker *et al.*, 2014).

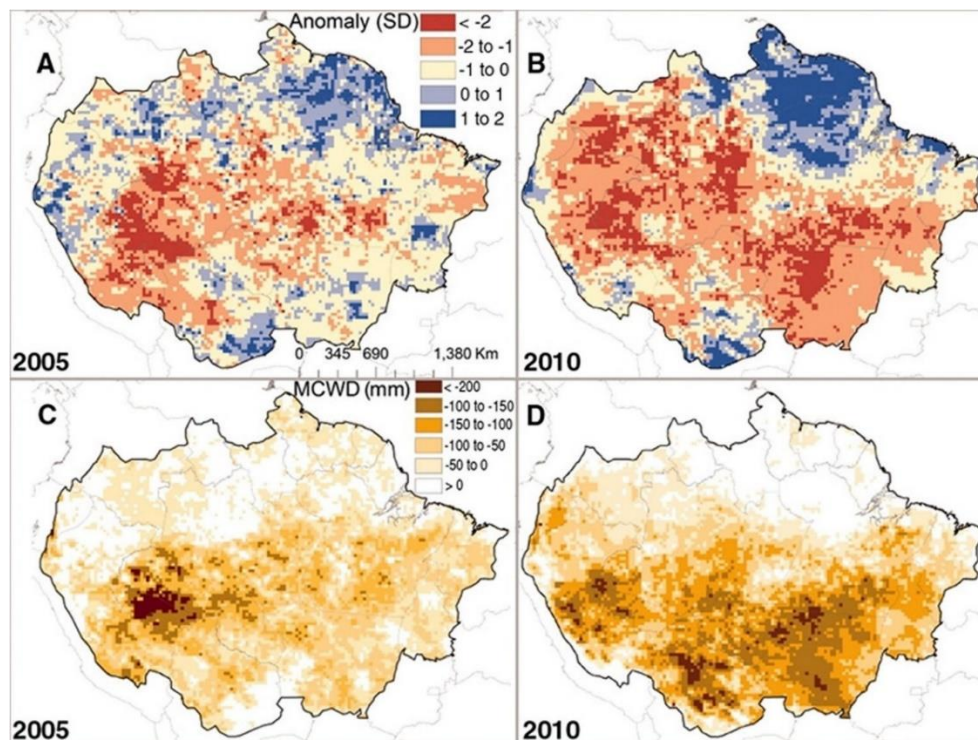


Fig. 2. Les sécheresses de 2005 et 2010 en Amazonie. (a,b) Anomalies standardisées à partir d'images satellites pour la saison sèche en 2005 et 2010. (c,d) Différence entre la moyenne décennale et l'année considérée pour le déficit hydrique saisonnier maximum, une mesure de l'intensité de la sécheresse pour les années 2005 et 2010. Tiré de Lewis *et al.* 2011.

L'existence ou non d'impacts significatifs du changement climatique sur les forêts tropicales à longterm fait débat, du fait du manque de recul (Steinkamp and Hickler, 2015). Cependant, les études de ces toutes dernières années apportent de nombreuses preuves, dressant peu à peu un consensus sur cette question. Les marqueurs les plus probants sont (i) la mortalité des arbres, dont on a pu observer une augmentation associée aux évènements de sécheresse extrêmes, et (ii) les pertes ponctuelles de grandes quantités de biomasses estimées à partir de la mortalité des arbres (Fig. 3 et 4; Phillips *et al.*, 2009; Allen *et al.*, 2010; Feldpausch *et al.*, 2016; Greenwood *et al.*, 2017; Zuleta *et al.*, 2017; Aleixo *et al.*, 2019). Les sécheresses, notamment lors d'évènements extrêmes, peuvent aussi impacter négativement la croissance des arbres (Grogan and Schulze, 2012; Wagner *et al.*, 2012, 2014, 2016; Fargeon *et al.*, 2016), et donc la fixation de carbone à l'échelle de l'écosystème durant cette période (Bonal *et al.*, 2016; Wagner *et al.*, 2016). Ces changements de structure et de dynamique forestière s'accompagnent potentiellement d'un changement de composition floristique et fonctionnelle. Quelques études suggèrent notamment une augmentation du recrutement d'espèces avec un phénotype associé *a priori* à la résistance à la sécheresse (Enquist and Enquist, 2011; Fauset *et al.*, 2012), y compris en Amazonie (Sande *et al.*, 2016; Esquivel-Muelbert *et al.*, 2019).

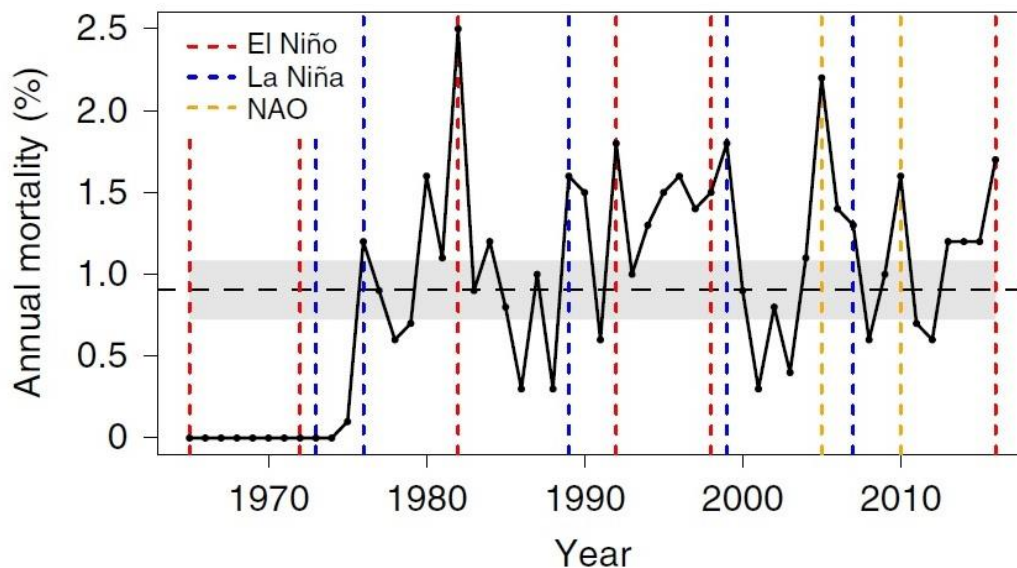


Fig. 3. Suivi de la mortalité parmi 1019 arbres de canopée en Amazonie centrale. Les lignes verticales en pointillé indiquent les années à évènements climatiques extrêmes. Rouge : sécheresse El Niño ; bleu : année humide El Niña ; orange : sécheresses liées à l'oscillation nord Atlantique. Tiré de Aleixos *et al.* 2019.

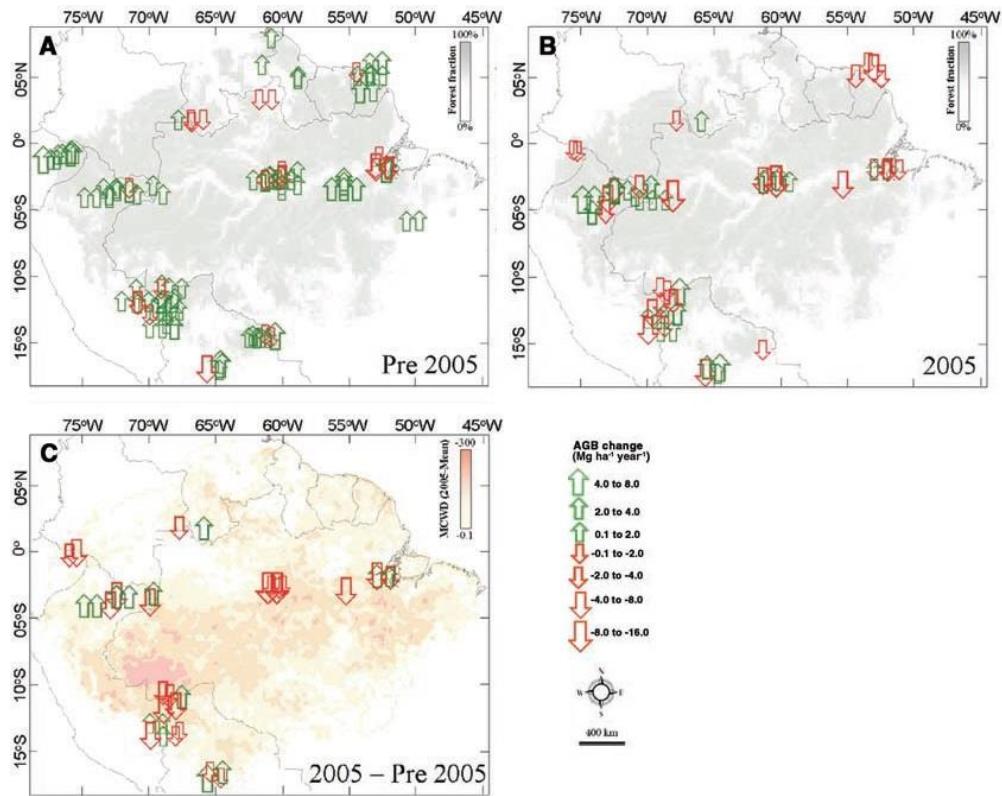


Fig. 4. Perte de biomasse aérienne lors de la sécheresse de 2005 en Amazonie. (a) Changement annuel de biomasse aérienne avant 2005. (b) Changement annuel de biomasse aérienne durant l'intervalle de 2005. (c) Différence dans la vitesse de changement de la biomasse aérienne entre 2005 et avant 2005. (a, b) L'ombrage gris correspond à la surface couverte par l'étude. (c) L'ombrage orangée correspond à l'intensité de la sécheresse de 2005. Tiré de Philips et al. 2009.

Ces changements de structure et de composition spécifique des forêts tropicales humides auront un impact sur le fonctionnement de ces écosystèmes en Amazonie. Le recrutement d'espèces plus résistantes à la sécheresse, avec des croissances en biomasse et en volume différentes que les espèces actuelles, influencera certainement la production carbonée de ces forêts (Baraloto *et al.*, 2011; Aguilos *et al.*, 2018). Brien *et al.* (2015) ont déjà montré un déclin sur le long terme de la production primaire nette de carbone, pouvant mener à une diminution du stock global de carbone des forêts non perturbées. Parce que les espèces plus résistantes à la sécheresse transpirent peu, un changement de composition spécifique de ces forêts pourrait s'accompagner également d'une évapotranspiration globale de ces écosystèmes plus réduite que les dans les conditions actuelles, ce qui aurait un impact sur le recyclage des précipitations (Eltahir and Bras, 1994; Stahl *et al.*, 2013; Sterling *et al.*, 2013; Barros *et al.*, 2019). Par ailleurs, l'ensemble des études récentes sur les effets de la sécheresse sur la structure et la dynamique forestière (recrutement, croissance et mortalité des arbres ; flux globaux de carbone et décomposition) sont généralement basées sur des corrélations entre des événements qui sont relativement simultanés dans le temps. Cependant, quelques études suggèrent qu'un événement climatique donné peut affecter la mortalité par exemple plus de deux ans après sa

manifestation (Phillips *et al.*, 2009; Aleixo *et al.*, 2019). Plus largement, les effets de stress répétés dans le temps sur les arbres, qui entameraient peu à peu leur capacité de récupération, sont très mal connus, et pourraient avoir un impact décisif sur les écosystèmes forestiers.

Les changements de précipitations et de températures affectent donc la tolérance physiologique des plantes constituant la forêt amazonienne. De fortes températures et de faibles taux d'humidité déterminent un fort déficit de pression vapeur, et donc une forte demande évaporative sur les plantes. De fortes et longues sécheresses sont aussi susceptibles de conduire à un fort déficit hydrique dans le sol, inhibant la possibilité pour les plantes d'absorber de l'eau. La sécheresse atmosphérique associée à la sécheresse édaphique met les plantes en stress hydrique, or la déshydratation est un mécanisme prépondérant de mortalité pour les plantes (McDowell *et al.*, 2018; Choat *et al.*, 2018). De plus, le système photosynthétique des feuilles, qui est vulnérable à de trop fortes températures (Michaletz *et al.*, 2016), requiert une thermorégulation par évapotranspiration ce qui ajoute une contrainte supplémentaire pour l'utilisation de l'eau par les plantes durant une sécheresse. La réponse des plantes à de tels changements est donc *a priori* déterminée par leur capacité de résistante à la sécheresse et leur stratégie d'utilisation de l'eau.

4. Le fonctionnement hydraulique des plantes

L'eau est un élément essentiel pour le développement des plantes. La disponibilité en eau du sol apportée par la pluviométrie est l'un des premiers déterminants de la croissance des arbres amazoniens (Wagner *et al.*, 2012). La disponibilité en eau est aussi un déterminant de la distribution des espèces d'arbres en Amazonie, que cela soit à une échelle locale (Comita and Engelbrecht, 2009; Condit *et al.*, 2013; Schiatti *et al.*, 2014; Allié *et al.*, 2015; Gaviria *et al.*, 2017; Kupers *et al.*, 2019) ou à une échelle régionale (Clinebell *et al.*, 1995; Ter Steege *et al.*, 2003; Engelbrecht *et al.*, 2007; Sterck *et al.*, 2014; Esquivel-Muelbert *et al.*, 2017*a,b*). Quelques études suggèrent également que la disponibilité en eau affecte indirectement les interactions biotiques (Barceló *et al.*; Dézerald *et al.*, 2013, 2015; Rodríguez Pérez *et al.*, 2018; Steidinger *et al.*, 2019). La gestion et l'utilisation de l'eau par la plante renvoient directement au fonctionnement hydraulique de la plante : c.-à-d. l'ensemble des fonctions fondamentales que sont l'absorption, la conduction, le stockage et la transpiration de l'eau. Par extension, ces différentes fonctions renvoient à la résistance à la sécheresse, la mort par déshydratation étant l'une des principales causes de mortalité « naturelle » chez les plantes et directement conditionnée par la disponibilité en eau dans l'environnement (McDowell *et al.*, 2018; Choat *et al.*, 2018).

Comprendre le fonctionnement hydraulique des plantes nécessite avant tout de comprendre les processus physiques en action dans la plante : gradient de potentiels hydriques, tension de surface aux interfaces gaz-liquide et liquide-solide, débit d'eau liquide ou sous forme de vapeur, cavitation... L'hydraulique des plantes (*plant hydraulics*) définit ainsi une discipline qui s'est développée à l'interface de la physique-chimie et de la physiologie, la morphologie et l'anatomie végétale. La physiologie s'intéresse aux fonctions telles que l'absorption, de la conduction, du stockage et de l'évapotranspiration tandis que la morpho-anatomie est capitale pour comprendre les structures sous-jacentes à la réalisation de ces fonctions. Autrement dit, l'étude du fonctionnement hydraulique des plantes mobilise le concept du rapport structure/fonction qui met en relation la manière dont une partie de la plante est 'faite' (la structure) et le rôle qu'elle remplit pour l'organisme (la fonction).

On trouve les origines des questionnements scientifiques relatifs à l'eau dans la plante dès le 18^e siècle, avec notamment la considération de l'anatomie dans la description des structures, et de la physiologie dans la compréhension des flux hydriques. Ici, je propose un bref historique des découvertes majeures. En 1735, Hales met en évidence que l'eau est transportée dans le bois et que les feuilles sont le siège de la transpiration. En 1758, Reichel montre que l'eau est transportée dans les vaisseaux. Au début du 19^e siècle, la théorie de la cohésion-tension permet d'expliquer le mouvement passif et sous tension de l'eau dans la plante, en intégrant les stomates et les conduits xylémiens comme supports structuraux (Dixon and Joly, 1895; Dixon, 1914). Elle reste à ce jour la théorie structurante de l'hydraulique des plantes en tant que discipline. Par la suite Honert (1948) propose un cadre théorique pour la quantification des flux par analogie à la loi d'Ohm. Entre temps Peirce (1936) montre que l'embolie (c.-à-d. l'apparition de bulles d'air dans les vaisseaux due à une tension trop forte, et bloquant la circulation de l'eau) est possible dans le xylème, posant une limite au transport de l'eau sous tension. Au début des années 1970 Cowan (1972) introduit l'idée que la capacitance des tissus (c.-à-d. la capacité d'une plante à mobiliser de l'eau stockée) peut avoir un rôle de régulation du flux d'eau. Par la suite, Cowan (1972) puis Whitehead *et al.* (1984) unifient dans un même cadre théorique la transpiration au niveau des stomates et le flux de l'eau dans le xylème. À partir de la fin des années 1990, la discipline connaît un essor considérable, car la résistance à la sécheresse des plantes devient une problématique majeure avec la prise de conscience du changement climatique. *A priori*, il semble que l'on ait maintenant une compréhension complète des principaux mécanismes impliqués dans la résistance à la sécheresse, applicables à la majorité des plantes terrestres indépendamment du biome (Choat *et al.*, 2012, 2018; Delzon, 2015; Blackman *et al.*, 2016; Martin-StPaul *et al.*, 2017).

Le statut hydrique de la plante est d'abord contrôlé par les stomates, la fermeture stomatique étant généralement la première réponse de la plante à un stress hydrique. Un trait essentiel permettant d'apprécier la régulation stomatique est le potentiel hydrique foliaire induisant ~90-95% de perte de conductance stomatique (Ψ_{closure} ; MPa ; Fig. 5). Ainsi, au plus tôt les stomates se ferment, au plus tard se manifesterà la chute de potentiel hydrique dans la plante (Fig. 8; Martin-StPaul *et al.*, 2017). Lors d'un évènement de sécheresse ininterrompu, le potentiel hydrique dans le xylème chute jusqu'à ce que la tension soit trop forte, ce qui induit un changement de phase soudain du liquide au gaz dans les vaisseaux : c'est la cavitation. L'apparition de bulles d'air dans les vaisseaux qui s'en suit est l'embolie (Fig. 6), et bloque la circulation de l'eau. Ainsi, l'accumulation d'embolies dans le xylème est proportionnelle à la perte de conductivité, jusqu'à la mort par déshydratation de la plante. Il existe une forte pression de sélection sur les plantes pour réaliser un minimum de résistance à l'embolie dans un environnement donné (Maherali *et al.*, 2004; McAdam and Cardoso, 2018). La résistance à l'embolie peut être quantifiée comme le potentiel hydrique du xylème P_x (MPa) induisant x% de perte de conductivité (Fig. 7). On parlera ici de P_{crit} , pour le potentiel hydrique induisant une perte critique pour la plante de conductivité. Ainsi, l'augmentation de la différence entre Ψ_{closure} et P_{crit} correspond théoriquement à une maximisation du temps de dessiccation (c.-à-d. le temps écoulé entre la première réponse de la plante à un stress hydrique et la mort).

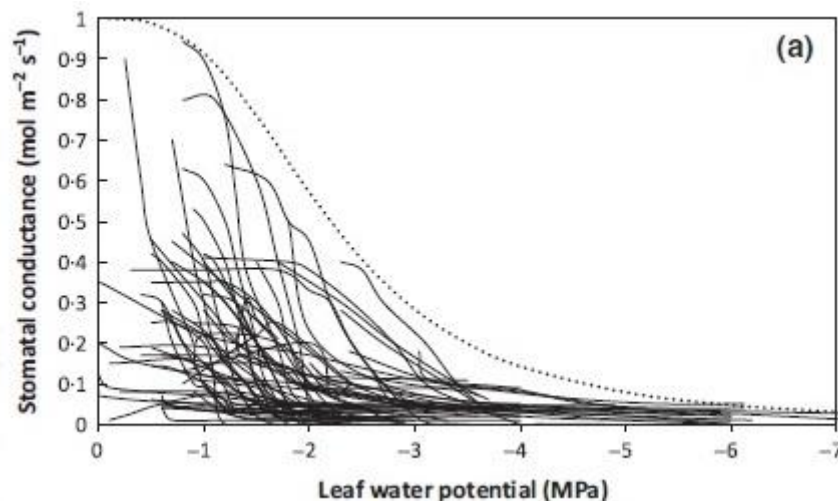


Fig. 5. Variation globale de la régulation stomatique pour 70 espèces de plantes. La régulation stomatique se mesure comme la perte de conductance stomatique avec la diminution du potentiel hydrique de la feuille, perte induite par la fermeture des stomates. Le potentiel hydrique induisant ~90% de perte de conductance stomatique est généralement utilisé pour mesurer la régulation stomatique. Tiré de Klein 2014.

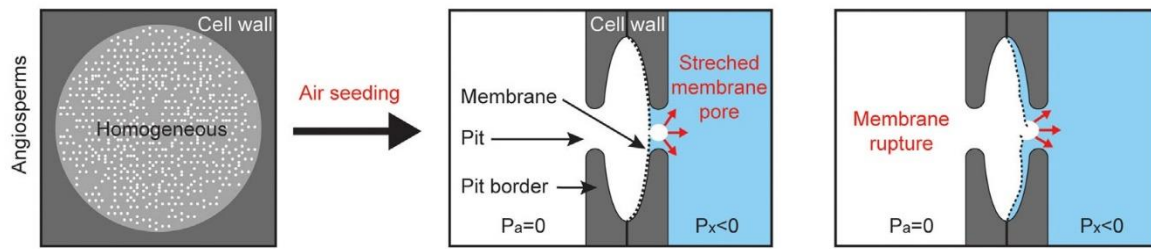


Fig. 6. Illustration du mécanisme du germe d'air. La différence de pression entre un vaisseau embolisé ($P = 0$) et un vaisseau non-embolisé fonctionnelle ($P < 0$) affecte la membrane, qui est étirée vers le vaisseau fonctionnelle. Si la tension est trop forte, une bulle d'air traverse la membrane et crée une embolie dans le vaisseau initialement fonctionnelle, dont la pression deviendra celle de la pression atmosphérique. L'étirement (stretching) de la membrane affectant la taille des pores, ou la rupture de celle-ci, sont des mécanismes suspectés comme augmentant le risque du passage d'une bulle d'air. Tiré de Venturas et al. 2017.

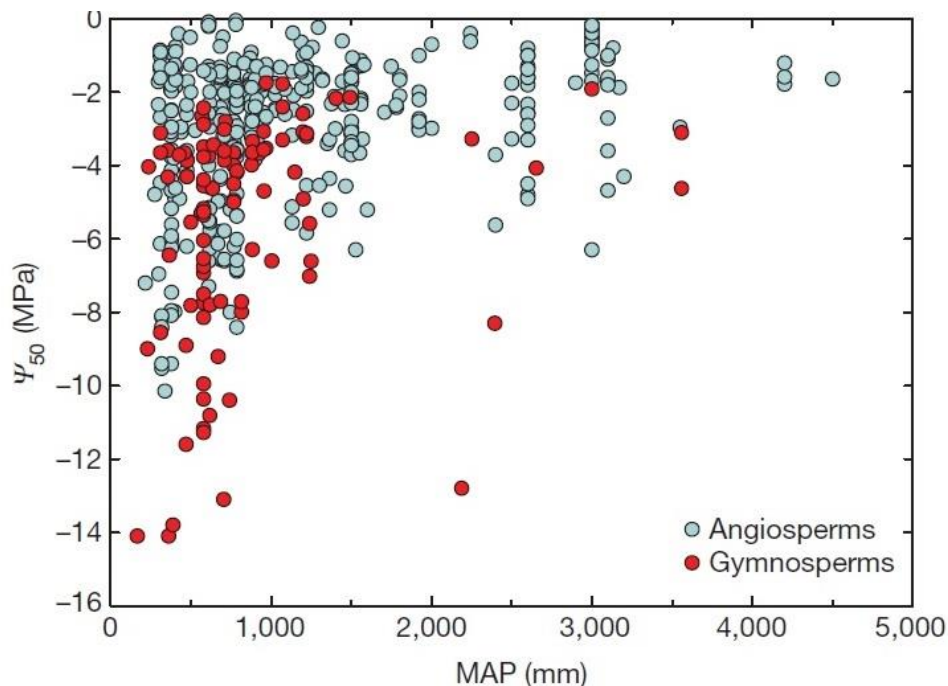


Fig. 7. Variation globale de la résistance à l'embolie du xylème de la tige pour 226 espèces de plante. La résistance à l'embolie est mesurée comme le potentiel hydrique de la tige induisant 50% de perte de conductivité. Tiré de Choat et al. 2012.

Quand les stomates se ferment, la transpiration est non nulle. En effet, la cuticule de la feuille n'est pas parfaitement imperméable, et il peut rester quelques stomates qui fuient. La cuticule et les stomates défailants déterminent la conductance minimale de la feuille ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; Duursma *et al.*, 2019). Ainsi, la transpiration résiduelle déterminée par cette conductance minimale détermine la vitesse de déplétion des stocks d'eau de la plante après la fermeture stomatique (Fig. 8). Les stocks d'eau de la plante sont quant à eux déterminés par le volume des différents tissus et leur capacitance respective ($\text{kg m}^{-3} \text{MPa}^{-1}$), qui est la mesure de la capacité d'un tissu à décharger de l'eau dans le flux transpiratoire par unité de volume de tissu et par unité de chute de pression (Tyree and Ewers, 1991). Enfin, la profondeur d'enracinement et la biomasse racinaire déterminent la capacité d'absorption de l'eau, et a été montrée comme

étant des traits de résistance à la sécheresse (Martin-StPaul *et al.*, 2017; Brum *et al.*, 2017). La séquence théorique des grandes réponses physiologiques est proposée en Fig. 9.

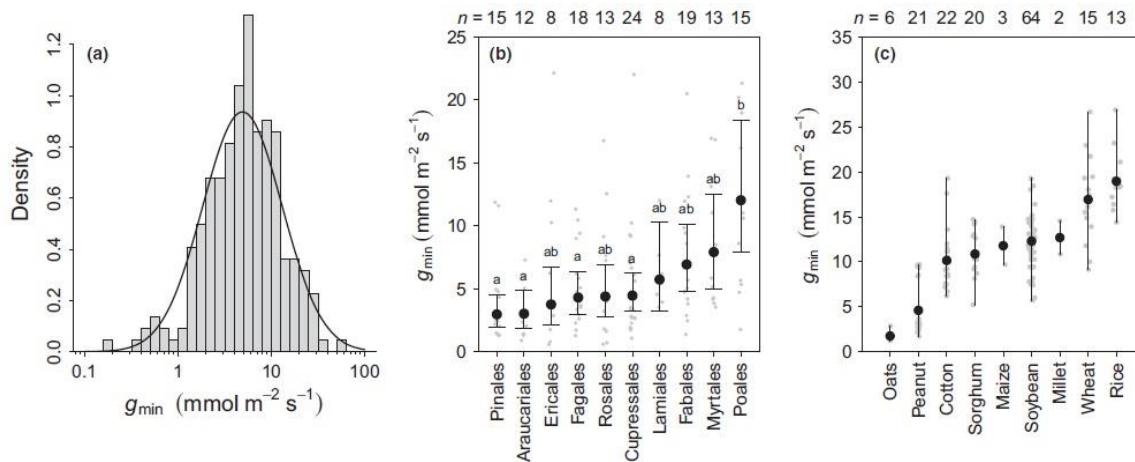


Fig. 8. Variation globale de g_{min} (conductance foliaire minimum) sur la base d'une méta-analyse. (a) Distribution globale de g_{min} pour 221 espèces. (b) Variation globale de g_{min} en fonction du clade. (c) Variation de g_{min} en fonction des principales plantes cultivées. n correspond au nombre d'espèces considérées. Tiré de Duursma et al. 2019.

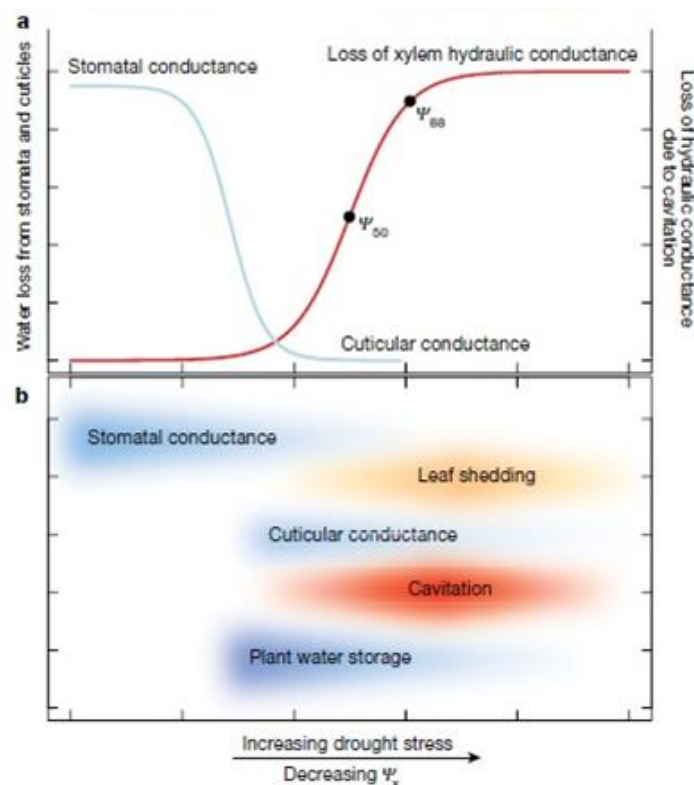


Fig. 9. Réponse moyenne à la sécheresse. (a) En moyenne, la fermeture des stomates en réponse à la diminution du potentiel hydrique intervient avant l'apparition d'embolies. (b) Schéma conceptuel de la séquence des réponses à la sécheresse. La fermeture stomatique intervient globalement en première, les pertes en résiduelle suite à cette réponse deviennent principalement médiées par la conductance foliaire minimum. L'eau stockée dans les tissus de la plante peut permettre de limiter la chute de potentiel hydrique. Lorsque le stress devient important, certaines plantes peuvent perdre leurs feuilles pour minimiser au maximum l'évapotranspiration. Enfin, l'embolie intervient lorsque le potentiel hydrique de la plante devient trop faible, pouvant conduire à la mort. Tiré de Choat et al. 2018.

Cependant, d'autres traits autres que des traits physiologiques (régulation stomatique, résistance à l'embolie, conductance minimum foliaire, capacitance) peuvent être impliqués dans la réponse à la sécheresse, et restent relativement peu explorés. L'évapotranspiration totale d'une plante, même après la fermeture des stomates, est proportionnelle à la surface du houppier. La surface du houppier impacte donc directement la vitesse de déplétion de l'eau dans les tissus de la plante lors d'un stress hydrique. Or, la surface du houppier peut être diminuée graduellement ou soudainement, partiellement ou totalement, par divers mécanismes d'« abandon » des feuilles. La surface du houppier serait ainsi une variable d'ajustement de la demande évaporative de premier plan. Plusieurs études indiquent une diminution du ratio entre surface de houppier et surface de xylème alimentant le houppier (traduisant le rapport entre demande évaporative et approvisionnement en eau, par analogie à un modèle source-puits) avec la hauteur des arbres afin de relâcher la contrainte liée à une forte différence de potentiels hydriques entre les parties proximales et distales pour de grands arbres (McDowell *et al.*, 2002; Ryan *et al.*, 2006; Lehnebach *et al.*, 2018). Quelques études suggèrent que ce ratio est minimisé dans les environnements à faibles disponibilités en eau (Martínez-Vilalta *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2016; Pivovarovoff *et al.*, 2016). L'abscission des feuilles comme trait de résistance à la sécheresse est bien connue pour les forêts tropicales sèches (Méndez-Alonzo *et al.*, 2012; Santiago *et al.*, 2016; Wolfe *et al.*, 2016). Ce trait semble cependant très peu mobilisé pour les forêts tropicales humides (Loubry, 1994a,b), suggérant un ajustement plus graduel sur la surface de houppier.

Un mécanisme très plausible sur une base hydraulique, pour réduire la surface foliaire, est celui de la segmentation. L'hypothèse de segmentation a été introduite par Zimmermann en 1983, et se décline en deux conjectures distinctes. (i) La segmentation hydraulique prédit une différence de résistance hydraulique entre les feuilles et la tige, tel que les feuilles, plus résistantes que la tige, opèrent comme un goulot d'étranglement pour la conduction de l'eau. Cette segmentation induit des potentiels hydriques toujours plus faibles dans les feuilles que dans la tige, favorisant ainsi l'apparition de l'embolie dans les feuilles en premier lieu. (ii) La segmentation de vulnérabilité prédit que les feuilles possèdent un xylème plus vulnérable à l'embolie que les tiges, favorisant de même l'apparition de l'embolie dans les feuilles en premier lieu. Dans les deux cas, il est fortement supposé qu'une fois la feuille embolisée, celle-ci n'est plus conductive, ce qui diminue la surface foliaire effectivement évaporative. Ces 30 dernières années, les études s'intéressant aux segmentations se sont attachées à montrer s'il y avait une différence de résistance hydraulique ou de résistance à l'embolie entre feuilles et tige en fonction des espèces. Cependant l'efficacité de la segmentation comme mécanisme de

résistance à la sécheresse des plantes n'a été que peu explorée (Blackman *et al.*, 2019b). De plus, la coordination potentielle entre segmentation hydraulique et segmentation de vulnérabilité n'a jamais été explorée. Par ailleurs, il n'existe aucune donnée à ma connaissance sur la résistance à l'embolie du xylème des feuilles pour l'Amazonie.

La surface de la feuille en tant qu'organe est également un trait morphologique important pour la résistance à la sécheresse. Plusieurs études montrent que les feuilles à petites surfaces sont plutôt associées aux environnements à faibles disponibilités en eau (Halloy and Mark, 1996; Ackerly *et al.*, 2002; Peppe *et al.*, 2011; Moles *et al.*, 2014). La physiologie centrée sur la photosynthèse a pu montrer que l'intégrité de l'appareil photosynthétique était dépendante de la thermorégulation de la feuille par évapotranspiration et négativement impactée par une chaleur excessive (Michaletz *et al.*, 2016; Drake *et al.*, 2018). La surface d'une feuille est positivement corrélée à l'épaisseur de la couche limite à sa surface. Les grandes feuilles doivent ainsi fournir une plus grande transpiration pour assurer la thermorégulation de la feuille. Les arbres à petites feuilles ont donc théoriquement besoin de moins d'eau pour assurer un même niveau de thermorégulation (Okajima *et al.*, 2012; Leigh *et al.*, 2017). Cependant, la surface de la feuille apparaît comme très peu abordée dans la perspective de la résistance à la sécheresse (Martin-StPaul *et al.*, 2017; Blackman *et al.*, 2019b). Il faut dire que c'est un trait compliqué à résumer au travers d'une moyenne à l'échelle individuelle et spécifique. En effet, la taille, la morphologie et l'anatomie des feuilles varient considérablement au cours de l'ontogénie et selon leur position au sein de l'architecture de l'arbre (Barthélémy and Caraglio, 2007; Dang-Le *et al.*, 2013). De plus, les structures morfo-anatomiques qui sous-tendent à la variation interspécifique et intraspécifique de la surface de la feuille sont très peu connues, en comparaison à la masse foliaire surfacique par exemple (John *et al.*, 2017).

5. La promesse de l'approche hydraulique des plantes

L'impact du changement climatique sur la composition floristique et fonctionnelle des communautés d'arbres constituant la forêt amazonienne peut se manifester sur (i) la reproduction et les capacités de dispersion des espèces ; (ii) le filtrage environnemental des espèces (acclimatation/adaptation aux conditions changeantes), (iii) aux interactions biotiques (compétition, symbioses, prédation..) selon comment les communautés seront remaniées. Le filtrage environnemental est l'interaction des individus avec l'environnement abiotique, tel que les individus physiologiquement trop contraints ne peuvent s'établir, et tel que l'espèce en question est peu ou pas représentée dans l'environnement en question (Kraft *et al.*, 2008). Comme suggéré précédemment (partie 3.), la mortalité et le ralentissement de la croissance des

arbres, ainsi que les changements de composition floristique sont directement liés à un changement de régime hydrique en Amazonie. Trois échelles de temps sont à considérer. On peut en premier lieu considérer la diminution graduelle (une tendance) des précipitations totales annuelles. D'un point de vue saisonnier, les saisons sèches tendent à se rallonger et à s'intensifier. Enfin, l'occurrence des événements climatiques extrêmes ponctuels tels que ceux liés à El Niño tend à augmenter, ainsi que leur intensité (Li *et al.*, 2006; Marengo *et al.*, 2011; Lewis *et al.*, 2011; Marengo and Espinoza, 2016; Jiménez-Muñoz *et al.*, 2016; Erfanian *et al.*, 2017; Aleixo *et al.*, 2019). Du point de vue de l'écologie des communautés, ces changements sont avant tout une recomposition des gradients environnementaux dans l'espace et dans le temps, qui modifient actuellement leur assemblage, et qui modifieront certainement les fonctions écosystémiques des forêts en ce qui concerne les cycles de l'eau et du carbone.

Afin d'aborder les effets potentiels du filtrage environnemental, une approche majeure en écologie des communautés est d'étudier comment les distributions de valeur de 'traits' varient le long de gradients environnementaux. Un 'trait' se définit comme toute caractéristique morphologique, physiologique ou phénologique mesurable au niveau individuel, de la cellule à l'organisme entier, sans référence à l'environnement ou à tout autre niveau d'organisation (Violle *et al.*, 2007). Lorsque les distributions des valeurs d'un trait varient en fonction des conditions environnementales globales, on parle alors de trait de réponse. Ces traits sont dits fonctionnels s'il est possible d'établir qu'ils ont un pouvoir prédictif sur la performance ([EN] *fitness*) de l'individu mesuré ou des espèces (Shipley *et al.*, 2016). Le concept de trait fonctionnel implique l'idée qu'un trait doit pouvoir être relié à une ou plusieurs fonctions en particulier. En m'appuyant sur le cadre conceptuel proposé par Violle *et al.* (2007), je définis un trait hydraulique comme étant un trait relié à une ou plusieurs des grandes fonctions impliquées dans la gestion de l'eau chez la plante (absorption, conduction, transpiration, stockage) quel que soit sa nature (structurel, physiologique ou phénologique) et son lien avéré avec la performance de l'individu. Je définis également comme trait de résistance à la sécheresse les traits hydrauliques qui s'avèrent être fonctionnels, c'est-à-dire ayant un impact avéré sur la performance de l'arbre **en contexte de stress hydrique**, essentiellement sur sa croissance et sa survie.

L'étude de la variabilité des traits et de leurs corrélations en écologie des communautés a permis de catalyser la compréhension des grandes stratégies écologiques (Fig. 9; Westoby *et al.*, 2002; Wright *et al.*, 2004; Chave *et al.*, 2009; Díaz *et al.*, 2016), des processus d'assemblage et de maintien des communautés végétales (Lavorel and Garnier, 2002; McGill *et al.*, 2006; Kraft *et al.*, 2008; Kunstler *et al.*, 2016), et le fonctionnement des écosystèmes (Lavorel and

Garnier, 2002; Garnier *et al.*, 2004; Liang *et al.*, 2016). Ces grandes avancées en écologie ont notamment été permises par la mise en place de protocoles standardisés pour la mesure des traits (Cornelissen *et al.*, 2003; Pérez-Harguindeguy *et al.*, 2013) et de bases de données à l'image de TRY (Kattge *et al.*, 2011). L'identification de grandes stratégies, les protocoles standardisés, et les bases de données ont favorisé l'émergence de traits largement utilisés, car à la fois facilement mesurables à grande échelle (c.-à-d. pour un très grand nombre d'individus, l'échelle d'une communauté) et standardisables. Les traits généralement utilisés sont par exemple (i) la densité du bois qui peut être rattachée aux fonctions de soutien mécanique, à la défense, et au stockage (ii) la masse surfacique foliaire pouvant être rattachée à l'assimilation photosynthétique et à la défense, ou (iii) la hauteur de la plante pouvant être rattachée à l'interception de la lumière, mais qui aura aussi de fortes implications en termes de contraintes mécaniques et de conduction. Certaines analyses basées sur ces traits 'populaires' ont révélé leur nature 'fonctionnelle' en les reliant aux performances des espèces (Poorter and Bongers, 2006; Poorter *et al.*, 2008, 2010, 2018; Chave *et al.*, 2009; Hérault *et al.*, 2011).

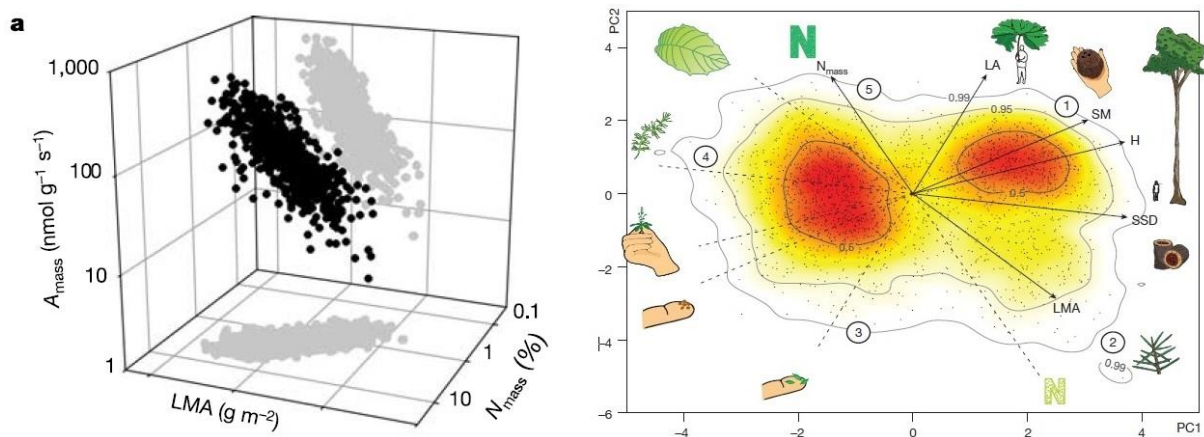


Fig. 10. Illustrations de quelques grands axes de stratégies écologiques identifiés grâce à l'approche fonctionnelle. (a) Le spectre économique foliaire oppose les feuilles à long retour sur investissement sur les nutriments avec une forte masse foliaire surfacique et une longue durée de vie, aux feuilles à rapide retour sur investissement avec une forte assimilation photosynthétique. Tiré de Wright *et al.* 20004. (b) Le spectre global décrit par Diaz *et al.* (2015), explique ~75% de la variation pour 46000 espèces de plantes, en intégrant seulement la masse surfacique foliaire, la densité du bois, la hauteur des plantes, la surface de la feuille, la concentration foliaire en azote, et la masse des graine.

La majorité des études ayant cherché à expliquer la dynamique forestière (Chao *et al.*, 2008; Poorter *et al.*, 2008, 2018; Wright *et al.*, 2010; Hérault *et al.*, 2011; Paine *et al.*, 2015), l'assemblage des communautés (Kraft *et al.*, 2008; Swenson and Enquist, 2009; Paine *et al.*, 2011; Fortunel *et al.*, 2014, 2016) ou modéliser les effets du changement climatique sur la dynamique des végétations (Greenwood *et al.*, 2017; Aleixo *et al.*, 2019) par les traits fonctionnels se sont basées sur ces traits. Les bases de données concernant ces traits (Kattge *et al.*, 2011) ouvrent aussi la voie à des modèles prédictifs de la dynamique des végétations plus

basées sur des traits et des processus (Scheiter *et al.*, 2013; Sakschewski *et al.*, 2015). De tels modèles ouvrent aussi d'importantes perspectives concernant les effets du changement climatique sur la dynamique des végétations aux échelles régionales et globales (Togashi *et al.*, 2018). Cependant, ces « traits relativement simples à mesurer » ne rendent pas compte de manière satisfaisante des processus en jeu, sur la base d'une faible part expliquée de la mortalité ou de la variation des espèces avec l'environnement. Cela peut certainement s'expliquer du fait que ces traits sont généralement très intégrateurs et indirectement liés à des fonctions précises. Par exemple, Greenwood *et al.* (2017) n'ont expliqué qu'une faible part de la mortalité des arbres induite par sécheresse à une échelle globale, à partir de la densité du bois et la masse surfacique des feuilles.

Néanmoins, les traits hydrauliques sont pour beaucoup des traits physiologiques dont la mesure expérimentale peut s'avérer bien plus lourde que la mesure d'un trait morphologique. La mesure du P_{50} (potentiel hydrique pour lequel on a 50% de perte de conductivité) par exemple peut s'avérer très longue selon la méthode utilisée (Cochard *et al.*, 2013). L'observation au microscope électronique par transmission de la structure des ponctuations intervasculaire, que l'on sait impliquée dans la résistance à l'embolie (Lens *et al.*, 2011; Scholz *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2016), mobilise également des protocoles très lourds et chronophages. Il en résulte que ces traits sont moins étudiés et utilisés dans les études et modèles évoqués ci-dessus contrairement à des traits plus facilement mesurables comme le LMA. Pour l'Amazonie par exemple, il existe à ce jour (i) peu de données sur la P_{50} des tige (Choat *et al.*, 2012; Oliveira *et al.*, 2019), (ii) aucune donnée sur la résistance à l'embolie du xylème des feuilles, et (iii) aucune donnée sur l'anatomie des ponctuations intervasculaires.

La littérature souligne néanmoins la pertinence des traits hydrauliques. Les manipulations basées sur des exclusions de pluies (Schuldt *et al.*, 2011; Rowland *et al.*, 2015; Binks *et al.*, 2016; Powell *et al.*, 2017), ou bien sur des expériences en conditions contrôlées en serre (Kursar *et al.*, 2009; Urli *et al.*, 2013; Barigah *et al.*, 2013; Blackman *et al.*, 2019b,a) montrent que les traits hydrauliques (c.-à-d. les traits physiologiques directement liés aux fonctions d'absorption, de conduction, de stockage, de transpiration de l'eau dans la plante) sont directement reliés à la réponse des plantes et des forêts au stress hydrique. Ces mêmes études suggèrent que les traits hydrauliques sont plus directement impliqués dans la mortalité des plantes que des traits tels que la densité du bois ou la masse surfacique foliaire. Ces études suggèrent par la même occasion que les traits hydrauliques pourraient avoir une forte utilité dans la compréhension des processus d'assemblage des communautés, ainsi que dans la

prédiction et la modélisation de la réponse des forêts au changement climatique se matérialisant essentiellement par sécheresses (voir aussi la synthèse de O'Brien *et al.*, 2017).

L'étude des traits hydrauliques a déjà fait quelques preuves de leur efficacité pour expliquer l'assemblage des communautés. Elle a permis une meilleure compréhension de ces traits sur les dynamiques forestières, en expliquant une part de la croissance et de la mortalité des arbres (Zhang and Cao, 2009; Poorter *et al.*, 2010; Markesteijn *et al.*, 2011; Eller *et al.*, 2018), ce qui valide le caractère fonctionnel des traits hydrauliques d'après la définition de Violle *et al.* (2007). Les traits hydrauliques ont aussi permis de prédire une part de la distribution des espèces selon les gradients environnementaux (Blackman *et al.*, 2012; Bartlett *et al.*, 2016; Trueba *et al.*, 2017; Larter *et al.*, 2017; Oliveira *et al.*, 2019). Enfin, les traits hydrauliques permettent une meilleure compréhension et prédiction des effets de la modification des régimes de sécheresse avec le changement climatique (Fig. 11; Anderegg *et al.*, 2012, 2015, 2016, 2018; Tai *et al.*, 2017; Adams *et al.*, 2017; McDowell *et al.*, 2018; Choat *et al.*, 2018), avec d'importantes perspectives dans l'intégration de ces traits dans des modèles prédictifs de la dynamique des végétations (Sack *et al.*, 2016; Martin-StPaul *et al.*, 2017; Maréchaux and Chave, 2017).

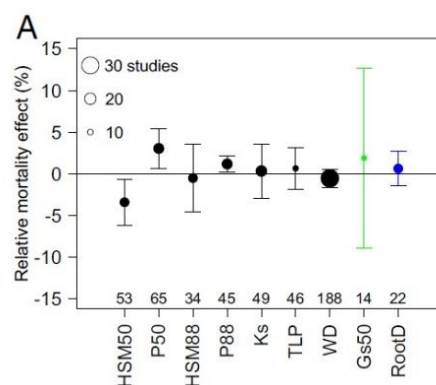


Fig. 11. Pouvoir prédictif de différents traits dans la mortalité des arbres en lien avec la sécheresse sur la base d'une méta-analyse. Changement dans l'anomalie de mortalité par changement d'unité du trait considéré. P50 : potentiel hydrique du xylème de la tige induisant 50% de perte de conductivité ; HSM50 : différence entre le potentiel hydrique foliaire minimum et P50 ; P88 : idem que P50 mais en considérant 88% de perte de conductivité ; HSM88 : idem que HSM50 mais en considérant P88 ; Ks : conductivité spécifique du xylème, traduit l'efficacité de conduction de xylème ; TLP : potentiel hydrique de la feuille à la perte de turgescence ; WD : densité du bois ; Gs50 : potentiel hydrique de la feuille à 50% de perte de conductance stomatique ; RootD : profondeur d'enracinement. Tiré de Anderegg *et al.* 2016.

La pertinence des traits hydrauliques pour prédire l'assemblage des communautés ou l'impact des sécheresses sur les végétations est bien établie pour des gradients environnementaux contrastés (Bartlett *et al.*, 2016; Trueba *et al.*, 2017; Larter *et al.*, 2017), plusieurs biomes (Fig. 11; Anderegg *et al.*, 2016; Adams *et al.*, 2017), ou les régions tempérées (Anderegg *et al.*, 2015; Tai *et al.*, 2017), contrairement aux échelles locales pour les tropiques.

De plus, les études intégrant plusieurs traits hydrauliques et de résistance à la sécheresse dans ces perspectives restent rares, d'autant plus pour les tropiques.

6. Architecture et fonctionnement hydraulique de la pousse feuillée

Ces 20 dernières années ont vu apparaître et se développer un fort engouement pour le fonctionnement hydraulique de la feuille, avec des chercheurs s'étant spécialisés sur le sujet (Buckley, 2005, 2019; Sack and Holbrook, 2006; Sack and Scoffoni, 2013; Sack *et al.*, 2015; Scoffoni *et al.*, 2017). Cet engouement peut s'expliquer du fait que la feuille est un organe essentiel pour le fonctionnement de la plante, notamment du point de vue hydraulique et de l'assimilation carbonée.

La feuille est avant tout le lieu d'une des fonctions les plus déterminantes pour la plante et des plus étudiées : la photosynthèse (Adams and Terashima, 2018). Le CO₂ de l'atmosphère est absorbé par les stomates, avant d'être transféré dans les chloroplastes pour la synthèse des sucres. Le taux d'absorption du CO₂ par les stomates détermine la productivité de la plante. Or, l'ouverture des stomates est contrôlée par la transpiration, et donc par extension par la fonction hydraulique. De ce fait, la productivité d'une plante par l'assimilation photosynthétique est intimement liée à la transpiration et à la fonction hydraulique (Brodribb, 2009). Le corolaire de cela est que le système hydraulique pose une forte limite physique à la productivité et à la survie de la plante (Brodribb, 2009).

Les stomates, qui sont des médiateurs des fonctions photosynthétiques et hydrauliques, ne sont présents qu'au niveau des feuilles. Les stomates sont soumis à une forte variabilité structurelle et fonctionnelle, avec un impact important sur le statut hydrique de la plante entière (Buckley, 2005, 2019). De plus, le potentiel hydrique foliaire induisant la fermeture des stomates est un trait majeur de résistance à la sécheresse (Martin-StPaul *et al.*, 2017).

Plus largement, la majorité des feuilles se situent et sont agglomérées en extrémité de tige, ce que j'appellerai tout au long de cette thèse la pousse feuillée. La pousse feuillée est le site où la fonction de croissance en hauteur est réalisée, et où se situe une grande partie des méristèmes susceptibles de rentrer en activité pour la construction du système ramifié et de la couronne de demain. Conserver l'intégrité hydraulique de ces structures est donc primordial pour assurer la croissance et la survie de la plante. Du point de vue du continuum sol-plante-atmosphère, la pousse feuillée concentre à une échelle spatiale réduite deux interfaces : l'interface tige-feuille et l'interface feuille-atmosphère. Du fait qu'elles sont disposées à l'extrémité de la plante, à l'interface plante-atmosphère, les feuilles expérimentent les potentiels hydriques les plus faibles de la plante, et donc les plus stressants. Les feuilles représentent aussi

la plus grande surface de l'arbre en contact avec l'atmosphère asséchant. Sous l'hypothèse d'une résistance à l'embolie du xylème homogène entre les racines, les branches et les nervures de feuilles, le risque d'embolie est le plus élevé au niveau des feuilles. Développer des mécanismes de résistance à la sécheresse propres aux feuilles est donc important pour la plante. De plus, la compartimentation de structure et de fonctionnement entre la tige et la feuille peut avoir une signification fonctionnelle propre (Tyree and Ewers, 1991; Edelin, 1998), dont la sénescence des feuilles peut être vue comme un cas emblématique (Wolfe *et al.*, 2016). Une telle compartimentation a déjà été évoquée avec les mécanismes de segmentation hydraulique et de segmentation de vulnérabilité.

Enfin, la relation tige-feuille a principalement été investie par le passé par une approche morphologique. Ces approches sont en pleine continuité avec les lois de Corner (Corner, 1949; Hallé *et al.*, 1978), et notamment son principe de conformité axiale : « *The stouter, or more massive, the axis in a given species, the larger and more complicated are its appendages. Thus the stouter the main stem, the bigger the leaves and the more complicated their form* ». Ces approches ont été importantes pour caractériser les rapports de taille entre la tige et la feuille du point de vue morphologique, et en même temps mieux comprendre ce qui présidait à la variation intra- et interspécifique de la taille des feuilles, notamment de la surface foliaire. Mais les plans d'organisation anatomiques qui sous-tendent à la coordination morphologique et fonctionnelle entre tige et feuille restent toujours mal connus (voir Fan *et al.*, 2017 pour le genre *Ficus*). La surface foliaire est certainement le trait fonctionnel le plus mesuré, ou au moins le plus référencé dans les bases de données (Kattge *et al.*, 2011). Ce trait peut être rattaché aux fonctions d'interception de la lumière et d'assimilation photosynthétique. Cependant, c'est un trait un peu moins étudié dans la réponse des espèces aux gradients environnementaux, contrairement à des traits comme la densité du bois ou la masse foliaire surfacique. C'est aussi un trait un peu moins bien compris du point de vue de sa signification fonctionnelle pour la plante, notamment dans la perspective de l'économie du carbone. Or l'intégration d'autres dimensions du fonctionnement de la plante, telles que l'hydraulique ou la mécanique, en lien avec la variation de la taille foliaire, n'a été encore que peu entreprise pour le moment.

7. Objectifs de la thèse

L'objectif global de la thèse est de (i) mieux comprendre l'organisation de la pousse feuillée, notamment dans la coordination morphologique entre la tige et la feuille, et la compartimentation entre la tige et la feuille, et (ii) d'étudier l'impact de la structure morpho-anatomique et du fonctionnement hydraulique de la pousse feuillée sur la résistance à la

sécheresse de l'arbre. L'étude de l'organisation de la pousse feuillée a aussi pour but de poser un cadre de lecture, en tirant profit de la diversité des forêts tropicales humides pour envisager la plus grande gamme de variation que possible pour la pousse feuillée. Cette thèse se base ainsi sur l'étude de traits morphologiques, anatomiques, et physiologiques en forêt naturelle.

Les études ou les discussions relatives à la résistance à la sécheresse sont envisagées pour différentes échelles : (i) la saisonnalité pluviométrique, en lien avec la phénologie des feuilles, (ii) les évènements de sécheresse rares, mais intenses, susceptibles s'augmenter en fréquence avec le changement climatique, (iii) et les changements progressifs, altérant les gradients environnementaux spatiaux.

Les arbres sont des structures pérennes, avec des temps de génération très longs, et pouvant vivre plusieurs centaines d'années. Ainsi, il est très probable que la plupart des individus expérimenteront le changement climatique durant leur vie. La plasticité phénotype, c.-à-d. la capacité d'un génotype donné à exprimer plusieurs phénotypes en relation avec l'environnement sera certainement un processus clé dans la perspective du changement climatique (Nicotra *et al.*, 2010; Moczek *et al.*, 2011; Fonti and Jansen, 2012). Une grande variabilité intraspécifique, à la fois génotypique et phénotypique, augmente aussi les potentialités d'acclimatation et d'adaptation avec un changement d'environnement. C'est pourquoi cette thèse intègre une perspective intraspécifique, avec le modèle *Cecropia obtusa*. Elle tente notamment de quantifier la variabilité des traits foliaires induite par la saisonnalité, le changement climatique se matérialisant notamment en un rallongement et un renforcement des saisons sèches (Duffy *et al.*, 2015; Aleixo *et al.*, 2019).

Pour les besoins de la thèse, je définirai deux acceptions de la résistance à la sécheresse : la résistance à la sécheresse *stricto sensu* et la tolérance à la sécheresse. **Je définis la résistance à la sécheresse comme la maximisation de la capacité de survie face à un stress hydrique, qui concrètement se matérialise par la maximisation du temps de dessiccation** (Blackman *et al.*, 2016), que cela soit face à une sécheresse constante et longue, ou une vague de chaleur. À l'échelle de plusieurs individus (population, communauté), la résistance à la sécheresse pourrait aussi se mesurer comme le taux de survie après un évènement de sécheresse intense et/ou long. C'est cette acception qui est principalement abordée dans cette thèse. **Je définis la tolérance à la sécheresse comme la capacité à maintenir un fonctionnement « normal » malgré un stress hydrique.** La tolérance à la sécheresse pourrait ainsi être mesurée pour une fonction donnée, telles l'assimilation photosynthétique ou la croissance, comme l'écart de valeurs de trait traduisant cette fonction entre une condition « normale » et la condition stressante. La tolérance à la sécheresse serait corrélée à la minimisation de cet écart.

8. Structure de la thèse

La thèse est composée d'un chapitre de synthèse bibliographique sur les différents acquis et fronts de science dans le domaine de l'hydraulique des plantes, ainsi que de sept chapitres structurants présentés sous forme d'articles. Le premier chapitre est assez étoffé et a pour but d'aider le lecteur à resituer cette étude dans le cadre plus général qu'est l'étude du fonctionnement hydraulique de la plante. Écrire cette synthèse a été essentiel pour moi dans la construction de ma pensée au cours de cette thèse et il me semble important de la restituer. Néanmoins, je ne voudrais pas que sa lecture éloigne trop le lecteur de la problématique présentée dans cette introduction et du corps de cette thèse qui s'articule autour de projet d'articles. Par ailleurs, si la lecture de cette synthèse peut être optionnelle pour le spécialiste, je pense qu'elle a son utilité pour les personnes qui ne baignent pas dans cette discipline qui est devenue extrêmement dynamique ces deux dernières décennies. Les chapitres du corps de la thèse s'organisent autour de deux parties distinctes : (1) une première partie centrée sur les déterminants anatomiques et fonctionnels de la coordination tige-feuilles au sein de la pousse feuillée ; cette partie aborde cette question aux échelles inter- et intraspécifiques, (2) une seconde partie centrée sur les mécanismes de résistance à la sécheresse qui sera développée uniquement à l'échelle interspécifique. Le dernier chapitre est une synthèse de ces deux approches dans une perspective écologique, et amorce la discussion générale.

Le **chapitre 1** est une revue des principales notions et concepts structurant la discipline de l'hydraulique des plantes aujourd'hui. Cette revue s'appuie sur l'ensemble des recherches bibliographiques que j'ai pu réaliser ces dernières années.

Le **chapitre 2** s'intéresse à la relation tige-feuille au sein de la pousse feuillée, ainsi qu'à la relation entre la diversité de surface foliaire et les propriétés vasculaires et hydrauliques. Ce chapitre est basé sur l'étude de 42 espèces d'arbres de forêt tropicale humide.

Le **chapitre 3** développe le même cadre conceptuel et méthodologique que le chapitre 2, mais à l'échelle intraspécifique pour le modèle *Cecropia obtusa* Trécul (Urticaceae), et uniquement à l'échelle de la feuille dans la relation pétiole-limbe. Les propriétés vasculaires et hydrauliques du pétiole sont étudiées vis-à-vis de la variation de surface de limbe.

Le **chapitre 4** est dans la continuité du chapitre 3, se basant sur le même matériel biologique. Seulement ici est étudié l'effet de la saisonnalité, de l'ontogénie, et de la sénescence sur la variation des propriétés morphologiques, anatomiques, vasculaires, et hydrauliques de la feuille de *Cecropia obtusa* Trécul (Urticaceae). Ce chapitre clôt l'incursion en à l'échelle intraspécifique.

Le **chapitre 5** s'intéresse aux déterminants anatomiques de la résistance à l'embolie du bois du xylème au travers l'étude de 25 espèces d'arbres. L'originalité de ce chapitre repose sur (i) sur la considération conjointe des principaux mécanismes évoqués dans la littérature sur cette question et (ii) une approche multiéchelles où les traits anatomiques sont considérées depuis les surfaces des différents types de tissus jusqu'à la structure des ponctuations intervasculaires.

Le **chapitre 6** est un test de l'hypothèse de segmentation de vulnérabilité pour la forêt tropicale humide à l'interface tige-feuille, en s'intéressant à 20 espèces d'arbres. La relation entre la segmentation de vulnérabilité et la segmentation hydraulique est testée, ce qui n'a jamais été proposée auparavant. Quelques déterminants anatomiques potentiels de ces segmentations sont aussi testés.

Après avoir montré la forte occurrence de segmentation de vulnérabilité chez les espèces étudiées dans le cadre du chapitre 6, le **chapitre 7** développe un modèle théorique pour comprendre l'effet d'une telle segmentation sur la résistance à la sécheresse des arbres. Par extension, ce chapitre permet de tester dans quelle mesure la segmentation peut être considérée comme un mécanisme de résistance à la sécheresse.

Enfin, le **chapitre 8** fait une synthèse de l'ensemble des traits morphologiques, anatomiques et physiologiques mesurés dans l'ensemble de cette thèse et des projets alliés. Ce chapitre permet de tester dans quelle mesure ces traits peuvent prédire l'écologie des espèces étudiées sur la base des données disponibles à Paracou : performance de croissance, réponse des arbres à la sécheresse au travers de la croissance, distribution hydrotopographique.

L'ensemble des chapitres structurant cette thèse sont finalement synthétisés et discutés dans une **discussion générale**.

9. Site de l'étude

L'ensemble de la thèse a été réalisé en Guyane française sur le continent sud-américain. La Guyane française est un département français de 83 534 km², dont ~95% du territoire est recouvert de forêts tropicales humides. La Guyane française fait partie du bouclier des Guyanes (Fig. 12), une formation géologique précambrienne (~1,7 milliard d'années), composé d'ouest en est du sud-est du Venezuela, du Guyana, du Surinam, de la Guyane française, et de l'Amapa (état du nord-Brésil). Le bouclier des Guyanes représente un grand bassin versant du massif amazonien, avec le bassin versant de l'Amazonie plus au sud. Le bouclier des Guyanes est caractérisé par une composition floristique dominée par les Fabacées, les Burséracées, les Lecythidacées, et les Chrysobalanacées (ter Steege *et al.*, 2006).



Fig. 12. Situation géographique du bouclier des Guyanes. Cette formation géologique correspond globalement à un bassin versant différent de celui de l'Amazonie.

La Guyane française est située entre 2 et 6° de latitude. Les précipitations annuelles moyennes sont comprises entre 2000 et 4000 mm, avec un fort gradient est-ouest, et un plus faible gradient nord-sud. Les plus fortes précipitations se situent au nord-est du territoire (~3500-4000 mm), et les plus faibles à l'ouest et au sud-ouest (~2000-2500 mm). Les oscillations de la zone intertropicale de convergence induisent une saisonnalité des précipitations en Guyane française et quatre périodes peuvent être distinguées (Nicolini *et al.*, 2012). Une longue saison sèche caractérise la période allant de juillet à novembre. S'en suivent une courte saison des pluies en décembre-janvier puis une courte saison sèche en février-mars (« le petit été de mars »). Une longue saison des pluies caractérise les mois d'avril à juin. La diminution des pluies vers le mois de mars n'impacte que faiblement la disponibilité en eau du sol (Wagner *et al.*, 2011, 2012). Le massif forestier est principalement composé de forêts de basse altitude, avec une forte alternance de vallées peu profondes et humides (ou bas-fonds) avec des collines ou plateaux, sur l'ensemble du territoire.

L'ensemble de l'échantillonnage pour la thèse a été réalisé sur deux sites (Fig. 13). L'échantillonnage pour les résultats concernant l'échelle interspécifique (**Chapitres 2, 5, 6, 7**) a été réalisé sur le site expérimental du CIRAD de Paracou (<https://paracou.cirad.fr/website>; 5°16'26''N, 52°55'26''W). La précipitation annuelle sur ce site est de 3041 mm et la température moyenne de l'air sur l'année est de 25.7 °C. Ce site est une station expérimentale installée sur la commune de Sinnamary (5°18'N, 52°55'W) depuis 1984, constitué de parcelles de suivies : 15 parcelles de 6.25 ha et une parcelle de 25 ha. En 1984, 12 parcelles de 6.25 ha ont été délimitées et ont subies différents traitements pour étudier la régénération forestière après perturbation, dans une première perspective d'optimiser l'exploitation forestière. Trois parcelles ont servi de contrôle, et trois groupes de trois parcelles ont subi une exploitation avec trois intensités différentes. Pour ces 12 parcelles exploitées ou témoins, tous les arbres supérieurs à 10 cm de diamètre à hauteur de poitrine sont suivis pour la croissance en diamètre, avec une mesure annuelle entre 1984 et 1995, et une mesure bisannuelle par la suite. L'ensemble des 16 parcelles sont inventoriées, où tous les arbres supérieurs à 10 cm de diamètre sont identifiés à l'espèce, et tous les deux ans pour un suivi de biodiversité depuis le milieu des années 1990. En 2016, 41 064 arbres étaient identifiés représentant plus de 500 espèces. L'ensemble des prélèvements et mesures pour cette thèse n'ont été effectués que sur les parcelles de forêts non perturbées.

L'échantillonnage pour les chapitres à l'échelle intraspécifique (**Chapitres 3 et 4**), qui portent sur *Cecropia obtusa*, a été réalisé sur le site de Counami (5,41'43''N, 53,17'54''W) situé sur la commune d'Iracoubo. La moyenne annuelle sur la commune d'Iracoubo entre 1980 et 2015 est de 2805 mm, et est donc légèrement inférieure à celle de Paracou. Counami est un massif forestier en exploitation, dont la piste forestière de ~80 km en direction du sud a été graduellement ouverte depuis 20-30 ans. Ce site est intéressant, car (1) l'ouverture de la piste constitue une forte perturbation qui a été propice à l'installation de deux espèces de *Cecropia*, *C. obtusa* et *C. sciadophylla*, et (2) l'ouverture graduelle de la piste permet l'étude de chronoséquences.



Fig. 13. Situation géographique des deux sites d'études de cette thèse en Guyane française : Paracou et Counami.

BIBLIOGRAPHIE

- Ackerly D, Knight C, Weiss S, Barton K, Starmer K.** 2002. Leaf size, specific leaf area and microhabitat distribution of chaparral woody plants: contrasting patterns in species level and community level analyses. *Oecologia* **130**, 449–457.
- Adams WWI, Terashima I (Eds.).** 2018. *The Leaf: A Platform for Performing Photosynthesis*. Springer International Publishing.
- Adams HD, Zeppel MJB, Anderegg WRL, et al.** 2017. A multi-species synthesis of physiological mechanisms in drought-induced tree mortality. *Nature Ecology and Evolution*.
- Aguilos M, Hérault B, Burban B, Wagner F, Bonal D.** 2018. What drives long-term variations in carbon flux and balance in a tropical rainforest in French Guiana? *Agricultural and Forest Meteorology* **253–254**, 114–123.
- Aleixo I, Norris D, Hemerik L, Barbosa A, Prata E, Costa F, Poorter L.** 2019. Amazonian rainforest tree mortality driven by climate and functional traits. *Nature Climate Change* **9**, 384.
- Allen CD, Macalady AK, Chenchouni H, et al.** 2010. A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests. *Forest Ecology and Management* **259**, 660–684.
- Allié E, Pélissier R, Engel J, Petronelli P, Freycon V, Deblauwe V, Soucémariadin L, Weigel J, Baraloto C.** 2015. Pervasive Local-Scale Tree-Soil Habitat Association in a Tropical Forest Community. *PLOS ONE* **10**, e0141488.
- Anderegg WRL, Berry JA, Smith DD, Sperry JS, Anderegg LDL, Field CB.** 2012. The roles of hydraulic and carbon stress in a widespread climate-induced forest die-off. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **109**, 233–237.
- Anderegg WRL, Flint A, Huang C, Flint L, Berry JA, Davis FW, Sperry JS, Field CB.** 2015a. Tree mortality predicted from drought-induced vascular damage. *Nature Geoscience* **8**, 367–371.
- Anderegg WRL, Flint A, Huang C, Flint L, Berry JA, Davis FW, Sperry JS, Field CB.** 2015b. Tree mortality predicted from drought-induced vascular damage. *Nature Geoscience* **8**, 367–371.
- Anderegg WRL, Klein T, Bartlett M, Sack L, Pellegrini AFA, Choat B, Jansen S.** 2016. Meta-analysis reveals that hydraulic traits explain cross-species patterns of drought-induced tree mortality across the globe. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **113**, 5024–5029.
- Anderegg WRL, Konings AG, Trugman AT, et al.** 2018. Hydraulic diversity of forests regulates ecosystem resilience during drought. *Nature* **561**, 538.
- Baraloto C, Rabaud S, Molto Q, et al.** 2011. Disentangling stand and environmental correlates of aboveground biomass in Amazonian forests. *Global Change Biology* **17**, 2677–2688.
- Barceló M, Bodegom PM van, Soudzilovskaia NA.** Climate drives the spatial distribution of mycorrhizal host plants in terrestrial ecosystems. *Journal of Ecology* **0**.
- Barigah TS, Charrier O, Douris M, Bonhomme M, Herbette S, Améglio T, Fichot R, Brignolas F, Cochard H.** 2013. Water stress-induced xylem hydraulic failure is a causal factor of tree mortality in beech and poplar. *Annals of Botany* **112**, 1431–1437.
- Barriopedro D, Fischer EM, Luterbacher J, Trigo RM, García-Herrera R.** 2011. The Hot Summer of 2010: Redrawing the Temperature Record Map of Europe. *Science* **332**, 220–224.
- Barros F de V, Bittencourt PRL, Brum M, et al.** 2019. Hydraulic traits explain differential responses of Amazonian forests to the 2015 El Niño-induced drought. *New Phytologist* **223**, 1253–1266.
- Barthélémy D, Caraglio Y.** 2007. Plant architecture: a dynamic, multilevel and comprehensive approach to plant form, structure and ontogeny. *Annals of Botany* **99**, 375–407.
- Bartlett, Zhang, Yang, Kreidler, Sun, Lin L, Hu Y-H, Cao K-F, Sack L.** 2016. Drought tolerance as a driver of tropical forest assembly: resolving spatial signatures for multiple processes. *Ecology* **97**, 503–514.
- Binks O, Meir P, Rowland L, Costa ACL da, Vasconcelos SS, Oliveira AAR de, Ferreira L, Christoffersen B, Nardini A, Mencuccini M.** 2016. Plasticity in leaf-level water relations of tropical rainforest trees in response to experimental drought. *New Phytologist* **211**, 477–488.
- Blackman CJ, Brodribb TJ, Jordan GJ.** 2012. Leaf hydraulic vulnerability influences species' bioclimatic limits in a diverse group of woody angiosperms. *Oecologia* **168**, 1–10.
- Blackman CJ, Creek D, Maier C, et al.** 2019a. Drought response strategies and hydraulic traits contribute to mechanistic understanding of plant dry-down to hydraulic failure. *Tree Physiology*.
- Blackman CJ, Li X, Choat B, Rymer PD, Kauwe MGD, Duursma RA, Tissue DT, Medlyn BE.** 2019b. Desiccation time during drought is highly predictable across species of Eucalyptus from contrasting climates. *New Phytologist* **0**.
- Blackman CJ, Pfautsch S, Choat B, Delzon S, Gleason SM, Duursma RA.** 2016. Toward an index of desiccation time to tree mortality under drought. *Plant, Cell & Environment* **39**, 2342–2345.
- Bonal D, Burban B, Stahl C, Wagner F, Hérault B.** 2016. The response of tropical rainforests to drought—lessons from recent research and future prospects. *Annals of Forest Science* **73**, 27–44.

- Bonan GB.** 2008. Forests and Climate Change: Forcings, Feedbacks, and the Climate Benefits of Forests. *Science* **320**, 1444–1449.
- Brienen RJW, Phillips OL, Feldpausch TR, et al.** 2015. Long-term decline of the Amazon carbon sink. *Nature* **519**, 344–348.
- Brodribb TJ.** 2009. Xylem hydraulic physiology: The functional backbone of terrestrial plant productivity. *Plant Science* **177**, 245–251.
- Brum M, Teodoro GS, Abrahão A, Oliveira RS.** 2017. Coordination of rooting depth and leaf hydraulic traits defines drought-related strategies in the campos rupestres, a tropical montane biodiversity hotspot. *Plant and Soil* **420**, 467–480.
- Buckley TN.** 2005. The control of stomata by water balance. *New Phytologist* **168**, 275–292.
- Buckley TN.** 2019. How do stomata respond to water status? *New Phytologist* **224**, 21–36.
- Carnicer J, Coll M, Ninyerola M, Pons X, Sánchez G, Peñuelas J.** 2011. Widespread crown condition decline, food web disruption, and amplified tree mortality with increased climate change-type drought. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **108**, 1474–1478.
- Chadwick R, Good P, Martin G, Rowell DP.** 2016. Large rainfall changes consistently projected over substantial areas of tropical land. *Nature Climate Change* **6**, 177–181.
- Chao K-J, Phillips OL, Gloor E, Monteagudo A, Torres-Lezama A, Martínez RV.** 2008. Growth and wood density predict tree mortality in Amazon forests. *Journal of Ecology* **96**, 281–292.
- Chave J, Coomes D, Jansen S, Lewis SL, Swenson NG, Zanne AE.** 2009. Towards a worldwide wood economics spectrum. *Ecology Letters* **12**, 351–366.
- Choat B, Brodribb TJ, Brodersen CR, Duursma RA, López R, Medlyn BE.** 2018. Triggers of tree mortality under drought. *Nature* **558**, 531.
- Choat B, Jansen S, Brodribb TJ, et al.** 2012. Global convergence in the vulnerability of forests to drought. *Nature* **491**, 752–755.
- Ciais P, Reichstein M, Viovy N, et al.** 2005. Europe-wide reduction in primary productivity caused by the heat and drought in 2003. *Nature* **437**, 529.
- Clinebell RR, Phillips OL, Gentry AH, Stark N, Zuuring H.** 1995. Prediction of neotropical tree and liana species richness from soil and climatic data. *Biodiversity & Conservation* **4**, 56–90.
- Cochard H, Badel E, Herbette S, Delzon S, Choat B, Jansen S.** 2013. Methods for measuring plant vulnerability to cavitation: a critical review. *Journal of Experimental Botany*, ert193.
- Comita LS, Engelbrecht BMJ.** 2009. Seasonal and spatial variation in water availability drive habitat associations in a tropical forest. *Ecology* **90**, 2755–2765.
- Condit R, Engelbrecht BMJ, Pino D, Pérez R, Turner BL.** 2013. Species distributions in response to individual soil nutrients and seasonal drought across a community of tropical trees. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **110**, 5064–5068.
- Cornelissen JHC, Lavorel S, Garnier E, et al.** 2003. A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany* **51**, 335–380.
- Corner EJJ.** 1949. The Durian Theory or the Origin of the Modern Tree. *Annals of Botany* **13**, 367–414.
- Coumou D, Rahmstorf S.** 2012. A decade of weather extremes. *Nature Climate Change* **2**, 491–496.
- Cowan IR.** 1972. An Electrical Analogue of Evaporation from, and Flow of Water in Plants. *Planta* **106**, 221–226.
- Dang-Le AT, Edelin C, Le-Cong K.** 2013. Ontogenetic variations in leaf morphology of the tropical rain forest species *Dipterocarpus alatus* Roxb. ex G. Don. *Trees* **27**, 773–786.
- Delzon S.** 2015. New insight into leaf drought tolerance. *Functional Ecology* **29**, 1247–1249.
- Dézerald O, Céréghino R, Corbara B, Dejean A, Leroy C.** 2015. Functional trait responses of aquatic macroinvertebrates to simulated drought in a Neotropical bromeliad ecosystem. *Freshwater Biology* **60**, 1917–1929.
- Dézerald O, Leroy C, Corbara B, Carrias J-F, Pélozuelo L, Dejean A, Céréghino R.** 2013. Food-Web Structure in Relation to Environmental Gradients and Predator-Prey Ratios in Tank-Bromeliad Ecosystems. *PLOS ONE* **8**, e71735.
- Diamond J.** 2007. *De l'inégalité parmi les sociétés: essai sur l'homme et l'environnement dans l'histoire*. Gallimard.
- Díaz S, Kattge J, Cornelissen JHC, et al.** 2016. The global spectrum of plant form and function. *Nature* **529**, 167–171.
- Dixon HH.** 1914. *Transpiration and the ascent of sap in plants*. London, Macmillan and co., limited.
- Dixon H, Joly J.** 1895. On the ascent of sap. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*.
- Drake JE, Tjoelker MG, Vårhammar A, et al.** 2018. Trees tolerate an extreme heatwave via sustained transpirational cooling and increased leaf thermal tolerance. *Global Change Biology* **24**, 2390–2402.
- Duffy PB, Brando P, Asner GP, Field CB.** 2015. Projections of future meteorological drought and wet periods in the Amazon. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **112**, 13172–13177.

- Duursma RA, Blackman CJ, Lopéz R, Martin-StPaul NK, Cochard H, Medlyn BE.** 2019. On the minimum leaf conductance: its role in models of plant water use, and ecological and environmental controls. *New Phytologist* **221**, 693–705.
- Edelin C.** 1998. Réflexions sur la compartimentation et l'intégration de l'architecture des arbres. Compte-rendu du séminaire 1997 Groupe d'Etude de l'Arbre.
- Eller C, de V. Barros F, R.L. Bittencourt P, Rowland L, Mencuccini M, S. Oliveira R.** 2018. Xylem hydraulic safety and construction costs determine tropical tree growth. *Plant, Cell & Environment*, n/a-n/a.
- Eltahir E a. B, Bras RL.** 1994. Precipitation recycling in the Amazon basin. *Quarterly Journal of the Royal Meteorological Society* **120**, 861–880.
- Eltahir EAB, Bras RL.** 1996. Precipitation recycling. *Reviews of Geophysics* **34**, 367–378.
- Engelbrecht BMJ, Comita LS, Condit R, Kursar TA, Tyree MT, Turner BL, Hubbell SP.** 2007. Drought sensitivity shapes species distribution patterns in tropical forests. *Nature* **447**, 80–82.
- Enquist B, Enquist CAF.** 2011. Long-term change within a Neotropical forest: Assessing differential functional and floristic responses to disturbance and drought. *Global Change Biology* **17**, 1408–1424.
- Erfanian A, Wang G, Fomenko L.** 2017. Unprecedented drought over tropical South America in 2016: significantly under-predicted by tropical SST. *Scientific Reports* **7**.
- Esquivel-Muelbert A, Baker TR, Dexter KG, et al.** 2017a. Seasonal drought limits tree species across the Neotropics. *Ecography* **40**, 618–629.
- Esquivel-Muelbert A, Baker TR, Dexter KG, et al.** 2019. Compositional response of Amazon forests to climate change. *Global Change Biology* **25**, 39–56.
- Esquivel-Muelbert A, Galbraith D, Dexter KG, Baker TR, Lewis SL, Meir P, Rowland L, Costa ACL da, Nepstad D, Phillips OL.** 2017b. Biogeographic distributions of neotropical trees reflect their directly measured drought tolerances. *Scientific Reports* **7**, 8334.
- Fan Z-X, Sterck F, Zhang S-B, Fu P-L, Hao G-Y.** 2017. Tradeoff between Stem Hydraulic Efficiency and Mechanical Strength Affects Leaf–Stem Allometry in 28 Ficus Tree Species. *Frontiers in Plant Science* **8**.
- Fargeon H, Aubry-Kientz M, Brunaux O, Descroix L, Gaspard R, Guitet S, Rossi V, Hérault B.** 2016. Vulnerability of Commercial Tree Species to Water Stress in Logged Forests of the Guiana Shield. *Forests* **7**, 105.
- Fauset S, Baker TR, Lewis SL, Feldpausch TR, Affum-Baffoe K, Foli EG, Hamer KC, Swaine MD.** 2012. Drought-induced shifts in the floristic and functional composition of tropical forests in Ghana. *Ecology Letters* **15**, 1120–1129.
- Feldpausch TR, Phillips OL, Brien R, Brien RJW, et al.** 2016. Amazon forest response to repeated droughts. *Global Biogeochemical Cycles* **30**, 964–982.
- Field CB, Behrenfeld MJ, Randerson JT, Falkowski P.** 1998. Primary Production of the Biosphere: Integrating Terrestrial and Oceanic Components. *Science* **281**, 237–240.
- Fonti P, Jansen S.** 2012. Xylem plasticity in response to climate. *New Phytologist* **195**, 734–736.
- Fortunel C, Paine CET, Fine PVA, Kraft NJB, Baraloto C.** 2014. Environmental factors predict community functional composition in Amazonian forests. *Journal of Ecology* **102**, 145–155.
- Fortunel C, Valencia R, Wright SJ, Garwood NC, Kraft NJB.** 2016. Functional trait differences influence neighbourhood interactions in a hyperdiverse Amazonian forest. *Ecology Letters* **19**, 1062–1070.
- Garnier E, Cortez J, Billès G, et al.** 2004. Plant Functional Markers Capture Ecosystem Properties During Secondary Succession. *Ecology* **85**, 2630–2637.
- Gaviria J, Turner BL, Engelbrecht BMJ.** 2017. Drivers of tree species distribution across a tropical rainfall gradient. *Ecosphere* **8**, e01712.
- Gloor M, Barichivich J, Ziv G, Brien R, Schöngart J, Peylin P, Cintra BBL, Feldpausch T, Phillips O, Baker J.** 2015. Recent Amazon climate as background for possible ongoing and future changes of Amazon humid forests. *Global Biogeochemical Cycles* **29**, 1384–1399.
- Golding J, Güsewell S, Kreft H, Kuzevanov VY, Lehvāvirta S, Parmentier I, Pautasso M.** 2010. Species-richness patterns of the living collections of the world's botanic gardens: a matter of socio-economics? *Annals of Botany* **105**, 689–696.
- Greenwood S, Ruiz-Benito P, Martínez-Vilalta J, et al.** 2017. Tree mortality across biomes is promoted by drought intensity, lower wood density and higher specific leaf area. *Ecology Letters* **20**, 539–553.
- Grogan J, Schulze M.** 2012. The Impact of Annual and Seasonal Rainfall Patterns on Growth and Phenology of Emergent Tree Species in Southeastern Amazonia, Brazil. *Biotropica* **44**, 331–340.
- Hales S (1677-1761) A du texte.** 1735. *La Statique des végétaux et l'analyse de l'air,...* par M. Hales,... Ouvrage traduit de l'anglais par M. de Buffon,...
- Hallé F.** 2010. *La condition tropicale: une histoire naturelle, économique et sociale des basses latitudes.* Actes sud.

- Hallé F, Oldeman RAA, Tomlinson PB.** 1978. *Tropical Trees and Forests - An Architectural Analysis*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Halloy SRP, Mark AF.** 1996. Comparative leaf morphology spectra of plant communities in New Zealand, the Andes and the European Alps. *Journal of the Royal Society of New Zealand* **26**, 41–78.
- Hérault B, Bachelot B, Poorter L, Rossi V, Bongers F, Chave J, Paine CET, Wagner F, Baraloto C.** 2011. Functional traits shape ontogenetic growth trajectories of rain forest tree species. *Journal of Ecology* **99**, 1431–1440.
- Hilker T, Lyapustin AI, Tucker CJ, Hall FG, Myneni RB, Wang Y, Bi J, Moura YM de, Sellers PJ.** 2014. Vegetation dynamics and rainfall sensitivity of the Amazon. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **111**, 16041–16046.
- Honert TH van den.** 1948. Water transport in plants as a catenary process. *Discussions of the Faraday Society* **3**, 146–153.
- IPCC.** 2014. *Climate Change 2014 Synthesis Report*.
- Jiménez-Muñoz JC, Mattar C, Barichivich J, Santamaría-Artigas A, Takahashi K, Malhi Y, Sobrino JA, Schrier G van der.** 2016. Record-breaking warming and extreme drought in the Amazon rainforest during the course of El Niño 2015–2016. *Scientific Reports* **6**, 33130.
- John GP, Scoffoni C, Buckley TN, Villar R, Poorter H, Sack L.** 2017. The anatomical and compositional basis of leaf mass per area. *Ecology Letters* **20**, 412–425.
- Kattge J, Díaz S, Lavorel S, et al.** 2011. TRY – a global database of plant traits. *Global Change Biology* **17**, 2905–2935.
- Kraft NJB, Valencia R, Ackerly DD.** 2008. Functional Traits and Niche-Based Tree Community Assembly in an Amazonian Forest. *Science* **322**, 580–582.
- Kunstler G, Falster D, Coomes DA, et al.** 2016. Plant functional traits have globally consistent effects on competition. *Nature* **529**, 204–207.
- Kupers SJ, Engelbrecht BMJ, Hernández A, Wright SJ, Wirth C, Rüger N.** 2019. Growth responses to soil water potential indirectly shape local species distributions of tropical forest seedlings. *Journal of Ecology* **107**, 860–874.
- Kursar TA, Engelbrecht BMJ, Burke A, Tyree MT, Omari BE, Giraldo JP.** 2009. Tolerance to low leaf water status of tropical tree seedlings is related to drought performance and distribution. *Functional Ecology* **23**, 93–102.
- Larter M, Pfautsch S, Domec J-C, Trueba S, Nagalingum N, Delzon S.** 2017. Aridity drove the evolution of extreme embolism resistance and the radiation of conifer genus *Callitris*. *New Phytologist* **215**, 97–112.
- Lavorel S, Garnier E.** 2002. Predicting changes in community composition and ecosystem functioning from plant traits: revisiting the Holy Grail. *Functional Ecology* **16**, 545–556.
- Lehnebach R, Beyer R, Letort V, Heuret P.** 2018. The pipe model theory half a century on: a review. *Annals of Botany* **121**, 773–795.
- Leigh A, Sevanto S, Close JD, Nicotra AB.** 2017. The influence of leaf size and shape on leaf thermal dynamics: does theory hold up under natural conditions? *Plant, Cell & Environment* **40**, 237–248.
- Lens F, Sperry JS, Christman MA, Choat B, Rabaey D, Jansen S.** 2011. Testing hypotheses that link wood anatomy to cavitation resistance and hydraulic conductivity in the genus *Acer*. *New Phytologist* **190**, 709–723.
- Lewis SL, Brando PM, Phillips OL, Heijden GMF van der, Nepstad D.** 2011. The 2010 Amazon Drought. *Science* **331**, 554–554.
- Li W, Fu R, Dickinson RE.** 2006. Rainfall and its seasonality over the Amazon in the 21st century as assessed by the coupled models for the IPCC AR4. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres* **111**.
- Li S, Lens F, Espino S, Karimi Z, Klepsch M, Schenk HJ, Schmitt M, Schuldt B, Jansen S.** 2016. Intervessel pit membrane thickness as a key determinant of embolism resistance in angiosperm xylem. *IAWA Journal* **37**, 152–171.
- Liang J, Crowther TW, Picard N, et al.** 2016. Positive biodiversity-productivity relationship predominant in global forests. *Science* **354**, aaf8957.
- Loubry D.** 1994a. *Déterminismes du comportement phénologique des arbres en forêt tropicale humide de Guyane française* (5 LAT. N).
- Loubry D.** 1994b. La phénologie des arbres caducifoliés en forêt guyanaise (5° de latitude nord) : illustration d'un déterminisme à composantes endogène et exogène. *Canadian Journal of Botany* **72**, 1843–1857.
- Maherali H, Pockman WT, Jackson RB.** 2004. Adaptive radiation in the vulnerability of woody plants to xylem cavitation. *Ecology* **85**, 2184–2199.
- Malhi Y, Pegoraro E, Nobre AD, Pereira MGP, Grace J, Culf AD, Clement R.** 2002. Energy and water dynamics of a central Amazonian rain forest. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres* **107**, LBA 45-1-LBA 45-17.

- Malhi Y, Roberts JT, Betts RA, Killeen TJ, Li W, Nobre CA.** 2008. Climate Change, Deforestation, and the Fate of the Amazon. *Science* **319**, 169–172.
- Mantgem PJ van, Stephenson NL, Byrne JC, et al.** 2009. Widespread Increase of Tree Mortality Rates in the Western United States. *Science* **323**, 521–524.
- Maréchaux I, Chave J.** 2017. An individual-based forest model to jointly simulate carbon and tree diversity in Amazonia: description and applications. *Ecological Monographs* **87**, 632–664.
- Marengo JA, Espinoza JC.** 2016. Extreme seasonal droughts and floods in Amazonia: causes, trends and impacts. *International Journal of Climatology* **36**, 1033–1050.
- Marengo JA, Tomasella J, Alves LM, Soares WR, Rodriguez DA.** 2011. The drought of 2010 in the context of historical droughts in the Amazon region. *Geophysical Research Letters* **38**.
- Markestijn L, Poorter L, Bongers F, Paz H, Sack L.** 2011. Hydraulics and life history of tropical dry forest tree species: coordination of species' drought and shade tolerance. *New Phytologist* **191**, 480–495.
- Martínez-Vilalta J, Cochard H, Mencuccini M, et al.** 2009. Hydraulic adjustment of Scots pine across Europe. *New Phytologist* **184**, 353–364.
- Martin-StPaul N, Delzon S, Cochard H.** 2017. Plant resistance to drought depends on timely stomatal closure. *Ecology Letters* **20**, 1437–1447.
- Matusick G, Ruthrof KX, Brouwers NC, Dell B, Hardy GSTJ.** 2013. Sudden forest canopy collapse corresponding with extreme drought and heat in a mediterranean-type eucalypt forest in southwestern Australia. *European Journal of Forest Research* **132**, 497–510.
- McAdam SAM, Cardoso AA.** 2018. The recurrent evolution of extremely resistant xylem. *Annals of Forest Science* **1**, 1–4.
- McDowell N, Allen CD, Anderson-Teixeira K, et al.** 2018. Drivers and mechanisms of tree mortality in moist tropical forests. *New Phytologist* **219**, 851–869.
- McDowell N, Barnard H, Bond B, et al.** 2002. The relationship between tree height and leaf area: sapwood area ratio. *Oecologia* **132**, 12–20.
- McGill BJ, Enquist BJ, Weiher E, Westoby M.** 2006. Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology & Evolution* **21**, 178–185.
- Méndez-Alonzo R, Paz H, Zuluaga RC, Rosell JA, Olson ME.** 2012. Coordinated evolution of leaf and stem economics in tropical dry forest trees. *Ecology* **93**, 2397–2406.
- Michaletz ST, Weiser MD, McDowell NG, Zhou J, Kaspari M, Helliker BR, Enquist BJ.** 2016. The energetic and carbon economic origins of leaf thermoregulation. *Nature Plants* **2**, 16129.
- Moczek AP, Sultan S, Foster S, Ledón-Rettig C, Dworkin I, Nijhout HF, Abouheif E, Pfennig DW.** 2011. The role of developmental plasticity in evolutionary innovation. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, rspb20110971.
- Moles AT, Perkins SE, Laffan SW, et al.** 2014. Which is a better predictor of plant traits: temperature or precipitation? *Journal of Vegetation Science* **25**, 1167–1180.
- Mu Q, Zhao M, Running SW.** 2011. Improvements to a MODIS global terrestrial evapotranspiration algorithm. *Remote Sensing of Environment* **115**, 1781–1800.
- Nicotra AB, Atkin OK, Bonser SP, et al.** 2010. Plant phenotypic plasticity in a changing climate. *Trends in Plant Science* **15**, 684–692.
- O'Brien MJ, Engelbrecht BMJ, Joswig J, et al.** 2017. A synthesis of tree functional traits related to drought-induced mortality in forests across climatic zones. *Journal of Applied Ecology*.
- Okajima Y, Taneda H, Noguchi K, Terashima I.** 2012. Optimum leaf size predicted by a novel leaf energy balance model incorporating dependencies of photosynthesis on light and temperature. *Ecological Research* **27**, 333–346.
- Oki T, Kanae S.** 2006. Global Hydrological Cycles and World Water Resources. *Science* **313**, 1068–1072.
- Oliveira RS, Costa FRC, Baalen E van, et al.** 2019. Embolism resistance drives the distribution of Amazonian rainforest tree species along hydro-topographic gradients. *New Phytologist* **221**, 1457–1465.
- Paine CET, Amissah L, Auge H, et al.** 2015. Globally, functional traits are weak predictors of juvenile tree growth, and we do not know why. *Journal of Ecology* **103**, 978–989.
- Paine CET, Baraloto C, Chave J, Hérault B.** 2011. Functional traits of individual trees reveal ecological constraints on community assembly in tropical rain forests. *Oikos* **120**, 720–727.
- Pan Y, Birdsey RA, Fang J, et al.** 2011. A Large and Persistent Carbon Sink in the World's Forests. *Science* **333**, 988–993.
- Peirce GJ.** 1936. The State of Water in Ducts and Tracheids. *Plant Physiology* **11**, 623–628.
- Peng C, Ma Z, Lei X, Zhu Q, Chen H, Wang W, Liu S, Li W, Fang X, Zhou X.** 2011. A drought-induced pervasive increase in tree mortality across Canada's boreal forests. *Nature Climate Change* **1**, 467–471.
- Peppe DJ, Royer DL, Cariglino B, et al.** 2011. Sensitivity of leaf size and shape to climate: global patterns and paleoclimatic applications. *New Phytologist* **190**, 724–739.

- Pérez-Harguindeguy N, Díaz S, Garnier E, et al.** 2013. New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide.
- Phillips OL, Aragão LEOC, Lewis SL, et al.** 2009. Drought Sensitivity of the Amazon Rainforest. *Science* **323**, 1344–1347.
- Pivovarovoff AL, Pasquini SC, Guzman D, E M, Alstad KP, Stemke JS, Santiago LS.** 2016. Multiple strategies for drought survival among woody plant species. *Functional Ecology* **30**, 517–526.
- Poorter L, Bongers F.** 2006. Leaf Traits Are Good Predictors of Plant Performance Across 53 Rain Forest Species. *Ecology* **87**, 1733–1743.
- Poorter L, Castilho CV, Schiatti J, Oliveira RS, Costa FRC.** 2018. Can traits predict individual growth performance? A test in a hyperdiverse tropical forest. *New Phytologist* **0**.
- Poorter L, McDonald I, Alarcón A, Fichtler E, Licona J-C, Peña-Claros M, Sterck F, Villegas Z, Sass-Klaassen U.** 2010. The importance of wood traits and hydraulic conductance for the performance and life history strategies of 42 rainforest tree species. *New Phytologist* **185**, 481–492.
- Poorter L, Wright SJ, Paz H, et al.** 2008. Are Functional Traits Good Predictors of Demographic Rates? Evidence from Five Neotropical Forests. *Ecology* **89**, 1908–1920.
- Powell TL, Wheeler JK, Oliveira AAR de, Costa ACL da, Saleska SR, Meir P, Moorcroft PR.** 2017. Differences in xylem and leaf hydraulic traits explain differences in drought tolerance among mature Amazon rainforest trees. *Global Change Biology* **23**, 4280–4293.
- Reichel GC.** 1758. *De vasis plantarum spiralibus*. Breitkopf.
- Reichstein M, Bahn M, Ciais P, et al.** 2013. Climate extremes and the carbon cycle. *Nature* **500**, 287–295.
- Robine J-M, Cheung SLK, Le Roy S, Van Oyen H, Griffiths C, Michel J-P, Herrmann FR.** 2008. Death toll exceeded 70,000 in Europe during the summer of 2003. *Comptes Rendus Biologies* **331**, 171–178.
- Rockström J, Steffen W, Noone K, et al.** 2009. A safe operating space for humanity. *Nature* **461**, 472–475.
- Rodríguez Pérez H, Borrel G, Leroy C, Carrias J-F, Corbara B, Srivastava DS, Céréghino R.** 2018. Simulated drought regimes reveal community resilience and hydrological thresholds for altered decomposition. *Oecologia* **187**, 267–279.
- Rowland L, Costa ACL da, Galbraith DR, et al.** 2015. Death from drought in tropical forests is triggered by hydraulics not carbon starvation. *Nature* **528**, 119–122.
- Ryan MG, Phillips N, Bond BJ.** 2006. The hydraulic limitation hypothesis revisited. *Plant, Cell & Environment* **29**, 367–381.
- Saatchi SS, Harris NL, Brown S, et al.** 2011. Benchmark map of forest carbon stocks in tropical regions across three continents. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **108**, 9899–9904.
- Sack L, Ball M, Brodersen C, et al.** 2016. Plant hydraulics as a central hub integrating plant and ecosystem function: meeting report for 'Emerging Frontiers in Plant Hydraulics'; (Washington, DC, May 2015). *Plant Cell Environ* **39**.
- Sack L, Holbrook NM.** 2006. Leaf Hydraulics. *Annual Review of Plant Biology* **57**, 361–381.
- Sack L, Scoffoni C.** 2013. Leaf venation: structure, function, development, evolution, ecology and applications in the past, present and future. *New Phytologist* **198**, 983–1000.
- Sack L, Scoffoni C, Johnson DM, Buckley TN, Brodribb TJ.** 2015. The Anatomical Determinants of Leaf Hydraulic Function. In: Hacke U, ed. *Functional and Ecological Xylem Anatomy*. Cham: Springer International Publishing, 255–271.
- Sakschewski B, Bloh W von, Boit A, Rammig A, Kattge J, Poorter L, Peñuelas J, Thonicke K.** 2015. Leaf and stem economics spectra drive diversity of functional plant traits in a dynamic global vegetation model. *Global Change Biology* **21**, 2711–2725.
- Sande MT van der, Arets EJMM, Peña-Claros M, et al.** 2016. Old-growth Neotropical forests are shifting in species and trait composition. *Ecological Monographs* **86**, 228–243.
- Santiago LS, Bonal D, De Guzman ME, Ávila-Lovera E.** 2016. Drought Survival Strategies of Tropical Trees. In: Goldstein G, In: Santiago LS, eds. *Tree Physiology. Tropical Tree Physiology: Adaptations and Responses in a Changing Environment*. Cham: Springer International Publishing, 243–258.
- Scheffers BR, Joppa LN, Pimm SL, Laurance WF.** 2012. What we know and don't know about Earth's missing biodiversity. *Trends in Ecology & Evolution* **27**, 501–510.
- Scheiter S, Langan L, Higgins SI.** 2013. Next-generation dynamic global vegetation models: learning from community ecology. *New Phytologist* **198**, 957–969.
- Schiatti J, Emilio T, Rennó CD, et al.** 2014. Vertical distance from drainage drives floristic composition changes in an Amazonian rainforest. *Plant Ecology & Diversity* **7**, 241–253.
- Schlesinger WH, Jasechko S.** 2014. Transpiration in the global water cycle. *Agricultural and Forest Meteorology* **189–190**, 115–117.
- Scholz A, Rabaey D, Stein A, Cochard H, Smets E, Jansen S.** 2013. The evolution and function of vessel and pit characters with respect to cavitation resistance across 10 *Prunus* species. *Tree Physiology* **33**, 684–694.

- Schuldt B, Leuschner C, Horna V, Moser G, Köhler M, van Straaten O, Barus H.** 2011. Change in hydraulic properties and leaf traits in a tall rainforest tree species subjected to long-term throughfall exclusion in the perhumid tropics. *Biogeosciences* **8**, 2179–2194.
- Scoffoni C, Sack L, Ort D.** 2017. The causes and consequences of leaf hydraulic decline with dehydration. *Journal of Experimental Botany* **68**, 4479–4496.
- Shipley B, Bello FD, Cornelissen JHC, Laliberté E, Laughlin DC, Reich PB.** 2016. Reinforcing loose foundation stones in trait-based plant ecology. *Oecologia* **180**, 923–931.
- Stahl C, Burban B, Wagner F, Goret J-Y, Bompy F, Bonal D.** 2013. Influence of Seasonal Variations in Soil Water Availability on Gas Exchange of Tropical Canopy Trees. *Biotropica* **45**, 155–164.
- ter Steege H, Pitman NCA, Phillips OL, et al.** 2006. Continental-scale patterns of canopy tree composition and function across Amazonia. *Nature* **443**, 444–447.
- ter Steege H, Pitman NCA, Sabatier D, et al.** 2013. Hyperdominance in the Amazonian Tree Flora. *Science* **342**, 1243092.
- Steidinger BS, Crowther TW, Liang J, et al.** 2019. Climatic controls of decomposition drive the global biogeography of forest-tree symbioses. *Nature* **569**, 404–408.
- Steinkamp J, Hickler T.** 2015. Is drought-induced forest dieback globally increasing? *Journal of Ecology* **103**, 31–43.
- Sterck F, Markesteijn L, Toledo M, Schieving F, Poorter L.** 2014. Sapling performance along resource gradients drives tree species distributions within and across tropical forests. *Ecology* **95**, 2514–2525.
- Sterling SM, Ducharme A, Polcher J.** 2013. The impact of global land-cover change on the terrestrial water cycle. *Nature Climate Change* **3**, 385–390.
- Swenson NG, Enquist BJ.** 2009. Opposing assembly mechanisms in a Neotropical dry forest: implications for phylogenetic and functional community ecology. *Ecology* **90**, 2161–2170.
- Tai X, Mackay DS, Anderegg WRL, Sperry JS, Brooks PD.** 2017. Plant hydraulics improves and topography mediates prediction of aspen mortality in southwestern USA. *New Phytologist* **213**, 113–127.
- Ter Steege H, Pitman N, Sabatier D, et al.** 2003. A spatial model of tree α -diversity and tree density for the Amazon. *Biodiversity & Conservation* **12**, 2255–2277.
- Togashi HF, Atkin OK, Bloomfield KJ, et al.** 2018. Functional trait variation related to gap dynamics in tropical moist forests: A vegetation modelling perspective. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **35**, 52–64.
- Touma D, Ashfaq M, Nayak MA, Kao S-C, Diffenbaugh NS.** 2015. A multi-model and multi-index evaluation of drought characteristics in the 21st century. *Journal of Hydrology* **526**, 196–207.
- Trueba S, Pouteau R, Lens F, Feild TS, Isnard S, Olson ME, Delzon S.** 2017. Vulnerability to xylem embolism as a major correlate of the environmental distribution of rain forest species on a tropical island. *Plant, Cell & Environment* **40**, 277–289.
- Turner IM.** 2001. *The Ecology of Trees in the Tropical Rain Forest*. Cambridge University Press.
- Tyree MT, Ewers FW.** 1991. The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *New Phytologist* **119**, 345–360.
- Urli M, Porté AJ, Cochard H, Guengant Y, Burrell R, Delzon S.** 2013. Xylem embolism threshold for catastrophic hydraulic failure in angiosperm trees. *Tree Physiology* **33**, 672–683.
- Wagner FH, Hérault B, Bonal D, et al.** 2016. Climate seasonality limits leaf carbon assimilation and wood productivity in tropical forests. *Biogeosciences* **13**, 2537–2562.
- Wagner F, Hérault B, Stahl C, Bonal D, Rossi V.** 2011. Modeling water availability for trees in tropical forests. *Agricultural and Forest Meteorology* **151**, 1202–1213.
- Wagner F, Rossi V, Aubry-Kientz M, Bonal D, Dalitz H, Gliniars R, Stahl C, Trabucco A, Hérault B.** 2014. Pan-Tropical Analysis of Climate Effects on Seasonal Tree Growth. *PLOS ONE* **9**, e92337.
- Wagner F, Rossi V, Stahl C, Bonal D, Hérault B.** 2012. Water Availability Is the Main Climate Driver of Neotropical Tree Growth. *PLOS ONE* **7**, e34074.
- Westoby M, Falster DS, Moles AT, Vesk PA, Wright IJ.** 2002. Plant Ecological Strategies: Some Leading Dimensions of Variation between Species. *Annual Review of Ecology and Systematics* **33**, 125–159.
- Whitehead D, Edwards WRN, Jarvis PG.** 1984. Conducting sapwood area, foliage area, and permeability in mature trees of *Picea sitchensis* and *Pinus contorta*. *Canadian Journal of Forest Research* **14**, 940–947.
- Williams S, Nitschke M, Weinstein P, Pisaniello DL, Parton KA, Bi P.** 2012. The impact of summer temperatures and heatwaves on mortality and morbidity in Perth, Australia 1994–2008. *Environment International* **40**, 33–38.
- Wilson EO, Sciences C on L, Studies D on E and L, Institution NA of S.** 1988. *Biodiversity*. National Academies Press.
- Wolfe BT, Sperry JS, Kursar TA.** 2016. Does leaf shedding protect stems from cavitation during seasonal droughts? A test of the hydraulic fuse hypothesis. *New Phytologist* **212**, 1007–1018.

- Wright SJ, Kitajima K, Kraft NJB, et al.** 2010. Functional traits and the growth–mortality trade-off in tropical trees. *Ecology* **91**, 3664–3674.
- Wright IJ, Reich PB, Westoby M, et al.** 2004. The worldwide leaf economics spectrum. *Nature* **428**, 821–827.
- Zhang J-L, Cao K-F.** 2009. Stem hydraulics mediates leaf water status, carbon gain, nutrient use efficiencies and plant growth rates across dipterocarp species. *Functional Ecology* **23**, 658–667.
- Zhang L, Copini P, Weemstra M, Sterck F.** 2016. Functional ratios among leaf, xylem and phloem areas in branches change with shade tolerance, but not with local light conditions, across temperate tree species. *New Phytologist* **209**, 1566–1575.
- Zimmermann MH.** 1983. *Xylem Structure and the Ascent of Sap*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- Zuleta D, Duque A, Cardenas D, Muller-Landau HC, Davies SJ.** 2017. Drought-induced mortality patterns and rapid biomass recovery in a terra firme forest in the Colombian Amazon. *Ecology* **98**, 2538–2546.

CHAPITRE 1

Revue des principaux concepts en hydraulique des plantes

Centrée sur les angiospermes et la résistance à la sécheresse

I – L’EAU DANS LA PLANTE	50
1. Rôle de l’eau dans la plante	50
2. Le potentiel hydrique	50
3. Transport de l’eau dans la plante et théorie de la tension-cohésion	54
4. Les voies de circulation de l’eau dans la plante	59
5. Les limites au transport de l’eau : l’embolie	60
II – STRUCTURES ANATOMIQUES	62
1. Le xylème : un tissu pluricellulaire	62
2. Formation du xylème secondaire et patrons macro-anatomiques	64
3. Anatomie des vaisseaux	66
III – RELATIONS STRUCTURE-FONCTION	73
1. La conduction	73
2. La capacitance	76
3. La résistance à l’embolie	78
IV – HYDRAULIQUE DE LA FEUILLE	88
1. Pourquoi la feuille représente un enjeu particulier du point de vue hydraulique ?	88
2. Anatomie de la feuille	89
3. Les voies de circulation de l’eau dans la feuille	90
4. La conductance foliaire	90
5. Les stomates	90
6. Résistance à la sécheresse de la feuille	92
V – L’ARCHITECTURE HYDRAULIQUE	99
1. Mécanismes homéostatiques à l’échelle de la plante	99
VI – LA RESISTANCE A LA SECHERESSE	109
1. Qu’est-ce que c’est ?	109
2. Les traits ou mécanismes de résistance à la sécheresse	113
3. Spectre et stratégie de résistance à la sécheresse, séquence de potentiels	122
BIBLIOGRAPHIE	128

I – L’EAU DANS LA PLANTE

1. Rôle de l’eau dans la plante

L’eau joue quatre grandes principales fonctions dans une plante : le soluté, la croissance, le transport, et les échanges gazeux. La première est commune à la quasi-totalité des organismes puisque l’eau est le principal soluté dans lequel s’opère l’ensemble des réactions biochimiques au sein de la cellule : duplication de l’ADN, synthèse des protéines, métabolisme primaire, métabolisme secondaire. La croissance végétale au niveau des méristèmes primaires et secondaires est caractérisée par deux étapes successives : la division cellulaire au niveau du centre quiescent du méristème et l’allongement cellulaire. L’allongement cellulaire est permis grâce à la pression de turgescence, jouant un rôle significatif dans le gain de dimension. La pression de turgescence associée à la rigidité des parois végétales permet aussi d’obtenir une certaine rigidité mécanique, essentielle au niveau des méristèmes primaires au moment où le cambium n’est pas encore mis en place. L’eau circulant du sol à l’atmosphère parcourt l’ensemble de la plante ou de l’arbre, notamment dans le xylème. Ce système de circulation permet le transport des nutriments provenant du sol dans l’ensemble de la plante. L’eau vue comme un système de transport est souvent appelée sève brute ou sève montante. Enfin, la circulation de l’eau du sol jusqu’aux feuilles au niveau des stomates permet le maintien de l’ouverture de ces derniers. Or, l’ouverture des stomates est essentielle pour l’assimilation du CO₂ atmosphérique dans la feuille pour la photosynthèse (Brodribb, 2009).

2. Le potentiel hydrique

Théorie physique

Le potentiel hydrique est une mesure physique permettant de mesurer l’état, ou le statut hydrique d’un système. Le potentiel hydrique peut être défini de manières équivalentes comme (i) la mesure de la capacité d’un système à interagir avec l’environnement, (ii) la mesure du travail à exercer sur une masse d’eau d’un système pour le faire passer d’un état de liaison à un état libre, (iii) la mesure de l’affinité de l’eau libre pour un système, ou inversement la mesure de l’avidité d’un système en eau, (iv) la mesure de la tendance de l’eau à bouger d’une surface à une autre, ou (v) la somme des forces agissant sur l’eau dans un liquide (Boyer and Kramer, 1995). Le potentiel hydrique est représenté par la lettre grecque Ψ . Le potentiel hydrique s’exprime fondamentalement comme :

$$\Psi = \mu_w - \mu_o / V_w$$

où μ est le potentiel chimique (énergie par mol), V est le volume molaire partiel de l’eau (m³ mol⁻¹), w et o représentent l’eau dans le système étudié et dans le système de référence

respectivement (Boyer and Kramer, 1995). V est considéré comme constant dans les systèmes biologiques. Le potentiel hydrique est donc proportionnel à la différence de potentiels chimiques. Suivant cette équation, l'unité du potentiel hydrique est donc une énergie par m^3 , soit une force par m^2 , soit une pression, et est généralement exprimé en bar ou en (méga)Pascal, tel que 10 bars = 1 MPa = 9.87 atmosphères. Le concept de potentiel hydrique est utile pour comprendre et modéliser le mouvement de l'eau dans les plantes, les animaux et les sols.

Le potentiel hydrique intègre plusieurs composantes du mouvement de l'eau, qui opèrent simultanément dans des directions opposées ou identiques, et qui s'additionnent pour former le potentiel hydrique global. Dans un système, le potentiel hydrique peut se traduire par :

$$\Psi = \Psi_p + \Psi_\pi + \Psi_g + \Psi_m$$

Tel que :

- Ψ_p est le potentiel hydrostatique (ou potentiel de pression), qui quantifie la pression extérieure s'appliquant sur un système, soit la composante mécanique du potentiel hydrique (Boyer and Kramer, 1995). C'est la pression de turgescence qui s'applique sur la paroi des cellules. Le potentiel hydrostatique augmente avec l'entrée de l'eau dans la cellule, avec une valeur entre 3 et 8 bars. Cette pression exercée vers l'extérieur de la cellule s'oppose à la rigidité de la paroi cellulaire, et crée ainsi la turgescence à la base de la croissance des plantes. Dans les éléments de vaisseaux non vivants du xylème, ce potentiel est négatif.
- Ψ_π est le potentiel osmotique (ou potentiel de soluté), qui quantifie l'effet des solutés dissouts dans l'eau et de leur concentration sur les mouvements d'eau, soit la composante électrochimique du potentiel hydrique (Boyer and Kramer, 1995). La relation entre la concentration en soluté (la molarité) et le potentiel osmotique est décrite par l'équation de van't Hoff :

$$\Psi_\pi = -CiRT$$

où C est la concentration molaire en soluté, i est le facteur de van't Hoff, R est la constante des gaz parfaits ($8.314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$), et T est la température en Kelvin (K). Dans une cellule, le potentiel osmotique est négatif avec une valeur entre -10 et -20 bars.

- Ψ_g est le potentiel gravitationnel et quantifie la pression générée par la hauteur d'eau (Boyer and Kramer, 1995). Plus la hauteur d'une cellule augmente, plus le potentiel gravitationnel doit être compensé pour maintenir un potentiel hydrique donné, à hauteur de 0.098 bar par mètre. Pour des arbres de 10 à 20 m, l'effet du potentiel gravitationnel est négligeable, alors que pour un arbre de 100 m de haut, une cellule en hauteur devra compenser quasiment 1 MPa à cause de l'effet de la gravité.

- Ψ_m est le potentiel matriciel, qui quantifie les forces de tension superficielle, ou capillarité, entre les molécules d'eau et les surfaces cellulaires (Boyer and Kramer, 1995). Quand l'eau est en contact avec des particules solides, il existe des forces intermoléculaires adhésives entre l'eau et le solide. Ces forces entre molécules d'eau et de solides, ainsi qu'entre les molécules d'eau elles-mêmes, génèrent la tension superficielle, l'effet de capillarité, et la formation d'un ménisque sur la surface du solide. Une force est nécessaire pour briser ce ménisque, et donc générer un mouvement d'eau.

Les différentes composantes du potentiel hydrique ont différentes significations en fonction du compartiment considéré, c.-à-d. l'apoplasme ou le symplasme. Dans la circulation apoplasmique, l'eau ne traverse aucune membrane cellulaire et ne circule qu'entre ou dans les parois cellulaires. La voie de circulation xylémienne est par exemple apoplasmique. Dans la circulation symplasmique, l'eau est toujours contenue à l'intérieur des membranes cellulaires, dans les cytoplasmes, et circule donc de cellule en cellule. La paroi cellulaire est un solide poreux avec de nombreux interstices, qui a un fort pouvoir attractif sur les molécules d'eau, retenant l'eau de la tension xylémienne (Boyer, 1967*b*). Ce pouvoir attractif est la composante matricielle du potentiel hydrique (Ψ_m), jouant un rôle dominant dans l'apoplasme. La paroi cellulaire peut aussi être chargée en soluté, déterminant un potentiel osmotique pouvant jouer un rôle non négligeable dans le potentiel hydrique apoplasmique (Boyer, 1967*a*). Le potentiel hydrique apoplasmique $\Psi_{(a)}$ peut donc se résumer comme :

$$\Psi_{(a)} = \Psi_m + \Psi_\pi + \Psi_g$$

Le degré d'hydratation étant généralement beaucoup plus important dans le symplasme, le potentiel matriciel n'est pas significatif. Le potentiel hydrique symplasmique $\Psi_{(s)}$ est donc avant tout déterminé par les potentiels hydrostatique et osmotique (Tyree and Hammel, 1972) tel que :

$$\Psi_{(s)} = \Psi_p + \Psi_\pi + \Psi_g$$

Mesure du potentiel hydrique dans la plante

Plusieurs méthodes ont été développées pour mesurer le statut hydrique des plantes. Les plus connues sont : la chambre à pression pour le potentiel hydrique des feuilles (Scholander *et al.*, 1964; Boyer, 1967*a*), le psychromètre pour le potentiel hydrique ou osmotique d'un tissu quelconque (Boyer, 1995), l'osmomètre pour le potentiel osmotique d'un tissu quelconque (Ball and Oosterhuis, 2005), et la sonde à pression pour le potentiel hydrostatique (Turner, 1981; Boyer, 1995).

La méthode par chambre à pression (Scholander *et al.*, 1964, 1965; Boyer, 1967a; Fig. 1) est certainement la méthode de référence et la plus utilisée. Cette méthode utilise une pression extérieure à la feuille mesurée pour déterminer la tension de l'eau dans le xylème. Quand la pression extérieure contrebalance la tension à l'intérieur de la feuille, la solution contenue dans le xylème est évacuée à l'extérieur. La lecture de l'opposé de la pression nécessaire à ce contrebalancement est une estimation du potentiel hydrique du xylème de la feuille au moment de la mesure. La chambre à pression est une chambre au sein de laquelle est maintenue une feuille généralement excisée au niveau du pétiole ou de la nervure médiane. La feuille est maintenue par un joint au niveau du pétiole ou de la nervure médiane. Le serrage de ce joint permet d'isoler la chambre afin d'y augmenter la pression avec un gaz comprimé (p. ex. azote gazeux). Un manomètre mesure la pression au sein de la chambre relative à la pression atmosphérique. Avec l'augmentation de la pression au sein de la chambre, l'eau est poussée à l'extérieur des cellules dans l'apoplasme puis dans le xylème jusqu'à ce que la sève sorte au niveau de la zone excisée sur la feuille. La pression pouvant être supportée dans la chambre varie entre 10 et 20 MPa, ce qui permet de mesurer des potentiels hydrique *in situ* entre -10 et -20 MPa. La méthode par chambre à pression mesure avant tout le potentiel hydrique apoplasmique de la feuille, et notamment la tension sur la solution xylémienne. Cependant, les potentiels apoplasmique et symplasmique sont généralement à l'équilibre (Boyer, 1967a). C'est pourquoi la chambre à pression est donc une méthode commode dans la plupart des cas.

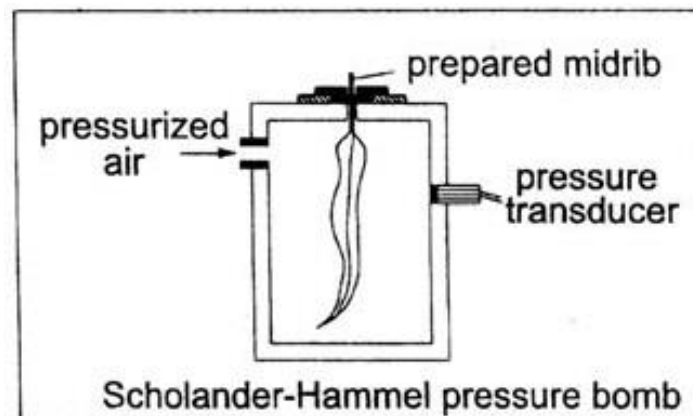


Fig. 1 : Chambre à pression Scholander-Hammel. Une feuille est placée dans la chambre qui est pressurisée, l'apparition de la goutte d'eau est observée au niveau du pétiole (*prepared midrib*). Tiré de Tyree & Zimmermann, 2002.

La méthode psychrométrique permet d'estimer le potentiel hydrique en quantifiant la pression vapeur dans une atmosphère scellée en équilibre avec le tissu mesuré et contenant de l'eau liquide (Boyer, 1995). L'atmosphère scellée est créée, selon les méthodes, soit en plaçant un petit échantillon de tissu dans une chambre psychrométrique scellée et hermétique, soit en

venant placer une petite chambre psychrométrique *in situ* qui est scellée hermétiquement avec un joint. La pression vapeur est mesurée avec un thermocouple placé dans la chambre psychrométrique. La pression vapeur mesurée est celle de l'atmosphère à l'équilibre, et donc de l'échantillon. Le gradient de température entre le thermocouple et l'échantillon mesuré à l'équilibre, puis corrigé par la température de la chambre, permet d'estimer le potentiel hydrique de l'échantillon.

3. Transport de l'eau dans la plante et théorie de la tension-cohésion

Gradient de potentiel et le continuum sol-plante-atmosphère

Le potentiel hydrique varie entre le sol, la plante, et l'atmosphère. C'est la distribution des valeurs de potentiels hydriques entre ces trois compartiments qui déterminent la direction et l'importance des flux d'eau (Fig. 2). L'eau se déplace toujours d'un potentiel hydrique fort à un potentiel hydrique faible. En conditions non stressantes, le sol représente généralement le compartiment le plus hydraté, avec un potentiel hydrique proche de 0 MPa. Lorsque le potentiel hydrique du sol est de 0 MPa, celui-ci est à saturation : tous les pores du sol sont remplis d'eau. À environ -0.3 MPa, le sol est à sa capacité au champ, c.-à-d. sa capacité maximale de rétention d'eau. À environ -1.5 MPa, le point de flétrissement permanent est atteint. L'eau est retenue trop fortement par les particules de sol pour être absorbée par les racines. Généralement, le potentiel hydrique augmente (devient moins négatif) avec la profondeur du sol.

L'atmosphère représente le compartiment avec le plus fort déficit hydrique. Le potentiel hydrique de l'eau en phase gazeuse, que l'on appellera le potentiel hydrique de l'air Ψ_{air} par commodité, est contrôlé par la température et le taux d'humidité relative tel que :

$$\Psi_{air} = \frac{RT}{V} \ln\left(\frac{e}{e_0}\right)$$

Avec R la constante des gaz parfaits ($8.3144621 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$), T la température en Kelvin (K), V le volume partiel molal de l'eau ($1.8 \cdot 10^{-5} \text{ m}^3$), et $\frac{e}{e_0}$ l'humidité relative de l'air. À 20°C, lorsque l'humidité relative est de 100%, $\Psi_{air} = 0 \text{ MPa}$; lorsque l'humidité relative est de 50%, $\Psi_{air} = -93.6 \text{ MPa}$. Ψ_{air} peut descendre entre -160 et -200 MPa en conditions très sèches.

Ce sont donc les fluctuations diurnes et saisonnières de potentiels hydriques du sol et de l'atmosphère qui influent principalement sur le statut hydrique de la plante. Le potentiel hydrique de l'atmosphère étant le plus faible, l'eau circule du sol à la plante jusqu'à l'atmosphère, permettant l'ascension de l'eau. Le contrôle par la plante de l'ouverture des stomates au niveau des feuilles, contrôle en grande partie la transpiration totale, c.-à-d. le flux

d'eau sortant de la plante. Deux potentiels hydriques clés sont abondamment utilisés pour rendre compte de ces fluctuations. Le potentiel hydrique de base Ψ_{pd} (pour *predawn*) est le potentiel foliaire en fin de nuit après réhydratation des feuilles, les stomates étant fermés durant la nuit et/ou le potentiel de l'atmosphère étant proche de 0 MPa. En conditions non stressantes, le potentiel hydrique de base est considéré comme équivalent à celui du sol, et souvent utilisé comme un estimateur. Le potentiel hydrique minimum Ψ_{md} (pour *midday*) est le potentiel foliaire le plus faible enduré par la plante, généralement mesuré lorsque le soleil est au zénith, pendant le pic de la saison sèche si elle existe, au moment où la demande évaporative de l'atmosphère est la plus forte.

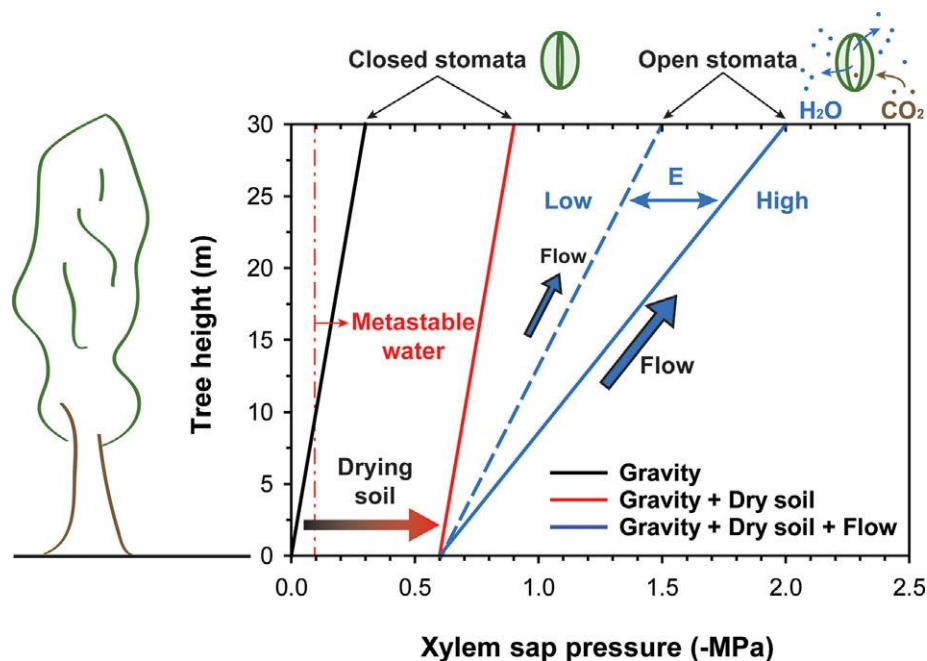


Fig. 2 : Les gradients de potentiels hydriques dans la plante. En conditions non stressantes, le potentiel hydrique du sol est le moins négatif du continuum sol-plante-atmosphère, celui de l'atmosphère est le plus négatif. Le potentiel hydrique dans le xylème diminue à mesure que l'on s'éloigne du sol et que l'on se rapproche de l'atmosphère. Lorsque le sol est hydraté et les stomates fermés, la colonne d'eau est stationnaire et le gradient de potentiels hydriques contrebalance la force de gravitation (trait noir). Lorsque le sol se dessèche, et que les stomates restent fermés, le gradient de potentiels hydriques reste le même, mais le début du gradient commence à un potentiel hydrique plus négatif (trait noire). Lorsque le sol se dessèche et que les stomates s'ouvrent, l'évapotranspiration (E) détermine le gradient de potentiels hydriques dans le xylème et le flux de sève (trait bleu). Plus E est élevé, plus le gradient de potentiels hydriques est important, plus le flux est élevé. Tiré de Venturas *et al.* 2017.

Deux théories, deux faces d'une même pièce

La formation de l'hydraulique comme science du végétal à part entière tout au début du XX^e siècle est avant tout liée à l'essor de la théorie de cohésion-tension (TCC ; Dixon and Joly, 1895, Dixon, 1914), qui reste à ce jour la principale théorie organisatrice de l'hydraulique des plantes. Cependant, la TCC a d'abord été une manière de voir et d'étudier les relations hydriques au niveau de la plante, et était vue comme une manière différente et séparée de

l'approche de Van der Honert (Cruiziat *et al.*, 2002) qui faisait une analogie avec la loi d'Ohm en voyant le transport de l'eau comme un processus caténaire (Honert, 1948). Aujourd'hui, il est clair que la TCC domine comme approche des relations hydriques, mais les deux approches (TCC et analogie à la loi d'Ohm) ne sont en rien exclusives, et peuvent être considérées comme deux faces d'une même pièce, deux lunettes différentes pour appréhender une seule et même réalité.

La fondation de la TCC est associée à John Joly (1857-1933), ingénieur et physicien, et Henry Dixon (1869-1953), botaniste. Dans leur étude de 1895 (Dixon and Joly, 1895), qui est avant tout une expérimentation, les auteurs démontrent que les surfaces transpirantes de la feuille génèrent une tension de surface suffisante pour élever une colonne d'eau, et que la colonne d'eau dans la plante est nécessairement en tension en régime normal. L'étude de Joly et Dixon était cependant basée sur des prérequis nécessaires à l'émergence de la TCC. Edward Strasburger (1844-1912), botaniste, avait démontré que la sève formait une colonne continue des racines aux feuilles, et que la pression barométrique, ou la pression racinaire n'étaient pas des forces suffisantes pour rendre compte de l'ascension de la sève (Strasburger, 1891; Brown, 2013). Plus tôt Helmholtz (1874) a démontré la nature cohésive de l'eau, ce qui a permis au botaniste Joseph Böhm d'argumenter sur l'importance des forces moléculaires entre les molécules d'eau dans le maintien d'une colonne d'eau sous tension (Böhm, 1893). Enfin, un peu à la façon de Charles Darwin et Alfred Wallace pour la théorie de l'évolution par le processus de sélection naturelle, Eugen Askenasy (1845-1903), botaniste, a étudié indépendamment de Joly et Dixon le même phénomène, pour en venir à peu près aux mêmes conclusions (Copeland, 1902; Brown, 2013). Même si les travaux d'Askenasy (Askenasy, 1895) sont publiés peu avant ceux de Joly et Dixon, Askenasy reste malheureusement moins connu.

La TCC peut être comprise et résumée selon les principes suivants (Fig. 3). Premièrement, l'eau en circulation dans la plante forme une colonne continue du bout des racines au site d'évapotranspiration situé dans les feuilles. Deuxièmement, la transition plante-atmosphère se superpose à la transition liquide-gaz de l'eau au niveau du site d'évapotranspiration dans les feuilles. Cette transition liquide-gaz est formée par un ménisque, sur lequel s'applique une forte tension de surface pouvant s'écrire selon l'équation de Young-Laplace :

$$\Delta P = - \frac{2\gamma}{r}$$

où ΔP est la tension s'appliquant sur le ménisque, γ est la tension superficielle pour l'eau de l'interface liquide/gaz ($73 \cdot 10^{-3} \text{ J m}^{-2}$), r est le rayon du ménisque. Le déficit hydrique de l'atmosphère au voisinage du ménisque entraîne une perte continue de molécules d'eau, ces dernières sont continuellement remplacées par les molécules d'eau en amont du ménisque. Ce processus de déficit-remplacement de molécules est la matérialisation d'une différence de potentiels hydriques localement, entraînant un flux d'eau vers le ménisque. Ce flux sortant abaisse de proche en proche le potentiel hydrique de la nervure, du pétiole, de la tige de la pousse, de la branche, du tronc, puis des racines jusqu'au sol. La tension générée au niveau du ménisque, et propagée dans toute la colonne d'eau, est à l'origine du nom de la TCC. Troisièmement, c'est la tension générée dans les racines qui permet l'absorption passive de l'eau du sol, et donc le remplacement de toute l'eau qui est transpiré par les feuilles. Quatrièmement, c'est l'ensemble des ménisques microscopiques sur une feuille, pour l'ensemble des feuilles, qui permet l'effet de capillarité nécessaire pour maintenir l'ensemble de la colonne au-dessus du sol dans la plante, et ce même si les gradients de potentiels s'annulent. En ce sens, la théorie aurait pu s'appeler de manière plus complète « capillarité-cohésion-tension ». Mais la capillarité n'est pas moins que la manifestation de l'effet de la tension superficielle à l'interface eau-solide. Pris dans ce sens, le terme tension à un double poids dans l'appellation « théorie de la cohésion-tension ». Cinquièmement, c'est la forte cohésion des molécules d'eau, notamment au travers des liaisons hydrogène, qui permet la mise sous tension de la colonne d'eau des racines aux feuilles et sa mise en mouvement. L'eau sous tension est ainsi maintenue dans un état métastable et saturée en gaz (Schenk *et al.*, 2015).

Pour des revues détaillées sur la TCC, son histoire, ainsi que les controverses qui l'ont traversée, le lecteur peut se référer aux travaux suivants : Copeland (1902), Pickard (1981), Tyree (1997), Steudle (2001), Brown (2013), Schenk *et al.* (2017).

Suite à la formulation de la TCC, Huber (1928) et Honert (1948) ont fait d'importantes contributions pour la compréhension des flux d'eau dans la plante, basée sur une analogie de la loi d'Ohm : $U = RI$, avec U la tension, R la résistance, et I l'intensité du courant. Par analogie, de la même manière que l'on peut parler de résistance électrique, il existe une résistance hydraulique, la différence de potentiels hydriques est équivalente à la différence de potentiels électriques, soit la force motrice, et le flux F (kg s^{-1}) est équivalent à I . Comme dans un processus caténaire, le flux hydrique est traité comme un courant électrique dans un circuit constitué de conductances en série, ou de résistance qui est l'inverse de la conductance. Dans n'importe quelle région du continuum sol-plante-atmosphère (SPAC), entre deux points A et

B, le flux F est fonction de la conductance k ($\text{kg s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$) de la section AB et de la différence de potentiel entre ces deux points tel que :

$$F_{AB} = k_{AB} (\Psi_A - \Psi_B)$$

Cette formalisation peut être appliquée à un vaisseau, une branche, une feuille, une racine, la plante entière ou même l'ensemble du continuum sol-plante-atmosphère.

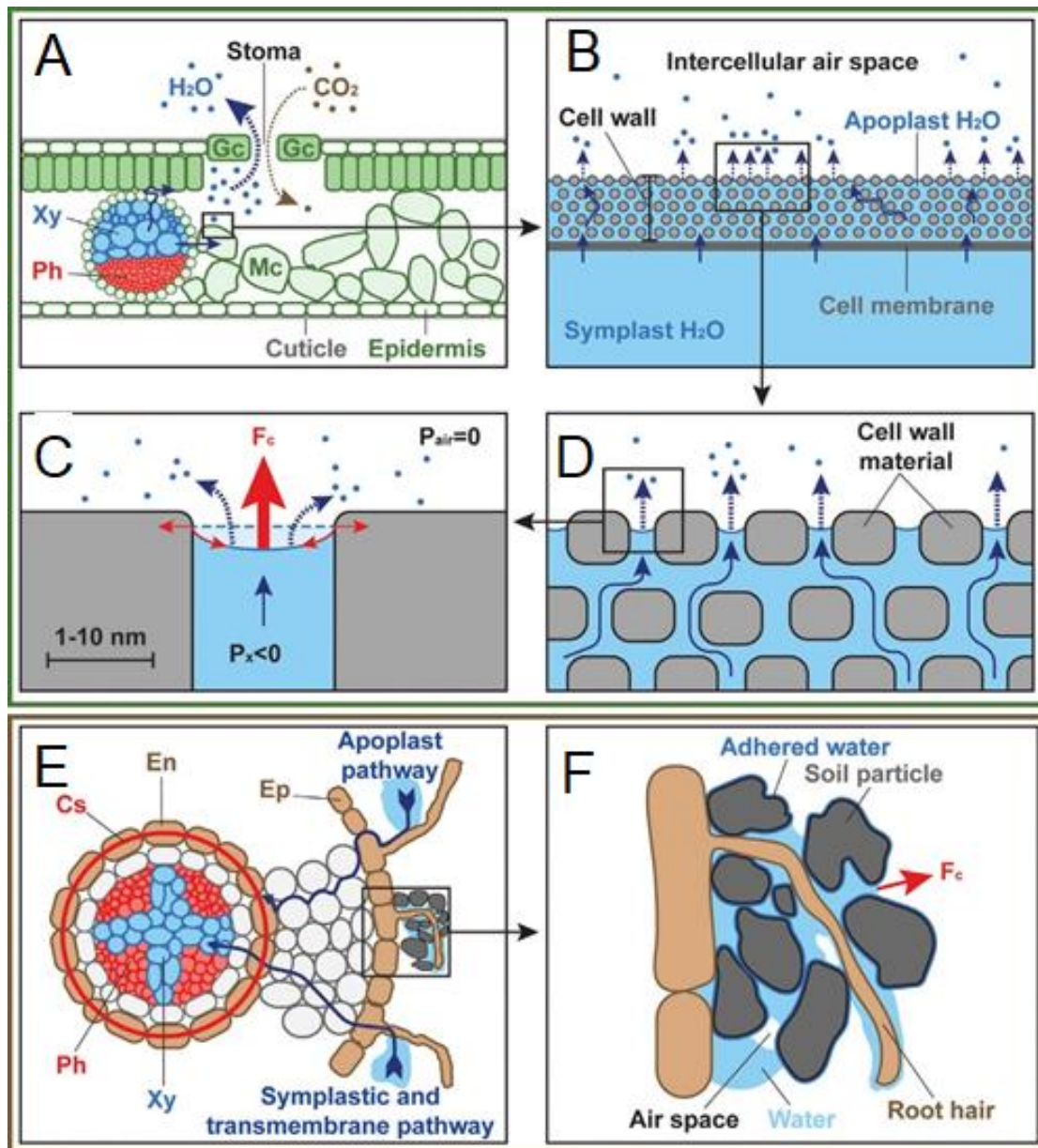


Fig. 3: Illustration de la théorie de la cohésion-tension. (A) L'absorption de CO_2 est permise par l'ouverture des stomates. Les stomates sont maintenus ouverts par l'évapotranspiration de l'eau provenant de la feuille. L'eau arrive dans le site d'évapotranspiration par le xylème des nervures. (B) L'eau passant en phase vapeur dans l'espace aérien intercellulaire arrive par voie symplasmique ou par voie apoplastique. (C,D) La colonne d'eau de la plante est maintenue par l'ensemble des forces capillaires (F_c) des ménisques air-eau. L'évaporation de molécules d'eau vers l'atmosphère génère la tension nécessaire pour le mouvement ascendant de l'eau dans la plante. (E,F) La tension générée au niveau des ménisques air-eau dans la feuille se propage dans toute la colonne et permet l'absorption de l'eau au niveau des poils absorbants (*root hair*) des racines. Les forces capillaires permettent à l'eau d'être absorbée au niveau de la surface des racines. L'eau rejoint ensuite le xylème des racines par voie symplasmique ou apoplastique. Cs : cadre de Caspari ; En : endoderme ; Ep : Épiderme ; F_c : force capillaire ; Mc : cellule du mésophylle ; Ph : phloème ; Xy : xylème. Tiré de (Venturas et al., 2017).

L'analogie à la loi d'Ohm peut être généralisée en intégrant la capacitance C ($\text{kg m}^{-3} \text{MPa}^{-1}$). Notre section AB est associée à une capacité donnée de stockage d'eau. La capacité aura pour effet d'avoir un flux entrant en A inégal au flux sortant en B. Le degré de différence entre les flux entrant et sortant sera proportionnel à la capacitance et la différence de potentiels hydriques entre A et B.

L'analogie à la loi d'Ohm peut en définitive être vue comme un simple formalisme quantitatif de la TCC (Cruziat *et al.*, 2002).

4. Les voies de circulation de l'eau dans la plante

Deux voies de circulation de l'eau dans la plante sont généralement considérées, la voie apoplasmique et la voie symplasmique.

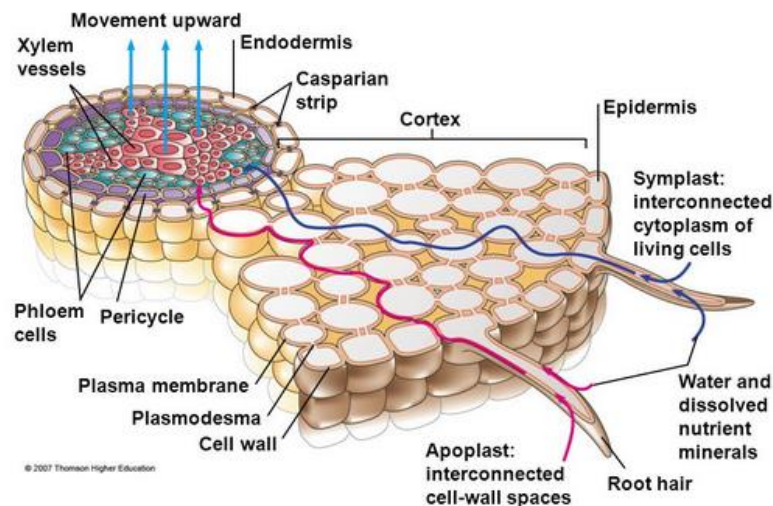


Fig. 4 : Les voies de circulations de l'eau, le cas des racines. Dans le cas de la circulation apoplasmique, l'eau circule à l'extérieur des cellules, dans ou entre les parois cellulaires. Dans le cas de la circulation symplasmiques, l'eau circule dans les cellules vivantes, par cytoplasmes interconnectés. Le passage de l'eau de cytoplasme en cytoplasme se fait via les plasmodesmes. Dans le xylème, le mouvement de l'eau par les vaisseaux se fait uniquement par voie apoplasmique. Tiré de Starr (2007).

Dans la circulation apoplasmique (Fig. 4), l'eau et les minéraux circulent à l'extérieur des cellules, dans ou entre les parois cellulaires, dans les espaces extracellulaires, et ne traversent pas les membranes plasmiques. La voie apoplasmique est importante pour toutes les interactions de la plante avec l'environnement. Le CO_2 atmosphérique se solubilise dans l'eau de l'apoplaste des feuilles avant de diffuser à travers les membranes plasmiques des cellules du mésophylle pour rejoindre les chloroplastes. Dans les racines, l'eau et les minéraux diffusant à travers l'épiderme circulent majoritairement par la voie apoplasmique, avant d'être canalisés dans le symplaste au niveau du cadre de Caspary, puis arrivés dans le flux transpiratoire du xylème. Enfin, les éléments de conduction du xylème, que cela soit les trachéides pour les

gymnospermes ou les éléments de vaisseaux pour les angiospermes, sont des cellules mortes par apoptose dont le contenu cellulaire est vidé et donc dépourvu de membrane et de cytoplasme. La circulation de l'eau dans le xylème est donc apoplasmique. L'apoplasme représente ainsi le plus grand volume dans la plupart des plantes en tant que voie de transport, en comparaison du symplasma.

Le symplasma est délimité à l'intérieur de l'ensemble des membranes plasmiques. Dans la circulation symplasmique (Fig. 4), l'eau diffuse librement et directement de cytoplasme en cytoplasme, dans un continuum intracellulaire, notamment selon les gradients de concentration en solutés. Le transport de cytoplasme en cytoplasme se fait via les plasmodesmes. Le plasmodesme est un canal traversant la paroi, principalement constitué d'un anneau de protéines globulaires. Le passage des membranes se fait au travers de protéines membranaires que sont les aquaporines (Maurel *et al.*, 2015).

Le transport de l'eau dans la feuille est abordé dans une partie dédiée plus bas.

5. Les limites au transport de l'eau : l'embolie

Comprendre comment les plantes peuvent utiliser d'importantes tensions pour le transport de l'eau, avec une sève saturée en gaz, sans constamment créer des bulles d'air, a longtemps été et reste un challenge dans la discipline (Schenk *et al.*, 2015). En effet, une certaine limite existe au transport d'un liquide sous tension. Lorsque la tension appliquée à la colonne d'eau dans le xylème devient trop forte et qu'une certaine barrière énergétique est franchie, une transition abrupte d'une phase liquide à une phase gazeuse opère : c'est la cavitation (Tyree and Sperry, 1989). À partir du moment qu'il y a cavitation dans les éléments de conduction du xylème, la vapeur s'étend. De quelques minutes à quelques heures, la vapeur diffuse dans le conduit jusqu'à ce que la pression locale soit équivalente à la pression atmosphérique : c'est l'embolie (Tyree and Sperry, 1989; Cruiziat *et al.*, 2002). Le conduit devient ainsi bloqué par l'air, c.-à-d. embolisé, et ne peut plus conduire d'eau. L'embolie à l'échelle du conduit est un enjeu puisqu'elle représente un point de non-retour où l'air du conduit ne peut plus être dissous dans l'eau tant que l'eau peut se vaporiser (Cruiziat *et al.*, 2002). L'accumulation de conduits embolisés réduit à proportion la conductance de la section de xylème considérée, pouvant mener à la déshydratation et la mort de la plante. La résistance à l'embolie est d'autant plus un enjeu, car elle est un mécanisme central dans la mort de la plante par sécheresse.

La cavitation est elle-même déclenchée par un phénomène physique sous-jacent, la nucléation, qui est l'apparition d'une interface (gaz-liquide dans notre cas) capable de s'étendre (Westwater, 1956). Il existe deux types de nucléation : la nucléation homogène et la nucléation

hétérogène. La nucléation homogène se crée dans une phase liquide pure, dont la barrière énergétique dépendra principalement de la tension superficielle du liquide tel que :

$$E_{hom} = \frac{16\pi\gamma^3}{3(P_l - P_v)^2}$$

avec E_{hom} la barrière énergétique, γ la tension de surface du liquide, P_l la pression du liquide, et P_v la pression vapeur de l'eau au même potentiel chimique que P_l (Khurana *et al.*, 1998). La nucléation hétérogène se crée à une interface solide-liquide, dont la barrière énergétique dépendra en plus de l'angle de contacts entre les phases liquide et solide tel que :

$$E_{het} = \frac{16\pi\gamma^3}{3(P_l - P_v)^2} * \left[\frac{2 + 3\cos\varphi - \cos^3\varphi}{4} \right]$$

avec φ l'angle de contact. La condition de surface du solide a une forte incidence sur cet angle de contact, et donc sur la barrière énergétique de nucléation (Khurana *et al.*, 1998). Il est très peu probable que la nucléation homogène opère dans le xylème, car la tension nécessaire est au plus de -22 MPa, ce qui est largement en dessous des tensions généralement opérantes dans les plantes (Schenk *et al.*, 2017). La nucléation hétérogène, tout de suite suivie de la coalescence des nanobulles dissoutes dans la sève, est ainsi le principal mécanisme candidat qui pourrait expliquer la formation de cavitations *de novo* (Schenk *et al.*, 2015, 2017, 2018; Jansen *et al.*, 2018). Mais l'observation de ce nanophénomène hypothétique dans un système sous tension reste très difficile (Schenk *et al.*, 2017). De ce fait, et aussi étonnant que cela puisse paraître, nous ne savons pas si la cavitation *de novo* existe chez les plantes, ou plus largement d'où provient la première bulle qui engendra la première cavitation qui se propagerait par la suite dans le xylème.

Un mécanisme bien mieux connu, en comparaison de l'hypothétique apparition *de novo* de la cavitation, est la propagation de l'embolie d'un conduit à un autre par le mécanisme du germe d'air (*air-seeding mechanism* ; Zimmermann 1983, Tyree and Sperry 1989, Choat *et al.* 2008, Mayr *et al.* 2014). Cependant, comprendre le mécanisme du germe d'air nécessite de connaître la structure du xylème et des vaisseaux, ce qui est développé ci-dessous. Une partie dédiée à la résistance à l'embolie sera aussi développée ci-dessous.

II – STRUCTURES ANATOMIQUES

1. Le xylème : un tissu pluricellulaire

Le xylème secondaire, ainsi que le cambium qui est le méristème secondaire assurant sa production, a été une innovation déterminante pour la diversification des plantes en milieu terrestre. Le xylème est aujourd’hui présent dans deux principaux clades : les gymnospermes et les angiospermes. Entre les deux clades, le xylème a une structure différente, mais assure les mêmes principales fonctions (Baas *et al.*, 2004; Beeckman, 2016), en plus de participer à la croissance en diamètre. La première, et celle qui nous intéresse en premier lieu, est la conduction de l’eau. La seconde est le soutien mécanique, que cela soit en flexion, en torsion, ou pour le redressement (Gardiner *et al.*, 2014). La troisième est le stockage de l’eau, des nutriments et des sucres. Enfin, une quatrième fonction quelquefois associée au xylème, mais pas systématiquement selon les espèces considérées est la défense, qu’elle soit physique ou chimique, notamment avec le processus de duraminisation (Lehnebach, 2015).

Chez les gymnospermes, le xylème est généralement homoxylé, c’est-à-dire constitué d’un seul type cellulaire qu’est la trachéide (Fig. 5A). En fonction des espèces il peut y avoir des cellules de parenchymes. Les trachéides assurent donc à la fois les fonctions de conduction et de soutien. Chez les angiospermes, le xylème est généralement hétéroxylé, c’est-à-dire constitué de différents types cellulaires (Fig. 5B). Les éléments de vaisseau assurent la conduction et sont généralement les cellules les plus grosses dans le xylème, mesurant 20-500 μm de diamètre et 10-1000 μm de long, et orientées axialement par rapport à la tige. Les éléments de vaisseau fonctionnels sont des cellules mortes, vidées de leur contenu. Les vaisseaux sont constitués de l’alignement axial de plusieurs éléments de vaisseau. Les fibres assurent le soutien mécanique, elles sont plutôt longues et fines, et orientées axialement par rapport à l’axe de la tige. Il en existe plusieurs types : libriformes, juxtavasculaires, fibres-trachéides. Les fibres représentent généralement la plus grande proportion de tissu, et mesurent 20-40 μm de diamètre et 1-10 mm de longueur, avec une épaisseur de paroi de 1.5-10 μm . Comme les éléments de vaisseau, les fibres sont mortes et vidées de leur contenu. En fonction des espèces, il est possible de trouver des trachéides, qui assurent à la fois la conduction et le soutien mécanique. Les trachéides peuvent permettre de réaliser des ponts de conduction radiale (*fiber bridge*) entre les vaisseaux (Pan and Tyree; Cai *et al.*, 2014). Enfin, les parenchymes assurent la fonction de stockage (Plavcová *et al.*, 2016; Jupa *et al.*, 2016) et un système parallèle de conduction (Carlquist, 2007; Pfautsch *et al.*, 2015; Jupa *et al.*, 2016). Dans la réalisation de leurs fonctions, les cellules de parenchyme sont vivantes, et le restent donc plus longtemps que les éléments de vaisseau et les fibres (Schenk, 2018). Deux types de parenchymes peuvent être

discernés. Le parenchyme radial est composé de cellules orientées horizontalement radialement par rapport à la tige, et forme les rayons du bois, et se prolonge généralement dans le phloème. Le parenchyme radial permet la circulation radiale de l'eau (là où les vaisseaux sont plutôt spécialisés dans la circulation axiale) à travers le xylème, ou entre le xylème et le phloème. Il permet aussi la circulation des nutriments, des sucres, ainsi que les métabolites secondaires pouvant être impliqués dans la défense ou la duraminisation. Le parenchyme axial est composé de cellules orientées verticalement et axialement par rapport à la tige. Ce parenchyme permet aussi la circulation et le stockage de l'eau, des nutriments, des sucres, et des métabolites. Différents types de parenchymes axiaux peuvent être discernés : le parenchyme apotrachéale qui est non-communicatif avec les vaisseaux, le parenchyme paratrachéal qui entoure les vaisseaux, et le parenchyme traumatique qui permet le rebouchage et la réparation de traumatismes survenus *a posteriori* de la formation du xylème.

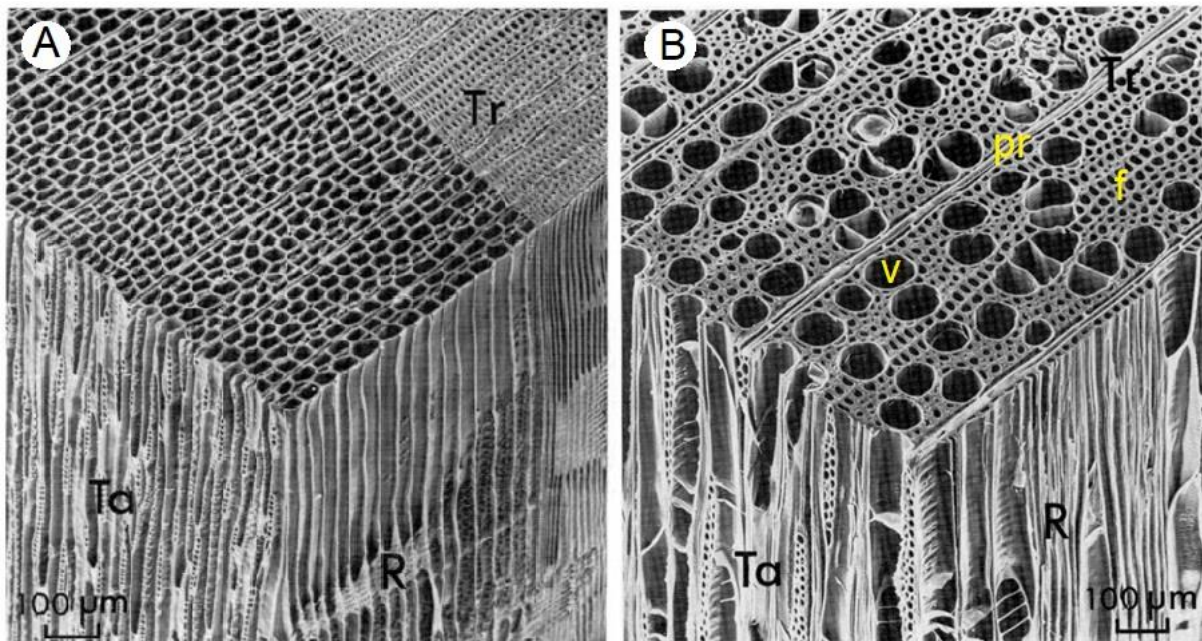


Fig. 5: (A) Illustration des trois plans du bois de gymnospermes, uniquement constitué de trachéides. (B) Illustration des trois plans du bois d'angiospermes avec les trois principaux types cellulaires : les éléments de vaisseaux (v), les fibres (f), et les cellules de parenchyme (pr). Pour le parenchyme seul le parenchyme radial est illustré, et non le parenchyme axial. R : plan longitudinal radial ; Ta : plan longitudinal tangentiel ; Tr : plan transversal. Tiré d'un cours de Cochard, 2016 (<http://herve.cochard.free.fr/ppt/M2-2016.ppt>).

Le bois forme à la fois un système compartimenté, de par les différents types cellulaires, et intégrés, de par la cohésion et la communication entre toutes les cellules via les structures dédiées au transport transmembranaire et/ou transpariétal (plasmodesme, aquaporine, ponctuation).

2. Formation du xylème secondaire et patrons macro-anatomiques

Le xylème secondaire est formé à partir du méristème secondaire qu'est le cambium (appelé également assise libéro-ligneuse). Le cambium s'active peu après la mise en place d'une section de tige par le méristème primaire et le procambium, suite à la dédifférenciation de cellules de parenchyme. Deux types de cambiums se mettent en place en parallèle puis fusionnent : le cambium intrafasciculaire (à l'intérieur des faisceaux fibro-vasculaire) et le cambium interfasciculaire (entre deux faisceaux fibrovasculaires). Le cambium a généralement un fonctionnement bifacial, en générant le phloème secondaire en face externe, et le xylème secondaire en face interne (Fig. 6). Le cambium forme un anneau dans une section transversale de tige, ou un cône lorsque la tige est envisagée en trois dimensions. Il est formé d'une à quelques assises de cellules totipotentes appelées initiales dont il existe deux types. Les initiales fusiformes sont orientées verticalement et forment les éléments de vaisseau, les fibres, et les cellules de parenchyme axial. Les cellules initiales radiales (ou de rayon) sont orientées radialement et forment les cellules de parenchyme radial. Pour la xylogénèse, nous allons nous concentrer ici uniquement sur les angiospermes.

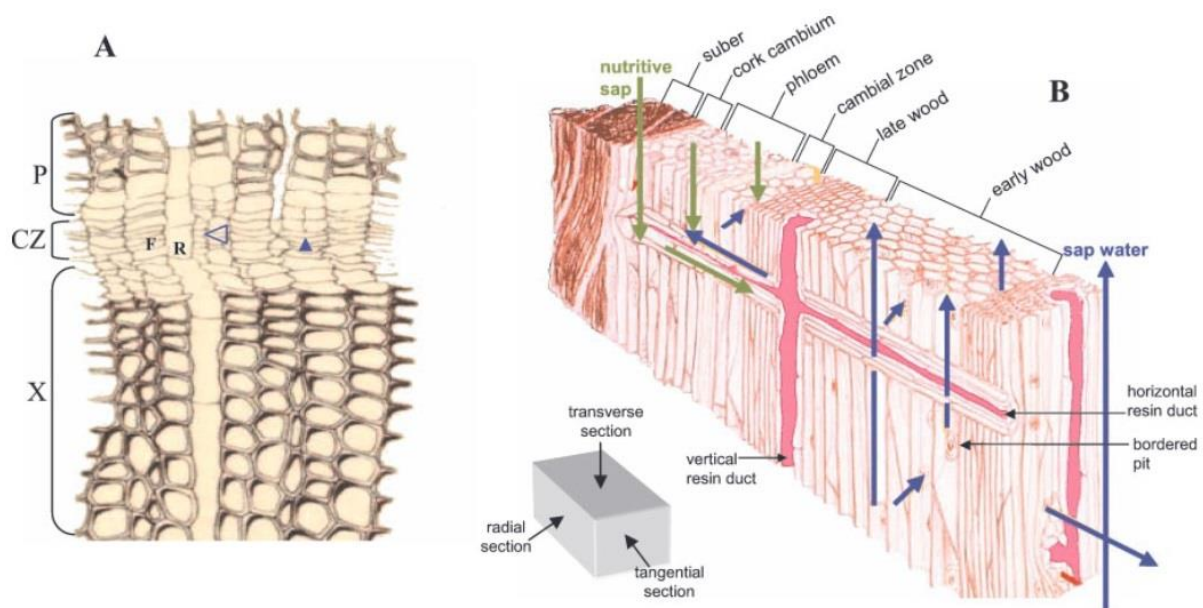


Fig. 6: Le fonctionnement cambial. (A) Dessin d'une coupe transversale de *Pinus pinaster*. Les initiales fusiformes (F) du cambium se différencient en cellules orientées verticalement dans le xylème tel que les fibres et les éléments de vaisseaux. Les initiales radiales (R) se différencient en cellules orientées horizontalement dans le xylème tel que les cellules de parenchyme de rayon. (B) Le xylème est formé en face interne du cambium, le phloème en face externe. Les cellules de parenchyme de rayons permettent le transport horizontal et les échanges d'eau et de nutriments entre le xylème et le phloème. Tiré de Plomion et al. 2001.

Les initiales du cambium sont sujettes à d'importantes mitoses, avec des divisions à la fois dans le plan radial (périclines) et dans le plan tangentiel (anticlines). Les cellules nouvellement formées dans la région cambiale xylémienne vont rentrer en expansion en largeur

et en longueur, notamment grâce à la pression de turgescence. Une fois la taille définitive atteinte, la paroi secondaire se met en place. Cette paroi se lignifie par la suite, sauf pour certaines cellules de parenchyme. Enfin, les fibres et les éléments de vaisseaux meurent par apoptose et se vident de leur contenu avant de former le xylème mature. Les cellules de parenchyme mourront plus tard.

Le fonctionnement cambial est soumis à variations, avec le développement de la plante et avec l'environnement, ce qui impacte l'anatomie et les propriétés du bois. Cette variabilité de fonctionnement détermine une variété de patrons macro-anatomiques. L'activité cambiale peut varier avec la saisonnalité (été-hiver, saison sèche-saison humide), comme une alternance de production cambiale forte (nombreuses cellules et/ou grosses cellules) et de production cambiale faible, voire nulle (cellules peu nombreuses et/ou petites)(Rathgeber, 2017). En régions tempérées, la plupart des arbres opèrent un arrêt de croissance durant l'hiver. En régions tropicales, une grande part des espèces d'arbres observent au moins un ralentissement de croissance durant la saison sèche. Cette alternance de fonctionnement cambiale se retrouve visible dans le bois par les cernes, marqué par des cellules plus petites et/ou des parois plus épaisses. Cependant, cette fluctuation saisonnière du fonctionnement cambiale n'est pas systématique, notamment en région tropicale. Il est en effet possible d'observer des espèces sans cernes, ne réagissant pas aux fluctuations saisonnières. Il est aussi possible d'observer des espèces avec un rythme de fluctuation décorrélié des fluctuations saisonnières exogènes, et semblant suivre un rythme endogène non annuel (Morel *et al.*, 2015). Enfin, il est aussi possible d'observer des espèces mettant en place plusieurs cernes par an.

Le fonctionnement cambial varie aussi avec le développement de la plante, tel qu'un jeune cambium ne fonctionne pas de la même manière qu'un cambium plus âgé. Cette variation à une incidence sur le bois crée, tel que l'on parlera de bois juvénile, situé près de la moelle et mis en place par un cambium jeune, et de bois mature plus éloigné de la moelle (Burdon *et al.*, 2004). Le bois juvénile est souvent caractérisé par une croissance radiale forte, des parois fines et déformables (faible résistance mécanique), et des vaisseaux denses et petits.

Le fonctionnement cambial est en partie coordonné avec le fonctionnement des méristèmes primaires, tel que le bois nouvellement formé alimente préférentiellement les feuilles nouvellement formées (cependant, voir Maton and Gartner, 2005). Plus le xylème vieillit et s'éloigne du cambium, plus l'eau qui y est transportée sera soumise à de la résistance hydraulique radiale (qui est plus importante que la résistance axiale ; Ellmore *et al.*, 2006). De plus, l'accumulation de volume de bois avec du parenchyme vivant implique d'accumuler des coûts de maintien associés à la respiration. Ainsi dans la majorité des cas pour les arbres et

arbustes, le bois « vieux » est fonctionnellement « désolidarisé » du bois nouvellement formé : c'est la duraminisation. Le duramen est ainsi uniquement constitué de cellules mortes et n'est plus conducteur. Durant ce processus, une grande diversité de molécules (les extractibles) vient s'incruster dans les parois. Le duramen est ainsi rendu plus résistant aux agents pathogènes (champignons, herbivores, lignivores...). Ceci est d'autant plus un enjeu pour les arbres devant vivre plusieurs centaines d'années. Le bois de duramen est généralement un peu plus dense dû aux extractibles (Lehnebach *et al.*, 2019). Le duramen s'oppose à l'aubier, qui est le bois nouvellement formé situé sous le cambium. Contrairement au duramen, l'aubier est généralement constitué de cellules encore vivantes (les parenchymes) et est hydrauliquement fonctionnel.

3. Anatomie des vaisseaux

La paroi des vaisseaux

Lors de la xylogénèse, la formation des éléments de vaisseaux peut être résumée entre grandes étapes que sont la division cellulaire, l'expansion cellulaire grâce à la turgescence, la mise en place des parois, puis l'apoptose (Plomion *et al.*, 2001). L'étape d'expansion cellulaire est réalisée en même temps que la mise en place de la paroi primaire, relativement fine et élastique (Plomion *et al.*, 2001), et est principalement constituée de cellulose, d'hémicellulose et de pectine. Ces microfibrilles sont reliées entre elles par les hémicelluloses formant un réseau inclus dans une matrice de pectine (Plomion *et al.*, 2001). Une fois la taille définitive atteinte suite à l'expansion, la paroi secondaire est synthétisée. Elle est constituée de trois couches successives, S1, S2, et S3, avec la S3 située la plus à l'intérieur avant le lumen (Plomion *et al.*, 2001; Fig. 7). Par rapport à la paroi primaire, la paroi secondaire est enrichie en lignine. La composition de cette paroi secondaire est ~50% de cellulose, ~20-30% d'hémicellulose, ~25-30% de lignines, et de faibles quantités de pectine et de protéines (Mellerowicz and Sundberg, 2008; Schuetz *et al.*, 2013).

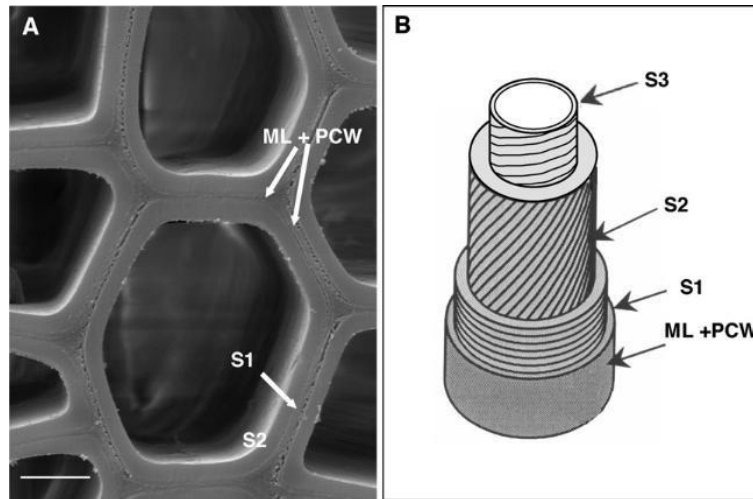


Fig. 7: (A) Coupe transversale de *Populus* en microscopie électronique. La lamelle moyenne (ML), la paroi primaire (PCW), et les couches S1 et S2 de la paroi secondaire sont visibles. (B) Schéma des couches S1, S1, et S3 de la paroi secondaire. Les stries schématisent l'angle des microfibrilles. Tiré de Déjardin et al. 2010.

Les perforations

Les éléments de vaisseaux s'alignent les uns à la suite des autres axialement pour former un vaisseau, tel qu'un vaisseau peut être constitué de deux à plusieurs éléments (Sperry, 2003; Pittermann, 2010). La jonction entre deux éléments de vaisseau est constituée par les perforations, qui sont des dégradations de la paroi, formant des ouvertures totalement libres d'une à quelques dizaines de μm de diamètre. Il existe deux grands types de perforation (Fig. 8). Les perforations simples sont de grandes ouvertures plutôt rondes, et semblent être associées à une plus grande efficacité hydraulique, puisque souvent associées à de gros vaisseaux (Jansen and Nardini, 2014; Lens *et al.*, 2016). Les perforations scalariformes forment des plaques en échelle, où une perforation est généralement de forme ovale et très allongée, ce qui définit une plus grande barrière entre les éléments de vaisseau, et donc une plus grande résistance hydraulique (Christman and Sperry, 2010). Les perforations scalariformes correspondent globalement à un caractère plus ancestral à l'échelle de la phylogénie des angiospermes (Medeiros *et al.*, 2019).

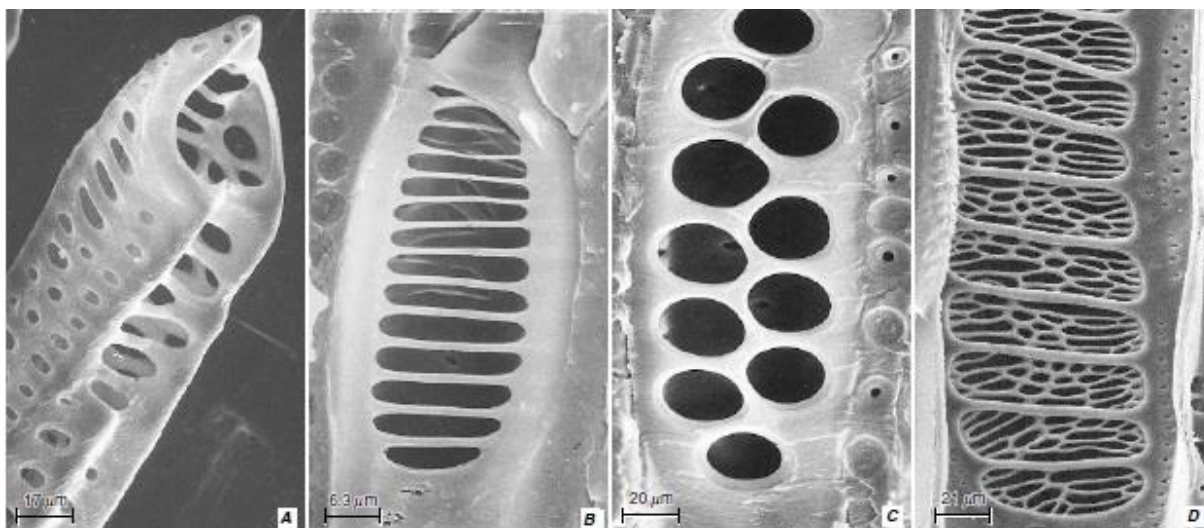


Fig. 8: Illustrations de différents types de perforation au microscope électronique à balayage. (A) Une perforation simple, avec une très large ouverture, *Pelargonium*. (B) Perforations scalariformes, *Rhododendron*. (C) Perforations foraminées, *Ephedra*. (D) Perforations scalariformes et réticulées, *Knema*. Tiré de Evert, 2006.

Les ponctuations

La jonction entre deux vaisseaux est constituée par les ponctuations. Les ponctuations ont pour fonction de contrôler la propagation des embolies tout en assurant le passage de l'eau, ce qui en fait des structures à forts enjeux pour le fonctionnement hydraulique de la plante. Ce sont des espaces de paroi primaire (Choat *et al.*, 2008; Jansen *et al.*, 2018), exempte de paroi secondaire dégradée lors de la xylogénèse (Jansen *et al.*, 2018). Une ponctuation est donc associée à une paroi d'une cellule (Fig. 10). Pour qu'il y ait communication entre deux cellules, une ponctuation associée à une cellule est située exactement au regard d'une ponctuation de la cellule adjacente (Fig. 10). Pour être rigoureux, on parle d'une paire de ponctuations, mais le dans le langage courant on utilise le terme « ponctuation » pour englober les deux. Il existe deux grands types de ponctuation. Dans une ponctuation bordée, la paroi secondaire forme une voûte, les bordures (*border*) non fermées au-dessus de la membrane, formant une ouverture (*aperture*) d'un plus petit diamètre que la membrane. L'ensemble de la voûte délimite une cavité appelée la chambre de la ponctuation. Dans une ponctuation simple, il n'existe pas de telle voûte, et la paroi secondaire délimite strictement la membrane de la ponctuation. La combinaison d'une ponctuation simple au regard d'une ponctuation bordée s'appelle une paire de ponctuations semi-bordées. Les ponctuations simples sont généralement associées aux cellules de parenchyme, aux fibres, et certaines trachéides (Evert, 2006). Les ponctuations bordées sont généralement associées aux éléments de vaisseaux, et aux trachéides (Evert, 2006).

La paroi primaire restant au sein de la ponctuation est malencontreusement appelée la membrane de la ponctuation. Cependant, cette membrane est aussi la résultante de la lamelle

moyenne des cellules adjacentes. Lors de l'apoptose de ce qui deviendra les vaisseaux, la paroi primaire est partiellement hydrolysée (Schmid and Machado, 1968), ce qui augmente la perméabilité de la membrane de la ponctuation, sachant que l'ensemble des membranes représente une grande part de la résistance hydraulique totale dans une plante (Sperry *et al.*, 2006). Tout comme les parois cellulaires, il est depuis longtemps reconnu que les membranes des ponctuations sont composées d'un treillis de microfibrilles de cellulose (Herbette *et al.*, 2015; Klepsch *et al.*, 2016; Jansen *et al.*, 2018; Fig. 11). Cependant, savoir si la membrane des ponctuations est constituée d'autres composés pose toujours problème, avec comme principaux candidats l'hémicellulose, la pectine, et la lignine, dont la question est de savoir si ces composés sont totalement hydrolysés durant l'apoptose. Une étude récente basée sur des observations directes suggère fortement que la membrane des ponctuations intervasculaires serait composée de composés phénoliques et de protéines en plus de la cellulose (Pereira *et al.*, 2018). Les membranes de ponctuation vaisseau-parenchyme seraient en plus composées de lignine. Cependant, cela ne veut non plus dire que l'hémicellulose serait totalement absente. Il a aussi été montré que la membrane des ponctuations intervasculaires est associée à des lipides amphiphiliques (Schenk *et al.*, 2017, 2018). La signification fonctionnelle de ces lipides est discutée plus bas.

Les ponctuations peuvent arborer différentes formes (Fig. 9, 10). Les ponctuations scalariformes sont de forme elliptique et très allongée, ayant une longueur similaire au diamètre du vaisseau. Ces ponctuations sont généralement disposées en séries verticales le long du vaisseau, donnant un aspect d'échelle. Les ponctuations circulaires sont plus communes et peuvent être disposées de deux façons sur la paroi des vaisseaux. Les ponctuations à disposition opposée forment des séries verticales et horizontales, donnant l'aspect d'une grille. Les ponctuations à disposition alternée sont disposées hélicoïdalement, optimisant la surface de la paroi du vaisseau. C'est la disposition la plus commune chez les angiospermes. Chez certaines familles, les ponctuations peuvent être à ornements (*vestures* ; Fig. 10g, h). Les ornements sont des excroissances ou des reliquats de paroi secondaire non dégradés, présents à l'intérieur de la chambre de la ponctuation, ou au niveau de l'aperture. Des travaux suggèrent que les ponctuations à ornementation seraient plus souvent associées aux perforations simples (Jansen *et al.*, 2003; Medeiros *et al.*, 2019), et aux habitats plus secs (Carlquist, 2001; Jansen *et al.*, 2004), et même à une plus grande résistance à l'embolie (Jansen *et al.*, 2003). De plus la présence ou non d'ornements affectent les relations entre la hauteur de la plante, la taille des vaisseaux, et le climat (Medeiros *et al.*, 2019).

Pour une revue de la structure et du fonctionnement des ponctuations chez les gymnospermes, l'auteur peut se référer aux études suivantes : Choat *et al.* (2008), Delzon *et al.* (2010), Jansen *et al.* (2012), Larter (2016).

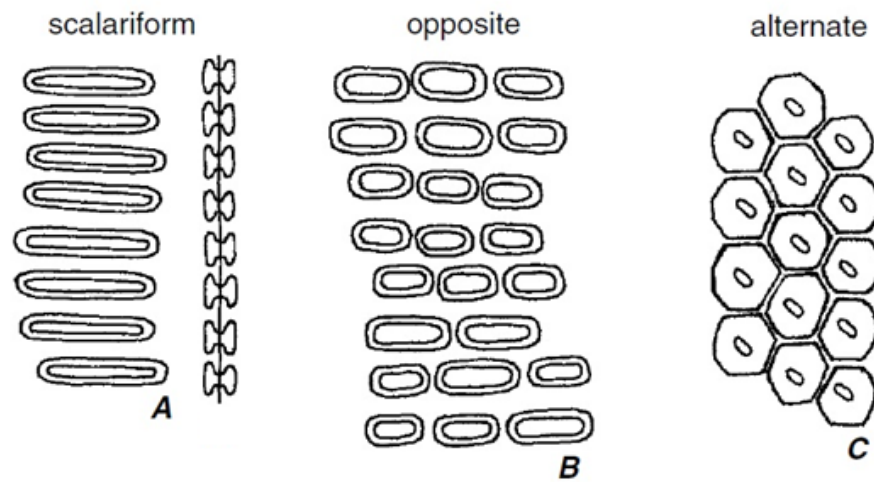


Fig. 9: Typologie des arrangements des ponctuations. (A) Ponctuations scalariformes. (B) Ponctuations opposées. (C) Ponctuations alternées. Tiré de Evert 2006.

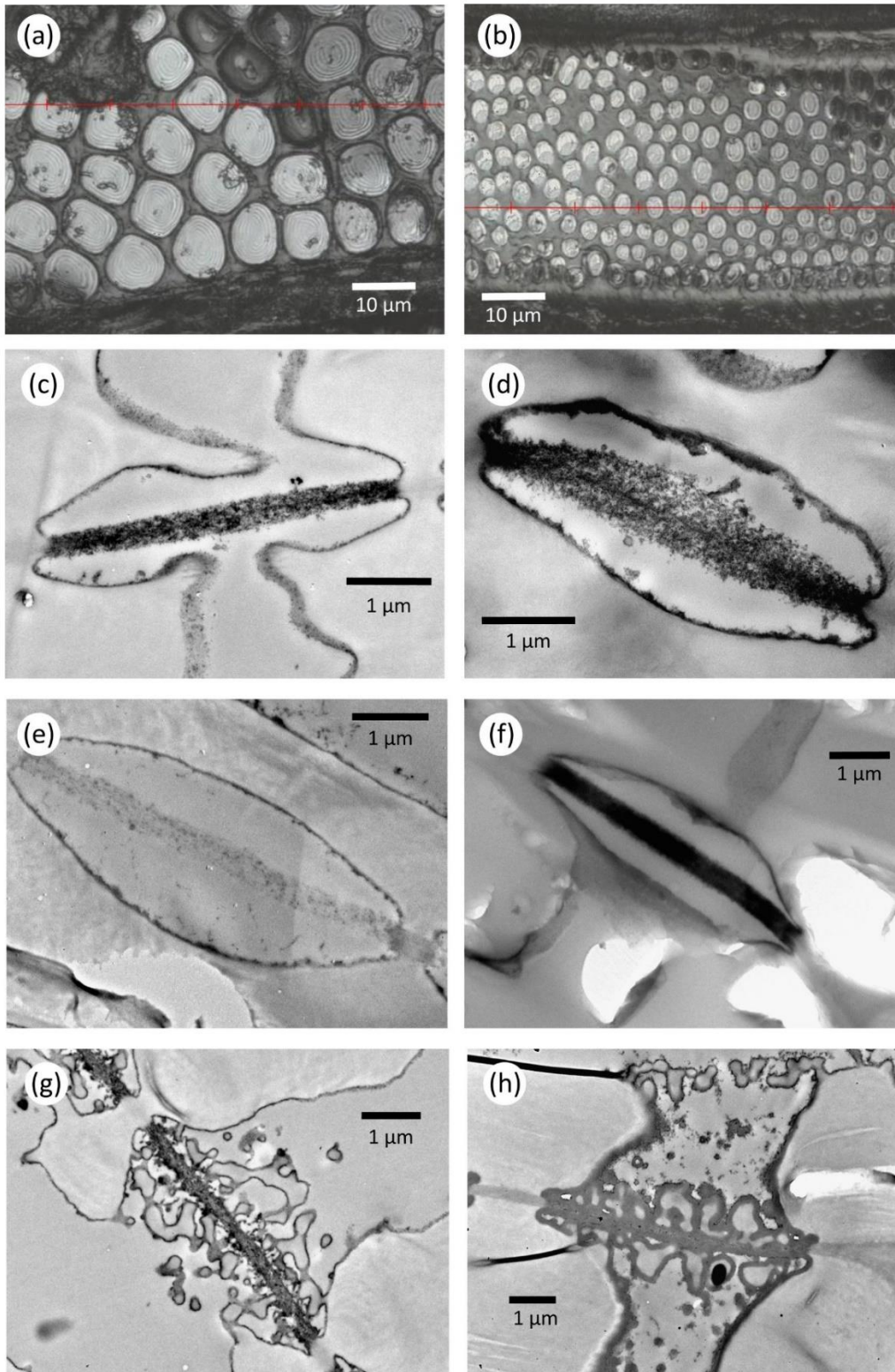


Fig. 10: Coupes longitudinales tangentielles au microscope laser (a,b) et coupes transversales au microscope électronique à transmission (c,d,e,f,g,h). (a) Grandes membranes de ponctuations sur une paroi intervasculaire pour l'espèce vulnérable à l'embolie *Chaetocarpus schomburgkianus*. (b) Petites membranes de ponctuations sur une paroi intervasculaire pour l'espèce résistante à l'embolie *Gustavia hexapetala*. (c) Membranes fines pour l'espèce *Pradosia cochlearia*. (d) Membrane épaisse pour l'espèce *Lecythis persistens*. (e) Membrane avec une faible densité aux électrons chez l'espèce *Symphonia globulifera*. (f) Membrane avec une forte densité aux électrons chez l'espèce *Manilkara bidentata*. (g) Membrane ornementée chez l'espèce *Eperua grandiflora*. (h) Membrane ornementée chez l'espèce *Qualea rosea*. Tiré du **Chapitre 5** de cette thèse.

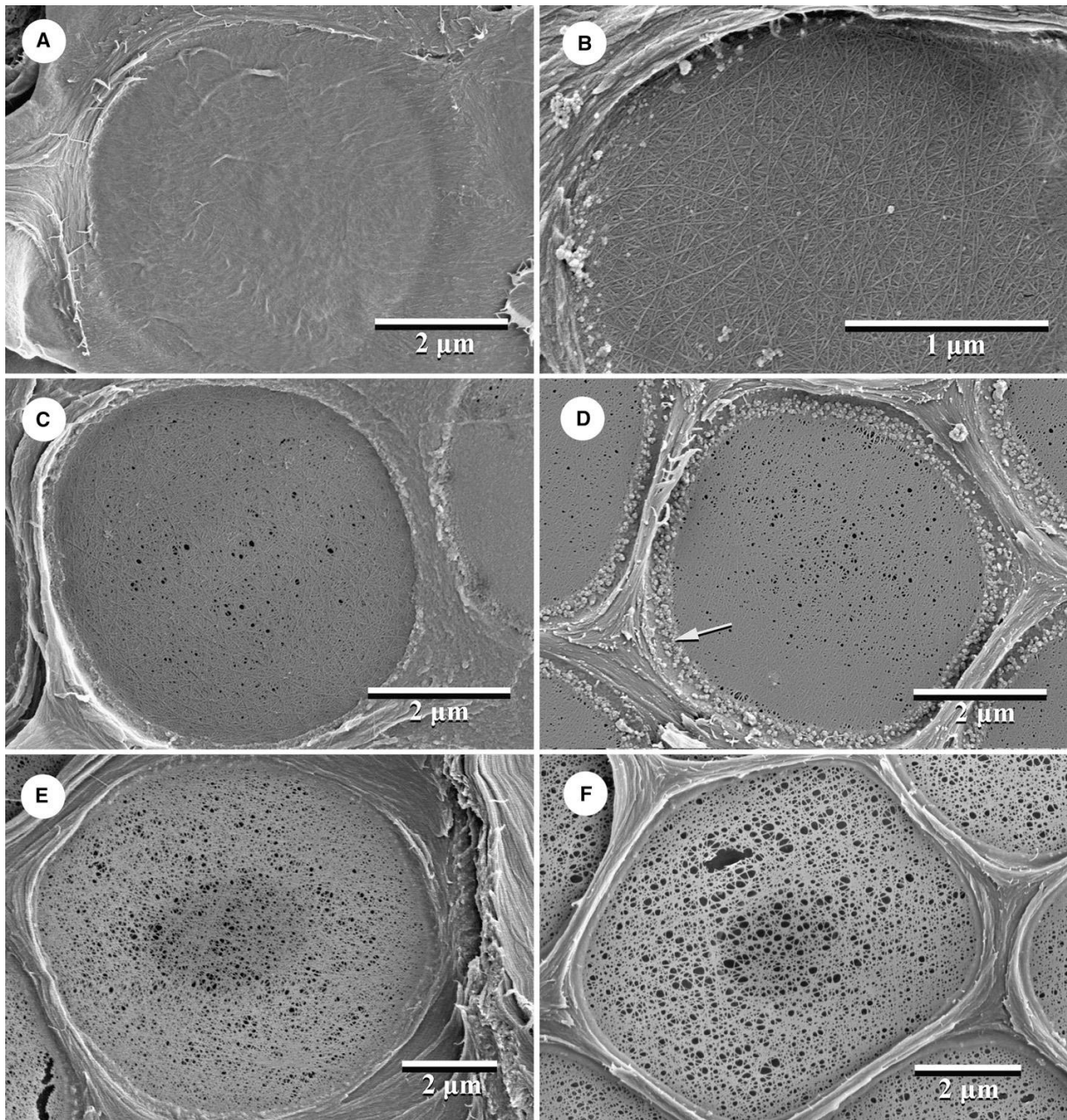


Fig. 11: Observations de membranes de ponctuation en coupe longitudinales au microscope électronique à balayage. (A) Membrane peu poreuse chez *Laurus nobilis*. (B) Membrane peu poreuse chez *Quercus robur*. Ici on observe très distinctement les microfibrilles de celluloses. (C) Membrane poreuse chez *Sophora japonica*. (D) Membrane poreuse chez *Acer negundo*. (E) Membrane poreuse chez *Populus fremontii*. (F). Membrane poreuse chez *Salix alba*. Tiré de Jansen et al. 2009.

III – RELATIONS STRUCTURE-FONCTION

Une grande part des études en hydraulique s'est intéressée aux déterminismes structuraux des grandes fonctions hydrauliques réalisées dans une plante que sont la conduction xylémienne, la capacitance, et la résistance à l'embolie. Ce type d'approche que l'on pourrait appeler fonctionnaliste cherche à comprendre comment la structure d'un système (la plante, la tige, le xylème), ses différents composants, et leurs interactions, détermine ses propriétés.

1. La conduction

Métriques de la conduction

La conduction traduit la capacité ou l'efficacité de transport de l'eau dans le xylème. Différentes métriques peuvent être utilisées pour quantifier et apprécier la conduction. La métrique la plus simple pour parler d'un mouvement d'eau au travers d'un objet –ici un segment de plante-, c'est le flux F (kg s^{-1}), qui traduit un volume d'eau déplacé par unité de temps. Cependant, un flux donné va dépendre de la force qui permet de mettre en mouvement cette eau, force qui dans notre cas varie en fonction de la plante, de l'espèce, et de l'environnement. Afin de comparer différents flux animés par différentes forces, on utilise la conductance k ($\text{kg MPa}^{-1} \text{s}^{-1}$), qui est le flux divisé par la différence de pression de part et d'autre du segment de tige. Plus précisément, la différence de pression est la différence de potentiel hydrique de part et d'autre du segment, et est la force motrice permettant tout déplacement d'eau dans la plante, tel que :

$$k = F/\Delta\Psi$$

La conductance est généralement mesurée à l'aide d'un débitmètre, permettant de mesurer le flux traversant le segment étudié. La force appliquée peut être induite par gravité (ici il s'agit d'une pression) ou à l'aide d'une pompe à vide, du moment que la pression/tension appliquée est connue. À noter que la conductance k est l'inverse de la résistance R . Pour un matériau homogène, la conductance d'un segment sera dépendante de sa longueur, tel que plus la longueur augmente plus la conductance diminue à cause des forces de frottement (cf. le potentiel matriciel).

La conductance permet donc d'apprécier la capacité de conduction d'un volume (ici généralement un cylindre) dont la longueur peut varier. Afin de comparer des segments de différentes longueurs, on utilise la conductivité k_h ($\text{kg m MPa}^{-1} \text{s}^{-1}$), qui est le flux divisé par le gradient de potentiel hydrique de part et d'autre du segment, tel que :

$$dP/dx = \Delta\Psi/L$$

où L est la longueur du segment. D'où :

$$k_h = \frac{F}{dP/dx} = \frac{F * L}{\Delta\Psi}$$

La conductivité permet ainsi de directement comparer des sections pour leur capacité de conduction, en s'affranchissant par exemple des différences de longueur des branches à comparer.

La conductivité d'une section sera proportionnelle à la surface de xylème conducteur. Afin de directement comparer des sections de segment de différentes surfaces, on utilise la conductivité spécifique k_s ($\text{kg m}^{-1} \text{MPa}^{-1} \text{s}^{-1}$), tel que :

$$k_s = k_h/A_x$$

où A_x est la surface de xylème. La conductivité spécifique traduit la capacité de conduction d'une surface xylème donnée, et est souvent appelée l'efficacité de conduction.

Déterminants anatomiques de la conduction dans le xylème

L'eau est avant tout transportée dans les vaisseaux, il est logique que la structure de ces derniers impacte directement la conduction. En effet, il est bien établi que le nombre et la dimension des vaisseaux sont un des premiers facteurs, tel qu'un plus grand nombre et/ou de plus gros vaisseaux augmente la conductivité d'une section (Zimmermann, 1983; Sperry, 2003; Sperry *et al.*, 2006, 2008; Chave *et al.*, 2009; Pittermann, 2010; Zanne *et al.*, 2010). Les conductivités des vaisseaux dans une section sont additives. Dans un cas théorique où tous les vaisseaux auraient les mêmes dimensions et donc la même conductivité, la conductivité totale serait directement proportionnelle au nombre de vaisseaux.

Un vaisseau peut être vu comme un capillaire. La conductance d'un capillaire est théoriquement décrite par la loi d'Hagen-Poiseuille. La loi d'Hagen-Poiseuille décrit l'écoulement laminaire d'un liquide visqueux dans un conduit cylindrique (Poiseuille, 1844), tel que :

$$k_{capillaire} = \frac{\pi r^4}{L * 8\eta}$$

où r est le rayon de la section du capillaire, L la longueur du capillaire, et η est la viscosité dynamique du liquide considéré. De cette formule, il en ressort de la conductance d'un capillaire, ainsi que d'un vaisseau, est fonction inverse de sa longueur, et fonction puissance 4 de son rayon (Fig. 12). Ce second point est important, car il souligne que de relativement faibles variations du rayon des vaisseaux ont de fortes implications en termes de conduction (Fig. 13). En effet, la taille des vaisseaux est un plus fort déterminant de la conductivité ou de la conductivité spécifique du xylème en comparaison du nombre ou de la densité de vaisseaux (c.-

à-d. le nombre de vaisseaux par unité de surface)(Zanne *et al.*, 2010). Et l'exemple célèbre de Martin Zimmermann : un vaisseau de 40 μm de diamètre est équivalent à 16 vaisseaux de 20 μm de diamètre en termes de conductivités, et de 256 vaisseaux de 10 μm de diamètre. La connaissance du nombre de vaisseaux et de leurs dimensions dans une section permet à partir de la loi d'Hagen-Poiseuille d'avoir une estimation théorique de la conductivité de la section, largement utilisée dans la littérature (Zanne *et al.*, 2010; Fortunel *et al.*, 2014). Cependant, un tel calcul ne permet pas d'estimer la conductance d'un segment lorsque l'on connaît sa longueur, puisqu'un segment implique d'autres résistances que celle uniquement liée au nombre et à la dimension des vaisseaux, tel que les ponctuations et les perforations.

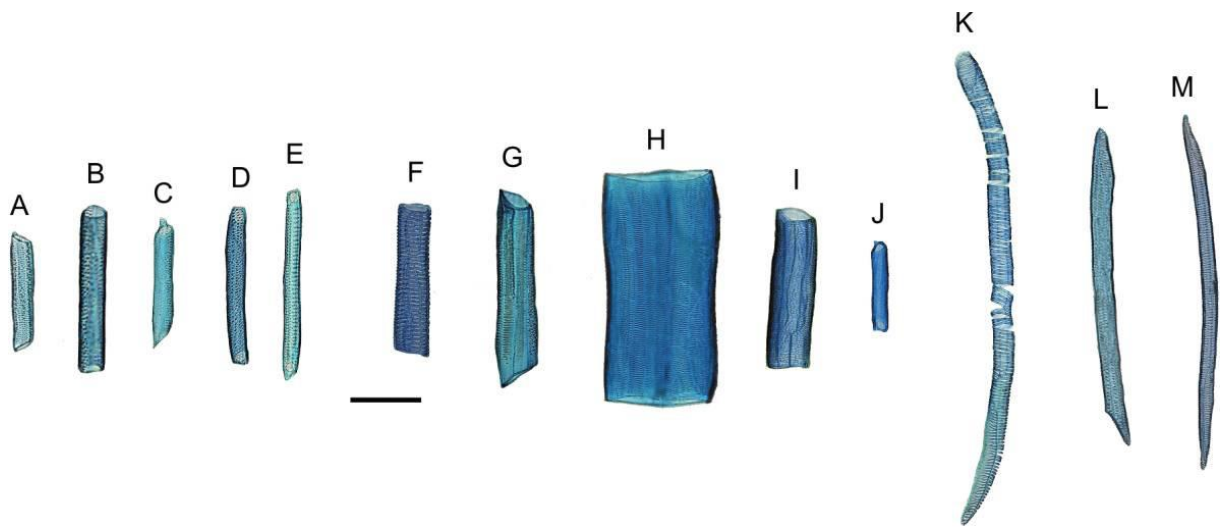


Fig. 12: Diversité de formes d'éléments de vaisseaux en observation longitudinales. Les différences de longueur et de diamètre déterminent les différences de conductivité en appliquant la loi d'Hagen-Poiseuille. Echelle = 200 μm . Tiré de (Trueba *et al.*, 2015).

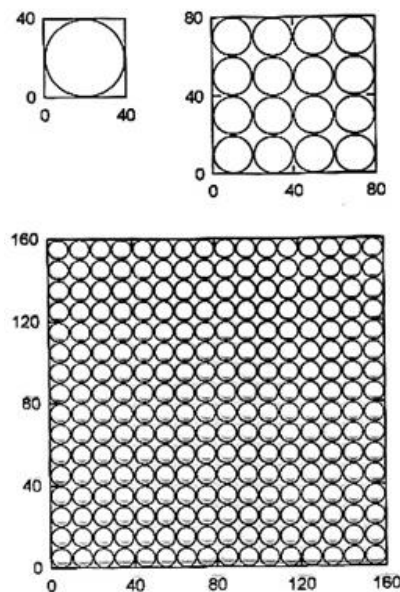


Fig. 13: Illustration de la loi d'Hagen-Poiseuille. Diviser par 2 le diamètre d'un vaisseau divise par 16 la conductivité de ce vaisseau. Diviser par 4 le diamètre d'un vaisseau divise par 256 la conductivité de ce vaisseau. Tiré de Tyree & Zimmermann 2002.

Les vaisseaux n'ont cependant pas une structure parfaitement cylindrique tout le long de la tige. Les vaisseaux sont formés de la succession d'éléments de vaisseaux, dont la jonction se fait par les perforations. Même si les perforations sont formées de vrais trous, elles induisent tout de même une certaine résistance hydraulique (Christman and Sperry, 2010). Surtout, les vaisseaux ont une longueur finie et sont cloisonnés de part et d'autre. La jonction, ou continuité hydraulique entre deux vaisseaux se fait par les ponctuations. Contrairement aux vaisseaux et aux perforations, les ponctuations sont constituées de membranes poreuses impliquant une forte résistance hydraulique. La conductivité d'une terminaison de vaisseau sera dépendante du nombre de ponctuation et de la conductivité moyenne d'une ponctuation, et plus largement de la surface de recouvrement entre deux vaisseaux communiquant (Wason *et al.*, 2017). Cette dernière sera elle-même fonction de la taille moyenne, de l'épaisseur, et de la porosité de la ponctuation. Chaque molécule d'eau doit passer au moins autant de fois au travers d'une membrane de ponctuation qu'il y a de terminaisons de vaisseaux, soit un très grand nombre. Certains travaux ont pu estimer que la part de la résistance totale d'un rameau équivaut à 50% (Sperry *et al.*, 2005; Choat *et al.*, 2008). La longueur des vaisseaux est donc un paramètre important pour limiter la résistance due aux terminaisons de vaisseaux (Sperry, 2003).

2. La capacitance

Mesure de la capacitance

La capacitance est la quantification de la capacité des plantes à mobiliser de l'eau stockée dans leurs tissus, notamment du xylème. Cette eau est transférée dans les vaisseaux afin de tamponner un stress hydrique, ou les fluctuations diurnes ou saisonnières de la disponibilité en eau et/ou de la demande évaporative (Meinzer *et al.*, 2008; Santiago *et al.*, 2016). Cette capacitance a d'abord été mise en évidence par les fluctuations diurnes et saisonnières du contenu en eau du bois (Lassoie, 1973; Goldstein *et al.*, 1998; Zweifel *et al.*, 2000). La capacitance C est définie comme le volume d'eau injecté dans le flux, extrait par unité de volume de xylème, et par unité de changement de potentiel hydrique, tel que :

$$C = \frac{\Delta M_{eau}}{V_{xylème} \Delta \Psi}$$

avec ΔM_{eau} la différence de masse d'eau dans le volume de xylème $V_{xylème}$ entre deux potentiels hydriques soustraies dans $\Delta \Psi$. La capacitance est généralement mesurée par le biais de courbes pression-volume. Cette courbe est obtenue à partir d'un seul et même échantillon qui est mis à déshydrater. Un point de cette courbe correspond à une mesure de potentiel hydrique tout de suite suivie de la mesure de sa masse. Avec le temps, la masse et le potentiel hydrique

diminuent, dû à la perte d'eau. La capacitance de l'échantillon correspond à la pente de cette courbe, divisée par le volume frais de l'échantillon.

Ces courbes pression-volume présentent généralement deux phases linéaires, traduisant une capacitance non constante avec le potentiel hydrique. Ce changement de phase correspond à la perte de turgescence des cellules de parenchyme. Passé ce point, la perte d'eau devient plus importante par unité de potentiel hydrique. Autrement dit la capacitance à pleine turgescence C_{ft} (pour *full turgor*) est plus faible que la capacitance à perte de turgescence C_{tl} (pour *turgor loss*).

Déterminants anatomiques de la capacitance

Le stockage de l'eau peut se faire au travers de trois mécanismes : la capillarité, l'élasticité, et l'embolie (Tyree and Yang, 1990). Dans le stockage capillaire, l'eau est stockée dans les espaces extra- et intercellulaires, et dans l'apoplasme. Dans le stockage capillaire, l'eau est généralement relâchée à des potentiels hydriques proches de 0 (Tyree and Yang, 1990). Dans le stockage élastique, l'eau est stockée dans l'ensemble des cellules vivantes (parenchymes du xylème, moelle, phloème, cambium, écorce) et dépend de l'élasticité de la paroi cellulaire, en lien avec l'état de turgescence ou de plasmolyse de la cellule. Dans le stockage élastique, l'eau est généralement relâchée à des potentiels hydriques négatifs, proches des points de perte de turgescence des cellules vivantes (Tyree and Yang, 1990). Dans le stockage par embolie, l'eau est relarguée dans le flux suite à une ou plusieurs embolies. Le relargage de l'eau en fonction du type de stockage peut être mis en relation avec les phases transcrites par la courbe pression-volume. La première phase de perte d'eau rapide en fonction du temps, mais faible en fonction du potentiel hydrique correspond certainement à l'eau de stockage capillaire et apoplasmique, sauf embolie (Tyree and Yang, 1990; Jupa *et al.*, 2016). La seconde phase de perte d'eau lente en fonction du temps, mais rapide en fonction du potentiel hydrique correspondrait au stockage élastique. Le déstockage de l'eau issue de l'embolie n'est généralement pas atteint lors de la mesure d'une courbe pression-volume. Cependant, une étude récente suggère que le rechargement des compartiments à stockage capillaire (notamment les fibres) est peu probable en condition de transpiration, remettant en partie en cause le rôle des compartiments capillaires dans la capacitance lors d'un stress hydrique (Knipfer *et al.*, 2017).

Il a plusieurs fois été montré que la capacitance est négativement corrélée à la densité du bois, dans la mesure où la densité du bois traduit en grande partie la part du volume non occupé par de la matière solide, et donc pouvant être occupé par de l'eau (McCulloh *et al.*, 2012, 2014; Richards *et al.*, 2014; Jupa *et al.*, 2016; Santiago *et al.*, 2018). En effet, la densité du bois

est elle-même principalement déterminée par les fractions de fibres, vaisseaux, et parenchymes, ainsi que le ratio entre épaisseur des parois et diamètre des lumières des cellules (Ziemińska *et al.*, 2013, 2015; Morris *et al.*, 2016). À ma connaissance, une seule étude s'est directement intéressée aux déterminants anatomiques, notamment du xylème, de la capacitance. Jupa *et al.* (2016; Fig. 14) ont montré au travers de cinq espèces tempérées que la capacitance est positivement corrélée au ratio entre tissus morts et tissus vivants ((vaisseaux + fibres) / parenchymes), à la surface totale de lumière de fibre, mais négativement corrélée à la proportion de parenchymes (axial et/ou radial). Les fractions de fibres ou de vaisseaux ne sont pas des déterminants de la capacitance dans cette étude de cas.

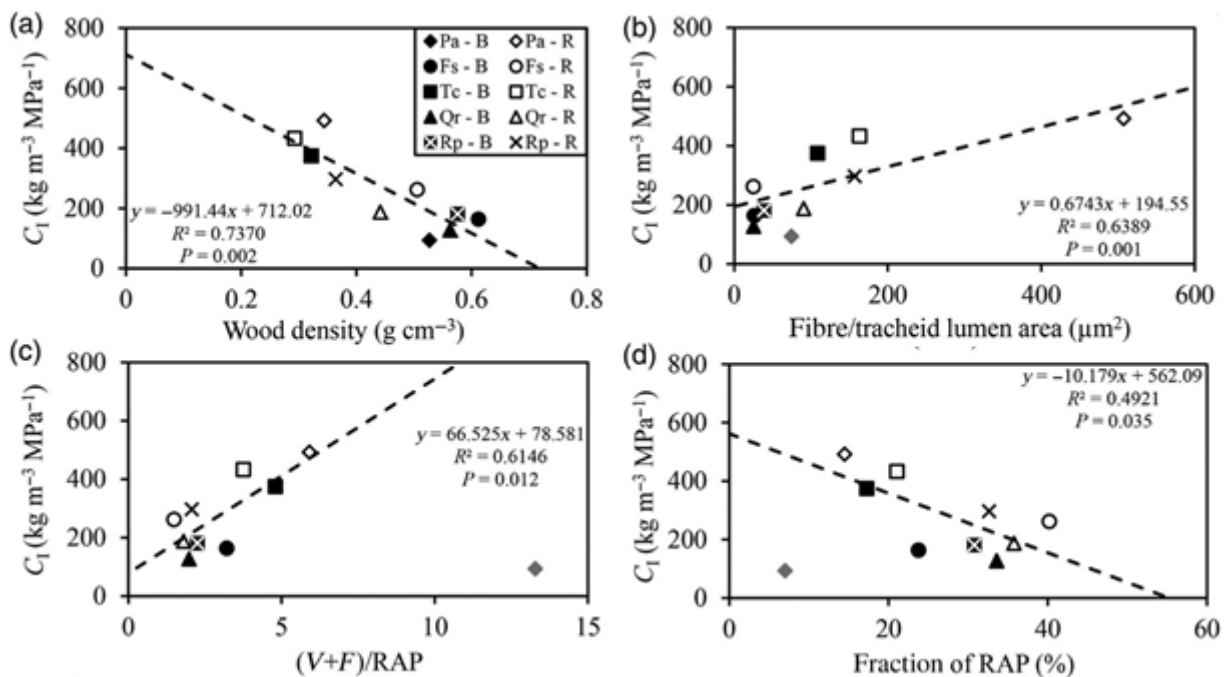


Fig. 14: Les déterminants anatomiques de la capacitance en cellules turgescentes chez 5 espèces d'arbre tempérés. (a) Capacitance en fonction de la densité du bois. (b) Capacitance en fonction du ratio surface de fibre sur surface de vaisseaux. (c) Capacitance en fonction du ratio surface vaisseau + fibre sur la surface de parenchyme (axial + radial). (d) Capacitance en fonction de la fraction de parenchyme (axial + radial). Tiré de Jupa *et al.* 2016.

3. La résistance à l'embolie

Mesure de la résistance à l'embolie

La résistance à l'embolie du xylème traduit la capacité des vaisseaux du xylème à endurer un potentiel hydrique faible, jusqu'à une limite inférieure, sans que cela ne conduise à l'apparition et/ou la propagation d'embolie, et donc la perte de conductance du xylème due à l'accumulation de vaisseaux embolisés. La résistance à l'embolie est généralement mesurée comme le potentiel hydrique P_x (MPa) du xylème conduisant à un pourcentage donné x % de perte de conductance par rapport à la conductance maximale du xylème. P_x est déterminé à partir d'une courbe de vulnérabilité, qui est la mesure du pourcentage de perte de conductance par rapport à la

conductance maximale de l'échantillon en fonction de la diminution du potentiel hydrique, soit une augmentation du stress hydrique *in situ*. Le choix du pourcentage seuil choisi x % pourrait apparaître comme arbitraire. Cependant, une courbe de vulnérabilité correctement mesurée est une courbe sigmoïde, en « s ». Différents points sont reconnaissables sur une telle courbe : le point d'inflexion avec la pente la plus forte, correspondant au point de symétrie de la courbe, et qui représente 50 % de perte de conductance ; ainsi que deux points où les courbures sont les plus fortes, généralement 12 et 88 % de perte de conductance respectivement. Ainsi, P₁₂, P₅₀, et P₈₈, sont les descripteurs les plus utilisés pour les approches comparatives en hydraulique des plantes. Physiologiquement parlant, P₁₂ correspond au point où le taux d'accumulation de vaisseaux embolisés devient catastrophique. Il semblerait aussi que le P₅₀ corresponde au point de non-retour atteint par les gymnospermes en termes de capacité de récupération (Brodrribb and Cochard, 2009). Ce point semble être autour du P₈₈ pour les angiospermes (Urli *et al.*, 2013). Un autre descripteur de la courbe de vulnérabilité est la pente (*slope*) au point d'inflexion, au P₅₀, exprimée en % de perte de conductance MPa⁻¹ (Pammenter and Van der Willigen, 1998). Cependant ce descripteur est relativement moins utilisé que le P₅₀.

La mesure de la résistance à l'embolie par le P₅₀ est délicate, car sujette à de nombreux artefacts. La méthodologie autour de cette mesure constitue une controverse en soi dans la discipline. Au moins sept grandes méthodes existent aujourd'hui pour une telle mesure, résumées ici par ordre chronologique de publication :

- La méthode acoustique fut l'une des premières méthodes de détection de la cavitation, et la première méthode de quantification (Milburn, 1973). La cavitation entraîne une forte libération d'énergie, en partie transformée en émission acoustique, du domaine audible aux ultrasons. En utilisant un compteur à ultrason, il est possible de quantifier les événements de cavitations dans le temps ou en fonction du potentiel hydrique (Milburn, 1973; Tyree and Dixon, 1983). Cependant cette méthode est très peu utilisable sur les angiospermes à bois hétéroxylé puisque les fibres peuvent aussi être sujettes à cavitation, ce qui biaise la construction d'une courbe de vulnérabilité.
- La méthode par déshydratation et mesure de flux (Sperry *et al.*, 1988) est certainement la plus classique et celle induisant l'embolie de façon la plus naturelle. La méthode consiste à laisser déshydrater une branche excisée, un plant en pot ou une plante *in situ*, puis de mesurer dans le même temps son potentiel hydrique et sa conductivité avec un débitmètre ou par gravité. Autant de branches ou de plants que nécessaire doivent être mesurés afin de couvrir un gradient de dessèchement, et donc de potentiels hydriques. Autant d'échantillons que de points pour construire la courbe de vulnérabilité sont

nécessaires. Pour chaque échantillon, la conductivité native –théoriquement sans embolie- maximale est mesurée pour calculer le pourcentage de perte de conductivité. L'avantage de cette méthode est qu'elle est basée sur une mesure de flux et un dessèchement naturel des échantillons. L'inconvénient de cette méthode est qu'elle est chronophage à mettre en place et qu'elle nécessite beaucoup de matériel biologique pour obtenir une courbe.

- La méthode par injection ou pressurisation d'air (Cochard *et al.*, 1992b) est proche de la précédente, mais consiste non plus à déshydrater les échantillons par voie naturelle, mais par injection d'air. Le gradient de déshydratation entre les échantillons est produit en injectant de l'air à différentes pressions dans les différents échantillons. Une fois l'échantillon déshydraté, sa conductivité est mesurée avec un débitmètre ou par gravité. L'avantage de cette méthode est qu'elle est plus rapide que la précédente tout en restant basée sur la mesure de flux. L'inconvénient est qu'elle est basée sur un dessèchement artificiel de l'échantillon et qu'elle nécessite autant de matériel biologique que la précédente.

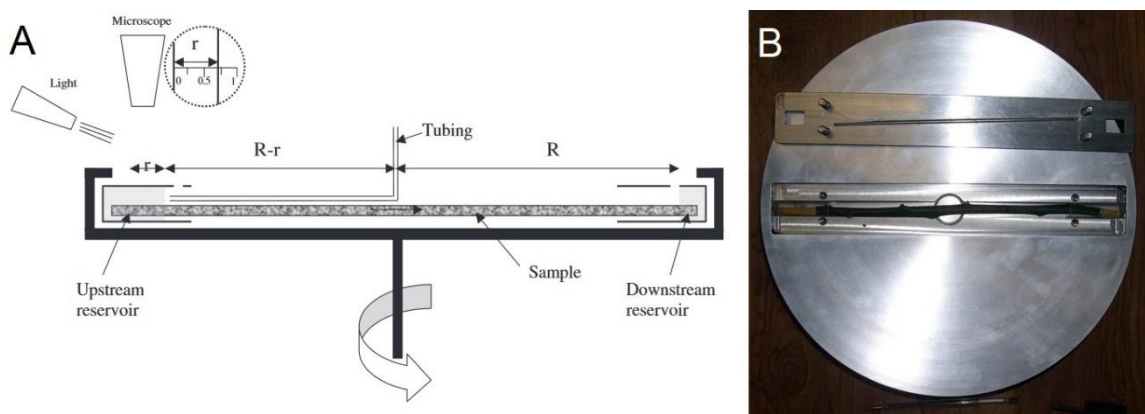


Fig. 15: La méthode par centrifugation. (A) Le réservoir en amont (upstream) est plus rempli que le réservoir en aval (downstream), permettant de créer un flux au travers de la branche (sample) du réservoir en amont vers le réservoir en aval avec la force centrifuge. L'observation au microscope, durant la centrifugation, du réservoir en amont se vidant, permet d'estimer la conductivité en temps réel. Tiré de Cochard *et al.* 2002a. (B) Photo d'un Cavitron de 28 cm de diamètre (photo : H. Cochard®).

- La méthode par centrifugation consiste à induire au sein de l'échantillon une tension par centrifugation. Le pourcentage de perte de conductance est mesuré par la suite une fois la déshydratation induite (Alder *et al.*, 1997). Cependant, le développement de cette méthode permet de mesurer la conductivité *in situ*, en temps réel, et donc directement en fonction de la tension appliquée (Cochard, 2002a; Fig. 15). Cette méthode fut un véritable bond en avant, car elle permet de générer une courbe de vulnérabilité à partir d'un seul échantillon. Cette méthode est donc beaucoup plus rapide et permet de faire

d'importantes économies de matériel végétal. L'inconvénient de cette méthode est qu'elle nécessite du matériel spécialisé généralement coûteux.

- La méthode par imagerie consiste à observer le fonctionnement du xylème à haute résolution et en temps réel. Par ces techniques, il est possible de différencier les vaisseaux fonctionnels remplis d'eau des vaisseaux embolisés remplis d'air. Un plant est observé en cours de déshydratation, et la perte de conductivité est calculée théoriquement à partir de la loi d'Hagen-Poiseuille et de la perte connue de fonctionnalité des vaisseaux dans le temps et dans l'espace. Deux méthodes d'imagerie sont aujourd'hui utilisées : l'imagerie par résonance magnétique (Holbrook *et al.*, 2001) et la microtomographie aux rayons X (MicroCT ; Fig. 16 ; Choat *et al.*, 2016), sachant que la MicroCT permet une résolution spatiale supérieure. L'avantage de cette méthode est qu'elle permet des mesures *in planta*, elle est donc non invasive. De plus elle permet de spatialiser les événements d'embolie. L'inconvénient de cette méthode est qu'il n'est possible de travailler que sur des plants en pot. De plus, la technologie reste relativement peu accessible et très coûteuse.

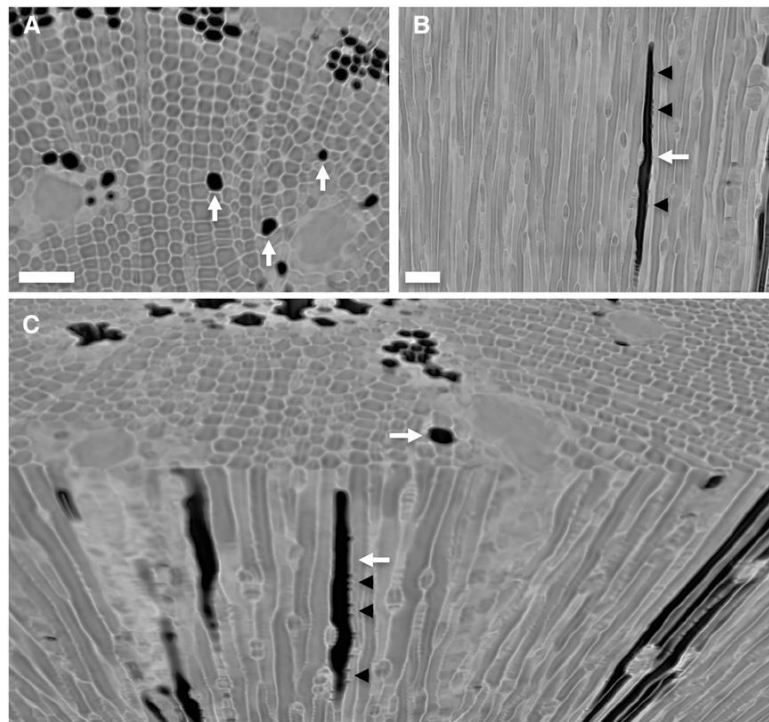


Fig. 16: Observation en microtomographie aux rayons X de *Pinus pinaster*. (A) En coupe transversale. (B) En coupe longitudinale tangentielle. (C) A la fois dans le plan transversal et dans le plan longitudinal tangentielle. Les flèches blanches indiquent les trachéides embolisés. Tiré de Choat *et al.* 2016.

- La méthode pneumatique (Pereira *et al.*, 2016; Fig. 17) consiste à construire une courbe de vulnérabilité en se basant sur la mesure de la décharge d'air (en volume) dû à la propagation d'embolie dans une branche. Cette méthode se base sur l'idée que le volume

de vaisseau occupé par l'eau dans un échantillon est équivalent au volume d'air déchargé à cause de la propagation d'embolie. En utilisant le cumul d'air déchargé en fonction de la diminution du potentiel hydrique de l'échantillon, il est possible de construire une courbe de vulnérabilité à partir d'un seul échantillon. L'avantage de cette méthode est qu'elle est accessible, peu coûteuse, et l'une des plus rapides connue à ce jour pour générer une courbe de vulnérabilité puisqu'un seul échantillon suffit. L'inconvénient de cette méthode est qu'elle n'est plus basée sur des mesures de flux, mais de déchargement d'air. De plus, des études de confirmations sur la correspondance des mesures entre cette méthode et des méthodes plus conventionnelles, notamment pour des résistances à l'embolie inférieures à -5 MPa, font encore défaut.

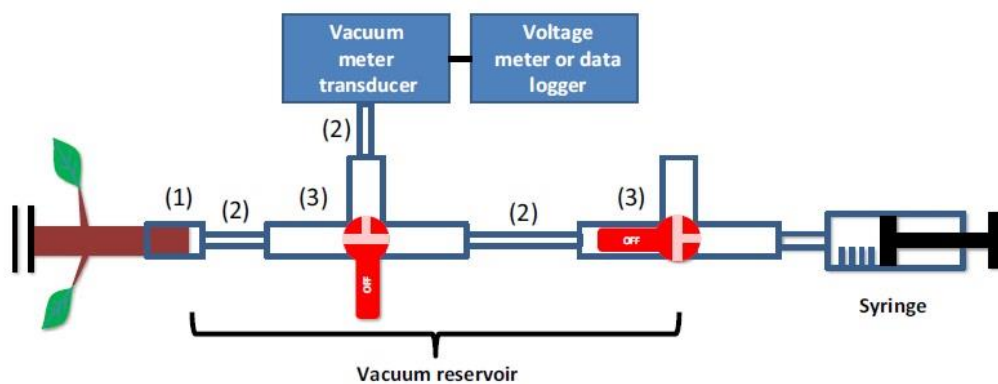


Fig. 17: La méthode pneumatique. La branche est connectée à un tube en silicone (1), lui-même à un tube PVC (2) et lui-même à un robinet d'arrêt à trois entrées (3). Le robinet d'arrêt est connecté en dérivation à un transducteur de vide, lui-même connecté à un voltmètre ou un enregistreur de données, qui permet de détecter le signal de sorti. Le vide est créé avec une seringue connectée au système branche + tube. Tiré de Pereira et al. 2016.

- La méthode par visualisation optique (Brodrribb *et al.*, 2016*b,a*; Fig. 18) se base sur le fait que la lumière transmise ou réfléctée, selon les cas, par un vaisseau d'un échantillon ne sera pas la même entre un vaisseau plein d'eau et un vaisseau plein d'air. Une partie du xylème de l'échantillon est photographié en haute résolution et à fréquence soutenue (toutes les 2 à 4 minutes) pendant le dessèchement naturel de l'échantillon. Le changement d'état d'un vaisseau, de fonctionnel à embolisé, de plein d'eau à plein d'air, est capturé entre deux photographies successives. L'évènement d'embolie est détecté et quantifié grâce au changement de couleur de pixels pour une position donnée, par différence d'image. La courbe de vulnérabilité est construite sur la base de l'accumulation de pixels « embolisés » au cours de la diminution du potentiel hydrique de l'échantillon. L'avantage de cette méthode est qu'elle est accessible et peu coûteuse. Elle est facilement adaptable à la mesure des feuilles, des tiges, et des racines (Brodrribb *et al.*, 2017). Elle permet aussi de spatialiser les évènements d'embolie. L'inconvénient

de cette méthode est qu'elle n'est pas basée sur une mesure de flux, mais la quantification de pixels. De plus, elle est basée sur le dessèchement naturel de l'échantillon, ce qui la rend plus longue que les méthodes par centrifugation ou pneumatique.

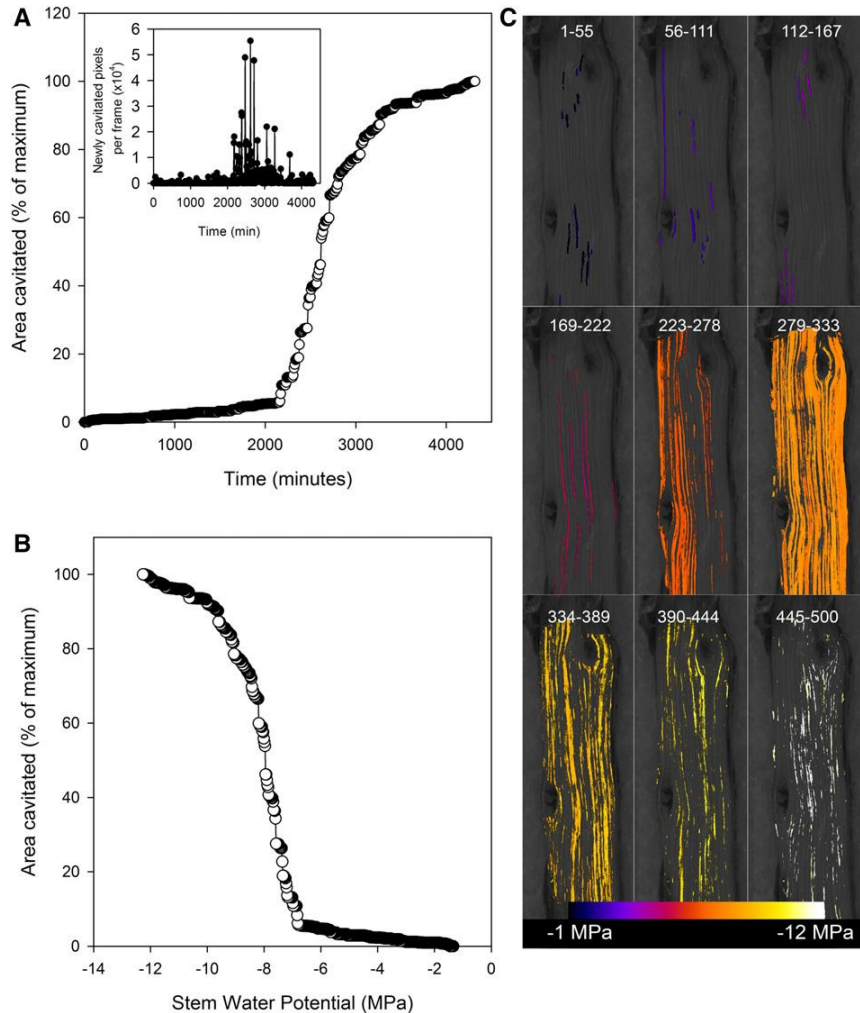


Fig. 18: La méthode optique permet de mesurer (A) la quantité de pixels traduisant une embolie en fonction du temps. La mesure du potentiel hydrique de l'échantillon au cours de l'expérimentation permet de convertir le temps en potentiel hydrique, et (B) de tracer la courbe de vulnérabilité de l'évolution du taux de pixels embolisés en fonction du potentiel hydrique. (C) La méthode optique permet aussi de connaître la propagation dans l'espace et dans le temps de l'embolie. Tiré de Brodribb et al. 2017.

Déterminants anatomiques de la résistance à l'embolie

Au cours de l'histoire de la discipline, plusieurs hypothèses ont été émises et testées concernant les déterminants anatomiques de la résistance à l'embolie.

Parmi ces hypothèses, certainement la plus célèbre et la plus ancienne est celle évoquant le rôle du diamètre des vaisseaux du xylème, et que l'on appellera l'hypothèse de « la taille des vaisseaux ». Cette hypothèse a certainement émergé de l'association de deux idées. La première est qu'il est maintenant et depuis longtemps reconnu que le diamètre des vaisseaux contrôle

directement la conduction de l'eau, ainsi que l'efficacité de conduction du xylème, c.-à-d. la conductivité spécifique du xylème k_s (Zimmermann, 1983; Sperry *et al.*, 2008). Deuxièmement, il a par la suite été suggéré qu'il devait y avoir un compromis évolutif entre la sûreté du xylème (mesurée par la résistance à l'embolie) et l'efficacité hydraulique du xylème (mesurée par sa conductivité hydraulique spécifique), généralement appelé le *compromis* sûreté-efficacité (*safety-efficiency trade-off*), sinon toutes les plantes ligneuses maximiseraient à la fois l'efficacité et la sûreté (Sperry, 2003; Baas *et al.*, 2004). Cependant, une étude récente a montré que la corrélation entre la sûreté et l'efficacité du xylème est faible lorsque l'on considère une grande diversité d'angiospermes, tel qu'aucune espèce ne présente conjointement une efficacité et une sécurité élevée, ce qui appuie l'idée d'un tel compromis (Gleason *et al.*, 2016). La plupart des angiospermes possèdent finalement un xylème à la fois peu efficient et peu 'sûr', en comparaison de la gamme globale de k_s et P_{50} respectivement. Une relation entre résistance à l'embolie et diamètre des vaisseaux a cependant pu être montrée dans certains cas (Sperry *et al.*, 2006; Hacke *et al.*, 2016), mais semble dépendre de la diversité phylogénétique étudiée ou du clade considéré (famille, ordre)(Wheeler *et al.*, 2005; Lens *et al.*, 2011; Scholz *et al.*, 2013; Lobo *et al.*, 2018; Jacobsen *et al.*, 2019).

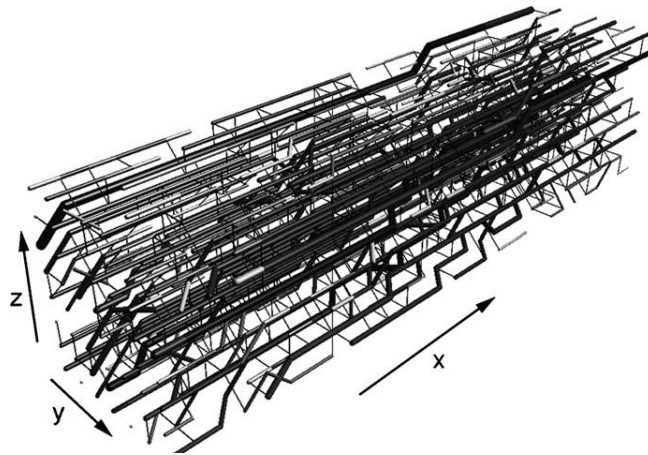


Fig. 19: Représentation graphique de la modélisation d'un réseau de vaisseaux. Cette modélisation permet de tester théoriquement l'effet de la connectivité de ce réseau sur la conductivité et la résistance à l'embolie. Tiré de Loepfe *et al.* 2007.

L'hypothèse du « réseau de vaisseaux » suggère que la topologie en trois dimensions des vaisseaux, le degré de regroupement des vaisseaux, ou la fréquence de connexion entre les vaisseaux ont une signification fonctionnelle hydraulique, notamment concernant la résistance à l'embolie (Fig. 19). Carlquist (1984) a été le premier à postuler que les espèces xériques, avec des vaisseaux intégrés dans une matrice de xylème non conductrice, sans trachéide, devraient avoir des vaisseaux groupés. Le « regroupement des vaisseaux est vu comme une manière d'apporter des voies de conduction alternative » en cas d'embolie. L'étude de Lens *et al.* (2011)

supporte l'hypothèse du réseau de vaisseaux pour le genre *Acer*, mais pas l'étude de Scholz *et al.* (2013) pour le genre *Prunus*, alors que les deux genres sont à matrice de xylème non conductrice en accord avec l'hypothèse originale de Carlquist (1984). Sur la base d'une approche théorique Loepfe *et al.* (2007) ainsi que Martínez-Vilalta *et al.* (2012) ont plutôt suggéré qu'un fort groupement des vaisseaux serait lié à une faible sûreté hydraulique, en augmentant la probabilité de propagation de l'embolie. Cette hypothèse du réseau de vaisseaux reste relativement peu étudiée.

L'hypothèse de « l'ultrastructure de la ponctuation » est certainement l'hypothèse la plus acceptée, mais avec encore relativement peu de démonstrations expérimentales (Lens *et al.*, 2011; Scholz *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2016b). Le transport de l'eau entre deux vaisseaux adjacents est permis grâce aux ponctuations (Choat *et al.*, 2008). La membrane de la ponctuation est principalement faite de microfibrilles de cellulose. Les membranes sont perméables à l'eau et représentent l'une des principales résistances hydrauliques dans la résistance totale de la plante entre le sol et l'atmosphère (Sperry *et al.*, 2006). La membrane des ponctuations contrôle aussi l'entrée de tout ménisque gaz-eau depuis un vaisseau embolisé vers un vaisseau fonctionnel adjacent, selon le mécanisme du germe d'air (Fig. 20; Zimmermann, 1983; Tyree and Sperry, 1989; Choat *et al.*, 2008; Delzon *et al.*, 2010; Mayr *et al.*, 2014). Le facteur clé concernant l'ultrastructure de la ponctuation est la porosité, où le diamètre des pores détermine directement la force dirigeant le mouvement d'une interface gaz-liquide selon l'équation de Young-Laplace (Schenk *et al.*, 2015), tel que plus les pores seront étroits, plus la force nécessaire devra être importante. Les autres facteurs déterminants pour le contrôle de la propagation de l'air sont liés à la résistance à l'étirement et à la déflexion de la membrane, tel que l'étirement agrandit les pores et augmente la porosité (Tixier *et al.*, 2014). Selon ce mécanisme, l'épaisseur de la membrane, la surface moyenne d'une membrane, le diamètre de l'aperture de la ponctuation, et la profondeur de la chambre de la ponctuation, sont des déterminants clés de la résistance mécanique de la membrane, sur la base de sa géométrie. Quantifier la porosité de la membrane afin d'étudier le lien avec la résistance à l'embolie reste difficile puisque l'observation en microscopie électronique est liée à d'importants artefacts (Jansen *et al.*, 2009, 2018; Zhang *et al.*, 2017), résultants à très peu de connaissances sur ce point. Aujourd'hui, parmi l'ensemble des traits anatomiques mesurables, y compris les paramètres de l'ultrastructure des ponctuations, le meilleur prédicteur de la résistance à l'embolie est l'épaisseur de la membrane (Lens *et al.*, 2011; Scholz *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2016b; Fig. 21).

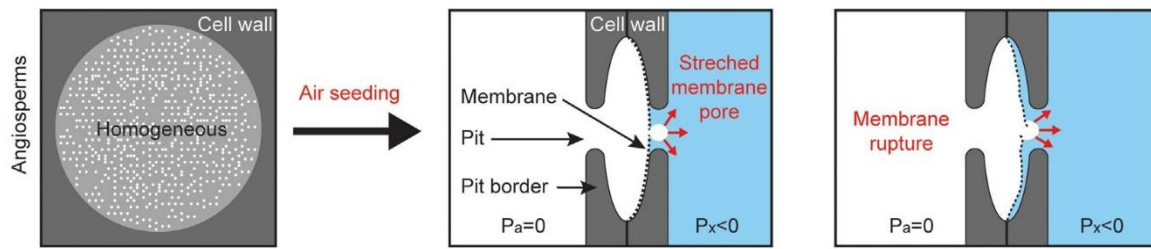


Fig. 20: Illustration du mécanisme du germe d'air. La différence de pression entre un vaisseau embolisé ($P = 0$) et un vaisseau non-embolisé fonctionnel ($P < 0$) affecte la membrane, qui est étirée vers le vaisseau fonctionnel. Si la tension est trop forte, une bulle d'air traverse la membrane et crée une embolie dans le vaisseau initialement fonctionnel, dont la pression deviendra celle de la pression atmosphérique. L'étirement (*stretching*) de la membrane affectant la taille des pores, ou la rupture de celle-ci sont des mécanismes suspectés comme augmentant le risque du passage d'une bulle d'air. Tiré de Venturas et al. 2017.

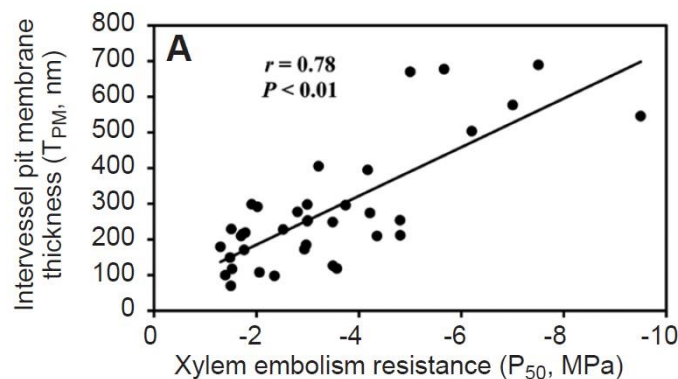


Fig. 21 : Relation entre l'épaisseur de la membrane de la ponctuation et la résistance à l'embolie du xylème pour 35 espèces tempérées et méditerranéennes. Tiré de Li et al. 2016b.

L'hypothèse de la « ponctuation rare » est certainement l'hypothèse la moins corroborée. Elle suggère que la vulnérabilité à l'embolie d'un vaisseau dépend plus de la quantité de ponctuations sur la paroi intervasculaire, plutôt que la qualité des ponctuations, c.-à-d. l'ultrastructure de la ponctuation (Wheeler *et al.*, 2005; Christman *et al.*, 2009). L'hypothèse de la ponctuation rare est basée sur un raisonnement probabiliste, tel que le nombre de ponctuations déterminerait la probabilité qu'un pore de la membrane, rare, mais disproportionnellement large, déclenche la propagation d'une embolie. Cependant, chercher un pore rare disproportionnellement plus gros au sein d'une membrane et parmi le nombre incroyable de membranes contenu dans un volume de xylème reste très difficile, rendant le test de cette hypothèse dans des études dédiées très compliqué (Wheeler *et al.*, 2005; Christman *et al.*, 2009, 2012).

Une dernière hypothèse très récente est liée à la composition chimique de la sève et des parois cellulaires. Jansen and Schenk (2015) et Schenk *et al.* (2015, 2017) ont récemment introduit l'idée que les tensioactifs (c.-à-d. les composés contrôlant la tension de surface à l'interface de deux phases) contrôleraient la taille et la stabilisation des nanobulles dissoutes dans l'eau due à l'état métastable de l'eau du xylème. Le risque d'embolie par coalescence des

nanobulles serait ainsi réduit. Les lipides amphiphiliques seraient le meilleur candidat pour de tels tensioactifs, et ont déjà été identifiés sur la paroi des vaisseaux et sur les membranes des punctuations (Schenk *et al.*, 2018; Fig. 21). Cependant, le lien entre diversité et quantité de tensioactifs dans la sève et la résistance à la sécheresse est un nouveau champ de recherche qui s'ouvre à peine. Dans le même ordre d'idées, un certain contrôle chimique de la résistance à l'embolie a déjà été démontré, tel que le retrait du calcium fixé sur les parois des vaisseaux par traitement au phosphate de sodium diminue la résistance à l'embolie (Herbette and Cochard, 2010). Une des hypothèses sur le mécanisme expliquant ce phénomène serait le rôle du calcium dans les propriétés d'étirement de la membrane de la punctuation. En effet, le calcium est connu pour être impliqué dans les liens intermoléculaires des chaînes de pectines, tel que les ponts de calcium influencent la rigidité de la paroi cellulaire (Herbette and Cochard, 2010).

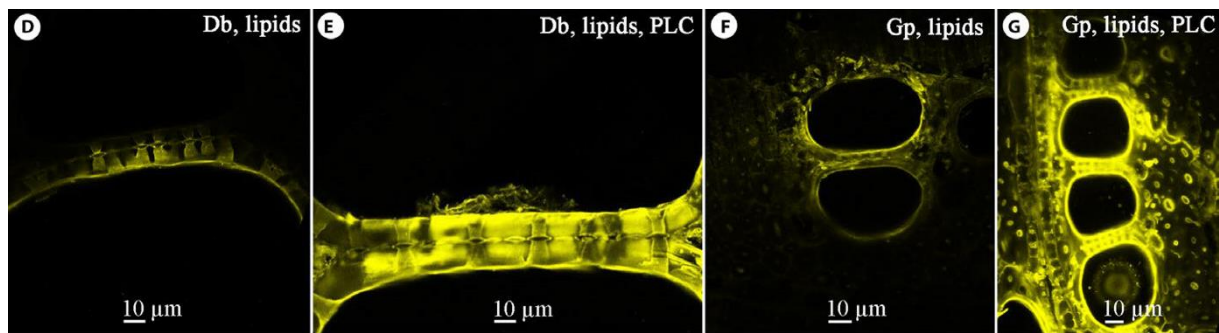


Fig. 22: Observation de lipides par fluorescence sur la paroi de vaisseaux. Db : *Disdictis buccinatoria* ; Gp : *Geijera parviflora*. Tiré de Schenk et al. 2018.

IV – FONCTIONNEMENT HYDRAULIQUE DE LA FEUILLE

1. Pourquoi la feuille représente un enjeu particulier du point de vue hydraulique ?

Ces 20 dernières ont vu apparaître et se développer un fort engouement pour le fonctionnement hydraulique de la feuille, faisant même émerger l'hydraulique de la feuille comme une discipline à part entière avec des chercheurs spécialisés (Sack and Holbrook, 2006; Sack and Scoffoni, 2013; Sack *et al.*, 2015; Scoffoni *et al.*, 2017c; Buckley, 2019). Cet engouement peut s'expliquer du fait que la feuille représente un enjeu particulier pour le fonctionnement de la plante, notamment du point de vue hydraulique.

Premièrement, la feuille est avant tout connue pour être le lieu d'une des fonctions les plus déterminantes et des plus étudiées, la photosynthèse (Adams and Terashima, 2018). Le CO₂ de l'atmosphère est absorbé par les stomates, avant d'être transféré dans les chloroplastes pour la synthèse des sucres. Le taux d'absorption du CO₂ par les stomates influence la productivité de la plante. Or, l'ouverture des stomates est contrôlée par la transpiration, et donc par extension par la fonction hydraulique. De ce fait, la productivité d'une plante par l'assimilation photosynthétique est intimement liée à la transpiration et à la fonction hydraulique (Brodribb, 2009). Le corolaire de cela est que le système hydraulique pose une forte limite physique à la productivité et à la survie de la plante (Brodribb, 2009).

Deuxièmement, les stomates, pouvant être vus comme un médiateur des fonctions photosynthétiques et hydrauliques, ne sont présents qu'au niveau des feuilles. Les stomates sont soumis à une forte variabilité structurale et fonctionnelle. Comprendre les mécanismes de régulation stomatique est un enjeu de recherche à lui tout seul, que cela soit au niveau des mécanismes moléculaires contrôlant l'ouverture des stomates (p. ex. l'acide abscissique ; Brodribb and McAdam, 2017), de ces effets sur le statut hydrique de la plante entière (Buckley, 2019), ou de son importance en tant que mécanisme de résistance à la sécheresse à part entière (Martin-StPaul *et al.*, 2017).

Troisièmement, les feuilles sont généralement disposées sur les extrémités distales d'une plante, c.-à-d. en bouts de branches au niveau des pousses feuillées. Dans le continuum sol-plante-atmosphère, les feuilles sont donc disposées sur les parties les plus sommitales de la plante, à l'interface plante-atmosphère. De ce fait, les feuilles expérimentent les potentiels hydriques les plus faibles au sein de la plante, et donc les plus stressants, tout en étant en contact avec l'atmosphère qui est asséchante. Sous l'hypothèse d'une résistance à l'embolie du xylème homogène entre les racines, les branches et les nervures de feuilles, le risque d'embolie est le plus élevé au niveau des feuilles. L'enjeu de comprendre les mécanismes de résistance à la sécheresse qui s'expriment à l'échelle des feuilles en particulier est donc important.

2. Anatomie de la feuille

D'un point de vue morphologique, on distingue au sein de la feuille différentes parties telles que les stipules, le pétiole et le limbe. Le pétiole, qui permet l'attache de la feuille à la tige, se connecte à un réseau de nervures enchâssé dans le limbe. Ce réseau, qui peut se définir par sa topologie (position relative et raccordement des différentes nervures) et sa géométrie (longueur, angle des nervures) se décrit généralement en ordonnant les nervures en fonction de leurs classes de diamètre (p. ex, nervures primaires, secondaires...). Le pétiole et les nervures présentent une certaine continuité morphologique (fondamentalement des cylindres) et anatomique, et sont principalement dévolus à la conduction et au soutien mécanique de la feuille. Lorsqu'une feuille est composée, la nervure principale est appelée rachis et le limbe se décompose en folioles distinctes. La grande diversité interspécifique et la plasticité phénotypique (c.-à-d. variabilité intraspécifique) des réseaux de nervures révèlent sans aucun doute une pression de sélection forte sur ce trait (Roth-Nebelsick *et al.*, 2001; Sack and Scoffoni, 2013).

D'un point de vue anatomique, le pétiole et les nervures présentent une anatomie proche de celle d'une tige, avec une moelle (même si cela n'est pas systématique) et des faisceaux fibrovasculaires, eux-mêmes constitués de xylème (généralement en position adaxiale) et de phloème (généralement en position abaxiale). Une nervure terminale est généralement équivalente à un faisceau. Pour les nervures, les faisceaux sont généralement entourés d'une gaine (*bundle sheath*). Cette gaine représente la jonction entre la nervure et le limbe. En coupe transversale, le limbe présente une forte asymétrie. La partie adaxiale est principalement composée d'un parenchyme palissadique, avec des cellules à fort contenu chloroplastique, où a lieu la photosynthèse. La partie abaxiale est principalement composée d'un parenchyme lacuneux, présentant des volumes principalement occupés par une phase gazeuse, et qui est le lieu des échanges gazeux au niveau cellulaire. L'ensemble formé par les parenchymes palissadiques et lacuneux est le mésophylle. Le mésophylle est délimité sur les deux faces adaxiale et abaxiale par un épiderme, puis une cuticule cireuse en contact avec l'atmosphère limitant les pertes d'eau. Les stomates sont insérés au niveau de l'épiderme, généralement uniquement sur la face abaxiale. Un stomate est constitué de deux cellules de gardes, dont les mouvements par pression de turgescence contrôlent la taille de l'ostiole. L'ostiole est l'ouverture formée par les stomates permettant les mouvements de gaz entre l'atmosphère et le parenchyme lacuneux.

3. Les voies de circulation de l'eau dans la feuille

D'un point de vue hydraulique, la feuille peut être décomposée en deux compartiments (Buckley *et al.*, 2015) : le compartiment xylémien et le compartiment extraxylémien. Le compartiment xylémien est fait de la continuité entre le pétiole et les nervures. Le transport xylémien est de nature apoplasmique, les vaisseaux du xylème étant des cellules mortes vidées de leurs contenus. Le passage du compartiment xylémien au compartiment extraxylémien se fait via la gaine, que l'on considère comme faisant partie du compartiment extraxylémien. À partir de la gaine, la circulation de l'eau se fait par voie apoplasmique ou symplasmique, jusqu'à la chambre sous-stomatique où elle passe en phase gazeuse. La conductance totale d'une feuille est structurée par un ensemble de résistance en série tel que :

$$R_{\text{feuille}} = R_{\text{xylème}} + R_{\text{gaine}} + R_{\text{mésophylle}} + R_{\text{stomates}} + R_{\text{couche limite}}$$

avec R la résistance hydraulique, pour le xylème de l'ensemble pétiole et nervures, la gaine, le mésophylle, les stomates, et la couche limite, respectivement. La couche limite est la couche d'air stationnaire au contact de la feuille.

La part de la résistance hydraulique de la feuille dans la résistance totale de la plante représente de 30 à 50% (Sack and Holbrook, 2006).

4. La conductance foliaire

Une feuille possède une conductance k , qui est le flux la traversant depuis le pétiole jusqu'au site de transpiration, et qui est contrôlée par la différence de potentiel entre le pétiole et le site de transpiration (Sack and Holbrook, 2006). La conductance foliaire K_{leaf} ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$) est généralement exprimée par unité de surface foliaire et sa mesure intègre donc à la fois les compartiments xylémien et extraxylémien.

5. Les stomates

Les stomates ont deux grandes fonctions : contrôler la transpiration, permettant de réguler le statut hydrique de la plante et la température des feuilles, et contrôler l'entrée de CO_2 atmosphérique pour l'assimilation photosynthétique. Nous nous concentrons ici sur la régulation de la transpiration. La fermeture des stomates permet d'éviter à la fois que la demande évaporative au niveau des feuilles n'excède la capacité d'alimentation en eau en amont du système, et que donc le potentiel hydrique de la feuille et de la plante ne diminue trop fortement, ce qui induirait de l'embolie (Martin-StPaul *et al.*, 2017).

Lorsque les stomates sont ouverts, la majorité de l'eau évaporée au niveau des feuilles constituant le flux sortant, passe par l'ostiole des stomates. Une petite partie de l'eau évaporée

peut passer par la cuticule, en fonction des propriétés chimiques de cette dernière, en fonction des espèces (Duursma *et al.*, 2019). L'évaporation peut être mesurée comme la densité de flux évaporatif E ($\text{kg s}^{-1} \text{m}^{-2}$), tel que :

$$E = F/A_L$$

avec F (kg s^{-1}) le flux évaporé, théoriquement équivalent au flux entrant (p. ex. au niveau du pétiole de la feuille considérée) en l'absence d'effets de capacitance. A_L est la surface de la feuille considérée. Cependant, l'évaporation E d'une feuille contrôlée par les stomates dépendra de la demande évaporative de l'atmosphère. Afin de comparer différentes feuilles ou différentes espèces entre elles pour l'efficacité de conduction des stomates, il est essentiel de standardiser par cette demande évaporative. La conductance stomatique g_s ($\text{kg s}^{-1} \text{m}^{-2}$) est le rapport entre l'évaporation E et cette demande évaporative, quantifiée comme le déficit de vapeur pression VPD (*vapor pressure deficit*), tel que :

$$g_s = E/VPD$$

et tel que :

$$VPD = \left(1 - \frac{RH}{100}\right) * \left(\frac{VP}{AP}\right)$$

avec RH l'humidité relative, VP la pression vapeur saturante de l'air (kPa, qui est fonction de la température) et AP la pression atmosphérique (kPa).

Le fonctionnement hydraulique foliaire est théoriquement lié au fonctionnement hydraulique de la plante entière, tel que selon tout principe thermodynamique le flux entrant dans le système doit être équivalent au flux sortant, en l'absence théorique de capacitance, tel que selon la loi de Darcy (Whitehead *et al.*, 1984) :

$$E_L = g_s * A_L * VPD = k_s * A_S * (\Psi_s - \Psi_L) = J_{\text{plante}}$$

Avec E_L l'évaporation foliaire totale, g_s la conductance stomatique, A_L la surface foliaire totale, k_s la conductivité spécifique du xylème, Ψ_s le potentiel hydrique du sol, Ψ_L le potentiel hydrique des feuilles, et J_{plante} le flux hydrique dans la plante. Ce modèle suggère ainsi que la conductance stomatique est corrélée à la conductance hydraulique de la feuille, et même la conductance de la plante entière. Plusieurs études suggèrent que c'est effectivement bien le cas (Meinzer and Grantz, 1990; Aasamaa *et al.*, 2001; Hubbard *et al.*, 2001; Meinzer, 2002; Sack *et al.*, 2003; Brodribb *et al.*, 2005; Aranda *et al.*, 2005; Nardini and Salleo, 2005; Brodribb, 2009). De la même manière, l'ouverture stomatique conditionnant l'absorption du CO_2 , de nombreuses études démontrent le lien qui existe entre assimilation photosynthétique, conductance stomatique, et conductance hydraulique, que cela soit de la feuille ou de la plante (Cowan and Troughton, 1971; Wong *et al.*, 1979; Farquhar *et al.*, 1980; Brodribb and Feild, 2000; Hubbard

et al., 2001; Brodribb *et al.*, 2002; Brodribb and Holbrook, 2003a; Brodribb *et al.*, 2005; Franks, 2006; Brodribb *et al.*, 2007; Campanello *et al.*, 2008).

6. Résistance à la sécheresse de la feuille

La résistance à la sécheresse de la feuille peut être définie selon deux grandes manières. Elle peut être vue comme la capacité à maintenir le fonctionnement d'une feuille, notamment en ce qui concerne la photosynthèse, malgré l'avènement d'un stress hydrique. Il s'agira ici plutôt de tolérance à la sécheresse (Delzon, 2015; Volaire, 2018). Sinon, la résistance à la sécheresse peut être vue comme la capacité à limiter la diminution du potentiel hydrique, et maintenir le plus longtemps que possible les tissus hydratés. Dans cette acception, la résistance à la sécheresse est vue comme la maximisation du temps de dessiccation (Blackman *et al.*, 2016). Cette différence a une grande importance, car dans certains cas, une forte valeur d'un trait et une faible valeur du même trait peuvent tous les deux être associés à la résistance à la sécheresse. La régulation stomatique définie comme le potentiel hydrique de la plante induisant 95% de perte de conductance stomatique (Martin-StPaul *et al.*, 2017), $g_{s,closure}$, en est un exemple. Un faible $g_{s,closure}$ (potentiel hydrique négatif) permettra de maintenir les échanges gazeux malgré l'avènement d'un stress hydrique, et sera donc un trait de tolérance à la sécheresse. Un fort $g_{s,closure}$ (potentiel hydrique moins négatif) permettra de rapidement limiter la perte en eau et la diminution du potentiel hydrique de la feuille dès l'avènement d'un stress, et maximisera le temps de dessiccation si ce stress hydrique se maintient dans le temps. Dans ce travail, nous considérons la résistance à la sécheresse comme la maximisation du temps de dessiccation.

Point de perte de turgescence

Une première limite physiologique de la feuille, induite par un stress hydrique et communément observable, est le flétrissement. Le flétrissement à l'échelle de la feuille est le symptôme de la perte de turgescence des cellules de la feuille. Une demande évaporative de l'atmosphère trop forte, et la nécessité d'alimenter un flux et/ou de réguler la température de la feuille peuvent en effet entraîner le vidage des cellules pour remédier à un déficit hydrique local. Le potentiel hydrique où la majorité des cellules passent d'un état de turgescence à un état de plasmolyse est appelé le point de perte de turgescence, π_{tp} (MPa). A π_{tp} , le potentiel hydrostatique de la feuille devient et reste nul. A π_{tp} , le potentiel hydrique de la feuille est équivalent au potentiel osmotique. Plus une feuille a un π_{tp} négatif, plus elle est capable de maintenir un état de turgescence à de faibles potentiels hydriques, et ainsi de maintenir des processus essentiels au niveau de la feuille telle que la conductance hydraulique et l'ouverture des stomates pour la

transpiration et l'assimilation photosynthétique (Brodribb *et al.*, 2003; Brodribb and Holbrook, 2003b; Bartlett *et al.*, 2012b; Maréchaux *et al.*, 2015). Plus la valeur de π_{up} est négative, plus la feuille est tolérante à la sécheresse, dans le sens où elle est capable de maintenir des processus essentiels (conduction hydraulique, conductance stomatique, photosynthèse) malgré un stress hydrique.

Deux grandes méthodes peuvent être utilisées pour estimer le point de perte de turgescence. La méthode canonique est la construction d'une courbe pression-volume (Koide *et al.*, 1989). Une feuille parfaitement hydratée (potentiel hydrique initial proche de 0 MPa) est utilisée pour la construction d'une courbe pression-volume. Au cours du dessèchement de la feuille, le potentiel hydrique mesuré à la chambre à pression immédiatement suivi de la masse sont mesurés à intervalles réguliers. L'idéal est de couvrir la gamme entre 0 et -3 MPa, avec une mesure tous les 0.3 MPa. Comme cela avait été décrit pour la capacitance, la courbe pression-volume (masse de la feuille en fonction de son potentiel hydrique) présente généralement deux phases linéaires. La première phase correspondant à la feuille encore relativement hydratée est caractérisée par une pente faible, c'est la phase en turgescence. La seconde phase caractérisée par une pente plus forte est la phase en plasmolyse. Le potentiel hydrique marquant la transition de phase est le potentiel hydrique de perte de turgescence π_{up} .

La méthode par courbe pression-volume peut être chronophage, notamment en ce qui concerne la phase en plasmolyse. Même si pour cette phase la perte d'eau est plus importante en fonction du potentiel hydrique, la diminution du potentiel hydrique en fonction du temps est beaucoup plus longue. Passé le point de perte de turgescence, les stomates sont fermés, et le flux sortant principalement médié par la cuticule est beaucoup plus faible qu'en phase de turgescence. La construction d'une courbe pression-volume permet cependant de dériver d'autres traits (Bartlett *et al.*, 2012b). Premièrement, la construction d'une courbe pression-volume nécessite de connaître la masse de la feuille saturée en eau ainsi que sa masse sèche. Par conséquent, une courbe pression-volume permet de connaître la relation entre le potentiel hydrique de la feuille et son contenu relatif en eau RWC (%), tel que :

$$RWC = \frac{M_{\text{fraîche}} - M_{\text{sèche}}}{M_{\text{saturée}} - M_{\text{sèche}}}$$

Avec $M_{\text{fraîche}}$ la masse de la feuille au moment où l'on souhaite connaître son RWC , $M_{\text{sèche}}$ sa masse sèche, $M_{\text{saturée}}$ sa masse fraîche saturée en eau (ou pleine hydratation). Deuxièmement, la totalité de la masse d'eau perdue durant la phase de turgescence (avant d'atteindre le point de perte de turgescence) correspond à la fraction apoplasmique, ou extracellulaire, en eau de la feuille. Troisièmement, dans la relation du potentiel hydrique en fonction de $100-RWC$, l'ordonnée à l'origine de la seconde phase en plasmolyse correspond au potentiel osmotique à

pleine turgescence π_0 (MPa). Le potentiel osmotique à pleine turgescence est important, car le contrôle de π_{tp} étant plutôt chimique -via la concentration en soluté- qu'anatomique, π_0 permet de prédire π_{tp} (Bartlett *et al.*, 2012*b,a*). Quatrièmement, dans la relation du potentiel hydrique en fonction de 100-RWC, la pente de la première phase en turgescence correspond au module d'élasticité ε (MPa) de la paroi des cellules. Cinquièmement, la relation de la masse de la feuille en fonction de son potentiel hydrique permet de dériver les capacitances de la feuille à pleine turgescence et en plasmolyse respectivement. Cependant, même si la capacitance pourrait avoir un rôle significatif dans la résistance à la sécheresse de la feuille, en termes de temps de dessiccation et notamment en qui concerne la capacitance en plasmolyse, la capacitance de la feuille n'est que peu étudiée, avec une seule étude à ma connaissance (Sack *et al.*, 2003).

Le fort lien mécanistique entre π_{tp} et π_0 , ainsi qu'une forte corrélation statistique entre ces deux traits, ont permis de développer une autre méthode de mesure de π_{tp} , simplement basée sur l'estimation de π_{tp} à partir de π_0 (Bartlett *et al.*, 2012*a*). La mesure de π_0 à partir d'un osmomètre est beaucoup plus rapide, avec environ 20 min nécessaires par mesure, et permet ainsi d'envisager d'étudier π_{tp} comme trait fonctionnel en écologie des communautés (Maréchaux *et al.*, 2015; Bartlett *et al.*, 2016*b*).

Régulation stomatique

La mesure de la régulation stomatique se fait de manière analogue à la construction de courbes de vulnérabilité : il s'agit de déterminer le potentiel hydrique foliaire induisant x % de perte de conductance stomatique. Pour parler du potentiel hydrique associé à la fermeture des stomates, on utilise généralement le potentiel hydrique associé à 90-95 % de perte de conductance stomatique (Bartlett *et al.*, 2016*a*; Martin-StPaul *et al.*, 2017). Un pourcentage de 100 % n'est théoriquement pas possible à obtenir, dans la mesure où il existe toujours une conductance résiduelle dû à la cuticule ou quelques stomates qui fuient. Le potentiel hydrique associé à 50 % de perte de conductance stomatique est quelques fois utilisé (Klein, 2014; Bartlett *et al.*, 2016*a*). Une courbe de sensibilité stomatique correspond à la relation entre la conductance stomatique g_s et le potentiel hydrique de la feuille. Une telle courbe se fait généralement *in planta*, en associant une mesure de g_s au potentiel hydrique mesuré à midi. Pour construire une telle courbe, il est nécessaire de connaître la conductance stomatique maximale. La conductance stomatique se mesure à l'aide d'un poromètre ou avec une chambre à analyseur de gaz portable.

Les stomates répondent à de nombreux facteurs environnementaux, et signaux chimiques ou physiques. Mais la hiérarchie et la contribution relative de ces facteurs et signaux restent mal connues (Buckley, 2019). En ce qui concerne les causes proximales, l'ouverture des

stomates est d'abord contrôlée par le degré de turgescence des cellules de gardes, ainsi que celui des cellules épidermiques adjacentes (Buckley, 2005), ce qui déterminera la taille de l'ostiole. L'état de turgescence des cellules de garde est lui-même contrôlé par la régulation des potentiels hydrostatique et/ou osmotique à des cellules de garde. La régulation stomatique peut être induite par des facteurs environnementaux tels que la lumière (Shimazaki *et al.*, 2007), la température et l'humidité (Darwin, 1898; Mott and Parkhurst, 1991; Mott and Peak, 2010; Peak and Mott, 2011; Pantin and Blatt, 2018), la concentration interne de CO₂ (Messinger *et al.*, 2006; Lawson *et al.*, 2018), ou le statut hydrique du sol (Buckley, 2005). La régulation stomatique serait principalement médiée par l'acide abscissique qui serait réceptionné au niveau des cellules de garde (Brodrigg and McAdam, 2017; Buckley, 2019). L'acide abscissique pourrait être produit au niveau des cellules de garde ou bien y être transporté, et potentiellement produit à différents endroits de la plante entre les feuilles et les racines (Buckley, 2019).

Conductance foliaire minimum

Lorsque les stomates sont fermés, la transpiration des feuilles n'est pas nulle. Il existe une transpiration résiduelle déterminée par de potentiels stomates non totalement fermés, ou stomates qui fuient (*leaky stomata*), ainsi que par la porosité de la cuticule (Duursma *et al.*, 2019). La mesure de cette transpiration résiduelle induite par la demande évaporative de l'atmosphère est la conductance foliaire minimum g_{\min} (mmol m⁻² s⁻¹). La mesure de ce trait permet d'apprécier la capacité de contrôle d'une plante sur sa transpiration résiduelle, notamment en contexte de stress hydrique où la fermeture des stomates aura été induite. La mesure de ce trait est simple et se fait à partir de la mesure de masse d'une feuille détachée. La feuille détachée est mesurée est bouchée avec du vernis au niveau du pétiole, afin de s'assurer que le flux d'eau sortant est uniquement médié par le limbe. La masse de la feuille est ensuite suivie en fonction du temps, en contrôlant pour la température et l'humidité relative de l'air qui permettra de calculer le déficit de pression de vapeur (*VPD*). La conductance minimum est la pente de la droite de la masse de la feuille en fonction du temps, divisée par le *VPD*.

La conductance minimum intègre à la fois les effets des qui fuient et de la cuticule. Il est possible de mesurer uniquement la conductance cuticulaire g_{cuti} , en isolant une surface de cuticule non stomatique (p. ex. la face adaxiale d'une feuille), et en utilisant un analyseur d'échange de gaz (Duursma *et al.*, 2019).

Étonnement, la conductance cuticulaire n'est pas corrélée à l'épaisseur de la cuticule (Anfodillo *et al.*, 2002; Schuster *et al.*, 2016), même s'il existe une forte variabilité de l'épaisseur de la cuticule (Duursma *et al.*, 2019). L'eau ne diffuse pas au travers de la cuticule,

mais elle s'y dissout, diffuse dans la matrice solide, et est adsorbée à l'interface cuticule-atmosphère (Duursma *et al.*, 2019). Cependant, il n'existe à ce jour aucune étude faisant le lien entre la composition chimique de la cuticule et la variation de g_{\min} ou g_{cuti} . En ce qui concerne la conductance minimum, quelques études suggèrent que g_{\min} est plus contrôlé par la cuticule que les stomates (Šantrůček *et al.*, 2004), et que g_{\min} est dépendant de la densité stomatique (Muchow and Sinclair, 1989). L'approche hydraulique focalisant sur le problème de la résistance à la sécheresse des plantes est restée très centrée sur la résistance à l'embolie ces 20-30 dernières années. Une compréhension plus intégrée de la résistance à la sécheresse et du temps de dessiccation a amené à considérer la conductance foliaire minimum comme un trait central en hydraulique des plantes que ces quelques dernières années (Blackman *et al.*, 2016; Duursma *et al.*, 2019). Les déterminismes anatomiques et chimiques de la conductance minimum devraient ainsi être mieux élucidés dans les années à venir.

La conductance minimum associée à la surface foliaire totale détermine la transpiration résiduelle totale de la plante (en négligeant la transpiration résiduelle au niveau de l'écorce). Cette transpiration résiduelle totale détermine la vitesse à laquelle les stocks en eau de la plante et du sol seront épuisés, et donc le temps de dessiccation. Le fort déterminisme de la cuticule sur g_{\min} (qu'il soit physique ou chimique) suggère que g_{\min} est relativement indépendant de l'environnement. Cependant, Hervé Cochard (Cochard, 2019) a proposé un mécanisme potentiel selon lequel la cuticule serait sensible à une transition de phase induite par la température. Une telle transition de phase impacterait fortement la perméabilité de la cuticule, tel que celle-ci augmenterait à forte température, durant une vague de chaleur par exemple. L'augmentation subite de la conductance minimum due à la température augmenterait la transpiration résiduelle totale de la plante, ce qui diminuerait son temps de dessiccation. La variabilité de cette température seuil induisant la transition de phase de la cuticule n'est pas connue, et pourrait être essentielle dans cet enjeu de la compréhension de la résistance à la sécheresse des plantes (Cochard, 2019).

Résistance de la feuille à la perte de conductance

La conductance foliaire K_{leaf} intègre à la fois les compartiments xylémien et extraxylémien. De ce fait, même s'il est possible de construire une courbe de vulnérabilité pour la feuille comme le pourcentage de perte de conductance en fonction du potentiel hydrique, les mécanismes sous-jacents ne seront pas les mêmes que dans le cas du xylème de la tige. En effet, dans le cas du xylème de la tige, la perte de conductance est directement reliée au nombre de vaisseaux embolisés. Dans le cas de la feuille, les compartiments xylémien et extraxylémien pourront

avoir à la fois des contributions relatives différentes dans la perte de conductance et des cinétiques différentes. Par exemple, le compartiment extra-xylémien étant à l'extrémité de la plante, en contact plus direct avec l'atmosphère, on peut s'attendre à ce que le potentiel hydrique soit toujours plus faible dans le compartiment extraxylémien et que la perte de conductance intervienne en premier lieu dans ce compartiment.

De manière analogue au xylème des tiges, on utilise le potentiel hydrique foliaire induisant 50 % de perte de conductance foliaire, $K_{\text{leaf}P_{50}}$ (MPa). Les études quantifiant les contributions relatives des compartiments xylémien et extraxylémien sont rares, car elles représentent un vrai challenge technique. En effet, il faut pour cela mesurer l'évolution des résistances respectives des compartiments séparés avec la diminution du potentiel hydrique de la feuille. Les quelques études sur le sujet suggèrent que la perte de conductance foliaire avec la déshydratation est d'abord contrôlée par la perte de conductance du compartiment extraxylémien. Charra-Vaskou *et al.* (2012) ont suggéré pour une espèce de conifère que $K_{\text{leaf}P_{50}}$ était supérieur de 1 MPa par rapport au P_{50} du xylème de la feuille. Dans deux études significatives sur le sujet, avec des méthodes comparables, et totalisant 12 espèces au total, les résultats suggéraient que le déclin de la conductance du compartiment extraxylémien correspondait au déclin de K_{leaf} (Trifiló *et al.*, 2016; Scoffoni *et al.*, 2017a). Scoffoni *et al.* (2017a) ont même calculé qu'à $K_{\text{leaf}P_{50}}$, 98 % de la perte de conductance est causé par le compartiment extraxylémien. Cela suggère que la mesure de $K_{\text{leaf}P_{50}}$ serait directement la mesure du potentiel hydrique induisant 50 % de perte de conductance du compartiment xylémien, et réciproquement que $K_{\text{leaf}P_{50}}$ n'est pas forcément une mesure de la résistance à la perte de conductance pour l'ensemble de la feuille. De plus, de nombreuses études ont aussi observé le déclin de K_{leaf} avec la diminution du potentiel hydrique foliaire, sans observer d'embolie dans le xylème de la feuille (Scoffoni *et al.*, 2012; Sack *et al.*, 2016).

Ces différences de contributions relatives des compartiments dans le déclin de K_{leaf} s'expliquent certainement par des mécanismes différents opérant dans les deux compartiments. Pour le compartiment extraxylémien, trois mécanismes non exclusifs ont été proposés : (i) le changement de turgescence des cellules du mésophylle, (ii) le changement de perméabilité des membranes notamment médié par les aquaporines, et (iii) le changement du site d'évapotranspiration au sein de la feuille (Scoffoni *et al.*, 2017c). La diminution du potentiel hydrique entraîne la perte de turgescence et le retrait des cellules, ce qui augmenterait K_{leaf} . L'hypothèse liée à la turgescence serait donc moins prévalente, ou au plus indirecte. Le changement de turgescence des cellules impacte l'activité des aquaporines (Scoffoni *et al.*, 2017c), ce qui en fait l'hypothèse la plus probable. Enfin, une modification du site de

transpiration dans le mésophylle avec la diminution du potentiel hydrique pourrait expliquer la perte de K_{leaf} . Une telle hypothèse est plus difficile à tester, mais une approche par modélisation suggère qu'un tel changement de site est peu probable (Buckley *et al.*, 2017).

Les mécanismes de perte de conductance du xylème de la feuille sont relativement plus connus, de par ce que l'on connaît déjà de la vulnérabilité du xylème dans la tige, et qu'il n'y a pas lieu de penser que le xylème des tiges se comporte de manière radicalement différente du xylème de la feuille, et de par le fait que la résistance à l'embolie du pétiole est depuis plus longtemps étudiée (Cochard and Tyree, 1990; Cochard *et al.*, 1992a; Hacke and Sauter, 1996; Hochberg *et al.*, 2016a). La principale cause de perte de conductance du xylème est l'accumulation d'embolie dans les vaisseaux, qui bloquent la circulation de l'eau (voir ci-dessus). De plus, la méthode par visualisation optique permet de visualiser la formation de l'embolie au niveau des nervures à la fois dans le temps et dans l'espace (Brodribb *et al.*, 2016b,a; Skelton *et al.*, 2017a; Rodriguez-Dominguez *et al.*, 2018; Skelton *et al.*, 2018). De l'embolie au niveau des nervures médianes a aussi pu être observée par microtomographie à rayons X (Scoffoni *et al.*, 2017b).

La collapse des vaisseaux est un autre mécanisme, hypothétique ici, pouvant expliquer la perte de conductance dans le xylème avec la diminution du potentiel hydrique. La collapse d'un vaisseau avec l'augmentation de la tension impacte négativement sa surface de section et donc sa conductivité. Les vaisseaux du xylème de la tige sont largement surdimensionnés contre la collapse, et à ma connaissance, il n'y a aucune observation avérée de collapse dans le xylème de la tige. Les études ayant observé une collapse au niveau de la nervure médiane sont peu nombreuses (Cochard *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2014; Bouche *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2016b), concernent des tensions généralement déjà relativement élevées (entre -2 et -3.5 MPa), et décrivent majoritairement des gymnospermes dont les conduits sont des trachéides. De plus, il n'existe aucune étude faisant le lien entre l'accumulation de collapse et la perte de conductance foliaire.

V – L'ARCHITECTURE HYDRAULIQUE

1. Mécanismes homéostatiques à l'échelle de la plante

Dans le cadre de l'idée d' « architecture hydraulique », pris comme la signification fonctionnelle de la variation de propriétés structurales et/ou fonctionnelles au sein de la plante, différents mécanismes homéostatiques ont été proposés, testés, et plus ou moins corroborés : (i) le modèle d'optimalité hydraulique en lien avec la variation longitudinale des vaisseaux, (ii) les ratios demande évaporative vs approvisionnement en eau, (iii) la phénologie foliaire, (iv) la segmentation. Ces mécanismes ne sont intelligibles que lorsque l'on considère la plante entière, ou que l'on se place à minima à l'échelle de l'organe (p. ex. la feuille). Ces mécanismes sont plus ou moins reliés à la résistance à la sécheresse, ou peuvent constituer des mécanismes de résistance à la sécheresse en soi. À ma connaissance, ces mécanismes n'ont jamais été discutés dans un cadre conceptuel unifié.

Modèle d'optimalité hydraulique

La loi d'Hagen-Poiseuille décrit la conductance d'un capillaire (Poiseuille, 1844), tel que :

$$k_{capillaire} = \frac{\pi r^4}{L * 8\eta}$$

où r est le rayon de la section du capillaire, L la longueur du capillaire, et η est la viscosité dynamique du liquide considéré. Au travers de son paramètre L , la loi de Hagen-Poiseuille décrit clairement que la résistance d'un capillaire, et par extension de l'ensemble du réseau de vaisseaux dans une branche, un tronc, ou une plante, est directement proportionnelle à la longueur de voie hydraulique. Cette résistance est liée au potentiel matriciel lié à la paroi interne des vaisseaux, qui s'oppose à la force nécessaire pour mettre en mouvement l'eau. L'intégration (au sens de l'intégrale mathématique) de ce potentiel matriciel sur l'ensemble de la longueur de voie peut s'appeler la résistance hydrodynamique, et est assimilable à l'accumulation de forces de frottement. Plus une plante ou un arbre croît en hauteur, plus la longueur de voie augmente, plus la résistance hydrodynamique s'accumule.

Geoffrey West, James Brown, et Brian Enquist, ont proposé un modèle relativement simple (le modèle West-Brown-Enquist, ou plus simplement le modèle WBE ; West *et al.*, 1997) dans le but premier d'expliquer et d'étendre la loi de Kleiber (Kleiber, 1932, 1947), qui prédit une relation allométrique entre la taille des organismes et leur taux métabolique, avec un coefficient d'allométrie constant de 0.75. Le modèle assume que la sélection naturelle agit de manière à ce que les distances de transport (et donc les dissipations d'énergie) soient minimisées, et que les capacités métaboliques soient maximisées, par la maximisation des

surfaces d'échange. L'explication de la loi de Kleiber, en partant de ces deux postulats, amène les auteurs à considérer les structures biologiques en réseaux ou arborescences de distribution, en forme de fractal (nervures des feuilles, arborescence et ramification végétales, système cardio-vasculaire des vertébrés, système respiratoire, système trachéal des insectes), comme un phénomène central et essentiel en biologie, et d'expliquer dans le même temps la généralité de tels systèmes.

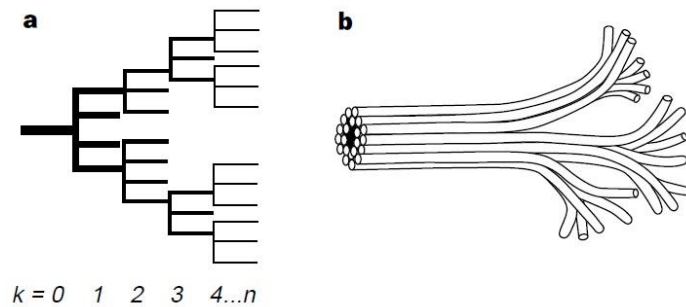


Fig. 23: (a) Topologie de la structure ramifiée utilisée dans le modèle WBE. (b) Illustration du réseau vasculaire, simplifié dans le modèle WBE. Tiré de West et al. 1999.

Dans l'approfondissement de la nécessité de minimiser les dissipations d'énergie chez les plantes, les auteurs ont proposé un formalisme théorique simple basé sur la loi d'Hagen-Poiseuille qui permettrait d'annuler la résistance hydrodynamique grâce à une architecture vasculaire –entendu comme un modèle géométrique– spécifique. Le modèle prédit la résistance hydraulique d'un système à ramification fractale : à chaque niveau de ramification les branches sont équivalentes, et le nombre de branches est constant au travers chaque ramification (Fig. 23). Par souci de simplification par rapport au modèle initial (West *et al.*, 1999), on considère directement les « branches » comme des vaisseaux, ce qui ne change en rien la logique fondamentale du modèle. Soit la résistance hydraulique totale R_{tot} telle que :

$$R_{tot} = \sum_{k=0}^N R_k = \left[\frac{1 - \left[(n^{1/3} - 1) * \frac{l_{tot}}{l_N} \right]^{(1-6\bar{a})}}{1 - n^{(1/3-2\bar{a})}} \right] * R_N$$

avec N le nombre total de niveau, k le niveau considéré (Fig. 23), R_N la résistance du niveau terminal, n le nombre de branches par évènement de ramification indépendant du niveau de ramification, l_{tot} la longueur totale de la voie, l_N la longueur du niveau terminal, \bar{a} un paramètre qui relie le rayon r d'une branche fille $k+1$ à une branche mère k telle que :

$$\bar{\beta}_k = \frac{r_{k+1}}{r_k} = n^{-\bar{a}/2}$$

On appellera \bar{a} le degré de *tapering*. L'ensemble du développement permettant d'exprimer R_{tot} est bien entendu explicité dans l'article de West *et al.* (1999). Si on envisage l_{tot} largement

supérieur à l_N , le comportement de R_{tot} devient fortement dépendant de la variation du degré de tapering \bar{a} , en particulier si \bar{a} est inférieur, supérieur ou égal à 1/6. Si l'on veut maintenir R_{tot} constant tout en augmentant l_{tot} , alors \bar{a} doit rester supérieur à 1/6.

Pour bien comprendre l'idée du *tapering* et se le représenter, il faut raisonner depuis les extrémités feuillées, et non depuis la base de la plante. J'essaye de le montrer ici par l'expérience de pensée suivante. Soit une tige non ramifiée, avec à l'une de ses extrémités une surface feuillée donnée, constante tout au long de l'expérience. On postule qu'il est nécessaire que la conductance foliaire K_{leaf} ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$) soit maintenue constante, sinon l'assimilation photosynthétique et la productivité de la tige seraient impactées. Soit la section A de tige située juste en amont de l'ensemble des feuilles, avec les feuilles et la section A qui restent à une distance de l'apex constante au cours de l'expérience. Si K_{leaf} reste constant, il n'y a pas de nécessité à ce que la conductivité de la section A varie. La conductivité de la section A restera donc constante au cours de l'expérience, ainsi que le nombre et le diamètre des vaisseaux qui la détermine. Soit K_{path} ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$) la même mesure que K_{leaf} mais qui intègre en plus la conductance de la tige. Si la longueur de tige augmente, que le diamètre des vaisseaux le long de la tige reste équivalent à celui au niveau de la section A , alors K_{path} diminue. Le but de l'expérience est de maintenir K_{path} constant tout en augmentant la longueur de tige, et sans qu'il y ait besoin de modifier la conductivité de la section A , ainsi que la structure vasculaire qui y est associée. Selon le modèle WBE, l'élargissement constant des vaisseaux en s'éloignant de l'apex permet de maintenir K_{path} constant indépendamment de la longueur de la tige, et sans qu'il y ait besoin de modifier la conductivité et la structure anatomique de la section A . Une chose essentielle qui ressort de cette expérience, est qu'il faut se représenter un élargissement des vaisseaux (*vessel widening*) depuis l'extrémité feuillée –extrémité feuillée dont on doit maintenir les propriétés hydrauliques et les capacités d'échanges gazeux-, et non se représenter une diminution du diamètre des vaisseaux (*vessel tapering*) en partant depuis la base de la plante. L'utilisation initiale par les auteurs du terme de *tapering* est moins correcte que celui de *widening*. Raisonner depuis la base de la plante en termes de rétrécissement des vaisseaux peut par exemple amener à d'abord expliquer ce phénomène comme la résultante de la ramification des branches et des vaisseaux, ce qui est une vision incomplète et donc erronée de l'architecture vasculaire à l'échelle de la plante entière. D'ailleurs le *vessel widening* a été mis en évidence dans des plantes très peu voir non ramifiées, telles que les longues tiges de lianes ou les palmiers (Petit *et al.*, 2014; Rosell and Olson, 2014).

Même si le modèle WBE a toujours été critiqué pour sa simplicité et son irréalité biologique, qui contrastent avec l'étendue et la généralité des phénomènes biologiques qu'il

entend expliquer, ce modèle a le mérite d'introduire l'idée que la variation axiale continue du diamètre des vaisseaux peut être un mécanisme permettant de dissiper la résistance hydrodynamique s'accumulant avec la hauteur. Le *vessel widening* entend ainsi aussi expliquer la limite physique à la hauteur des arbres, puisque le modèle WBE peut prédire la hauteur maximale atteignable (West *et al.*, 1999; Williams *et al.*, 2019). Le volet spécifique du modèle WBE sur l'architecture vasculaire a aussi mis du temps à se démocratiser, puisqu'il rentrait en contradiction avec l'idée largement acceptée à la fin des années 1990 et au début des années 2000 que l'augmentation des contraintes hydriques avec la hauteur des arbres limitait la croissance (Ryan and Yoder, 1997; McDowell *et al.*, 2002; Koch *et al.*, 2004; Ryan *et al.*, 2006), ou hypothèse de limitation hydraulique.

Au milieu des années 2000, une petite communauté d'anatomistes a commencé à se mettre en place afin de tester et quantifier spécifiquement la prédiction du modèle concernant le *vessel widening* à l'échelle d'arbres entiers (Anfodillo *et al.*, 2006; Mencuccini *et al.*, 2007; Petit *et al.*, 2008, 2009). En étudiant quelques espèces d'arbres, soit en réalisant plusieurs coupes anatomiques graduellement tout le long du tronc, soit en se basant sur deux coupes – une à la base et une à l'apex-, pour différentes hauteurs, les auteurs ont montré une convergence vers un coefficient de *tapering* de 0.2. Cette observation a été par la suite confirmée pour plus d'espèces et de plus grandes échelles (Petit *et al.*, 2008; Bettiati *et al.*, 2012; Anfodillo *et al.*, 2013; Olson *et al.*, 2014, 2018; Prendin *et al.*, 2018). Elle a aussi été généralisée pour les plus grands arbres du monde (Petit *et al.*, 2010; Lazzarin *et al.*, 2016; Pfautsch *et al.*, 2018; Williams *et al.*, 2019), d'autres formes de croissance telles que les lianes (Olson *et al.*, 2014; Rosell and Olson, 2014) et les monocotylédones arborescentes (Petit *et al.*, 2014) qui par définition n'ont pas de croissance secondaire, et même les tubes criblés du phloème (Petit and Crivellaro, 2014). Ces résultats supportent presque tous dans l'ensemble une convergence vers un coefficient de *tapering* de 0.2. Ce coefficient est légèrement supérieur à la prédiction du modèle WBE qui était de 1/6, mais en étant supérieur reste dans le sens d'une dissipation de la résistance hydrodynamique.

À noter que le botaniste polonais Karl Sanio avait déjà remarqué à la fin du 19^e siècle qu'il y avait un gradient axial du diamètre des conduits, avec un élargissement en s'éloignant de l'apex, en étudiant le pin sylvestre (Sanio, 1872). De ce fait, ce phénomène a quelquefois été appelé la loi de Sanio (Mencuccini *et al.*, 2007).

Les études basées sur plusieurs coupes anatomiques le long d'un même arbre (Anfodillo *et al.*, 2006; Petit *et al.*, 2008, 2009, 2010, 2014; Bettiati *et al.*, 2012; Williams *et al.*, 2019) montrent toutes que le rythme de diminution du diamètre des conduits n'est en fait pas constant

le long du tronc jusqu'aux apex (Fig. 24). Ce rythme de diminution est plus important entre le point d'insertion de la couronne et les apex, et s'intensifie à mesure que l'on s'approche des apex (Bettiati *et al.*, 2012). Ce rythme de diminution est par contre relativement stable entre la base de la plante et le point d'insertion de la couronne (Fig. 24). L'intensification du rythme de diminution de diamètre des conduits vers les apex a souvent été expliquée par l'effet superposé de la ramification des branches et l'insertion des feuilles, qui nécessitent de dériver et multiplier les circuits d'approvisionnement en eau (Bettiati *et al.*, 2012; Petit *et al.*, 2014). Ce patron d'intensification du rythme de diminution est aussi concordant avec ce qui est observé dans les feuilles. Quelques études se sont intéressées au comportement du diamètre des vaisseaux avec la distance à la pointe des feuilles, démontrant le même phénomène de *vessel widening* (Coomes *et al.*, 2008; Petit and Anfodillo, 2013; Lechthaler *et al.*, 2018; **Chapitre 3**). Le coefficient de rétrécissement dans les feuilles varie entre 0.4 et 0.7, alors qu'il est en moyenne de 0.2 lorsque l'on considère l'ensemble de la voie hydraulique de la base du tronc jusqu'aux apex, et alors que la prédiction du modèle WBE est de 1/6.

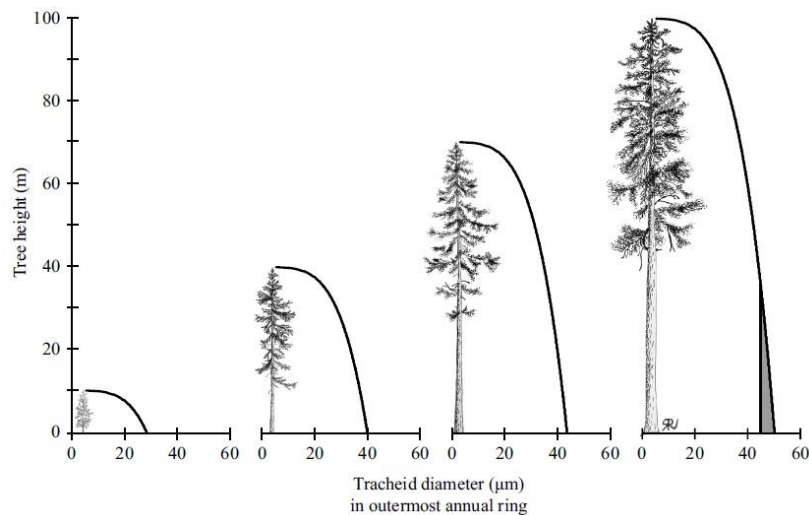


Fig. 24: Représentation graphique de la variation axiale du diamètre moyen des conduits en fonction de la hauteur de l'arbre et des stades de développement chez *Sequoia giganteum*. Le diamètre des conduits en zone apical est le diamètre minimum et est relativement indépendant des stades de développement. Le diamètre des conduits à la base de l'arbre augmente avec la hauteur de l'arbre, jusqu'à atteindre un maximum (ici environ 50µm) qui limite la hauteur maximale de l'arbre. Tiré de Williams et al. 2019.

Les ratios Demande évaporative vs Approvisionnement en eau

Analogiquement à un modèle source-puit, le statut hydrique d'une plante à un temps t peut être vu comme le rapport entre la demande évaporative, c.-à-d. le flux évaporatif total E (kg s^{-1}), et la capacité d'approvisionnement en eau. Pour la demande évaporative, E peut être modélisé comme :

$$E = g_s * A_L * VPD$$

avec g_s ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) la conductance stomatique, A_L la surface foliaire totale de la plante, et VPD le déficit de pression vapeur. Pour une plante ou une espèce donnée, dans un environnement donné constant, la VPD est constante et on assume que g_s varie peu. Dans ce cas E est directement proportionnel à A_L .

La capacité d’approvisionnement en eau peut être envisagée de deux manières : au niveau des racines, ou au niveau du tronc. Les conductivités k_h de section étant additives, la somme des conductivités de chaque racine à un niveau donné déterminera directement le flux total arrivant au niveau du tronc. Il est donc raisonnable de supposer que la capacité d’approvisionnement en eau au niveau des racines sera liée à la biomasse racinaire totale, et plus exactement à la biomasse totale en racine absorbante, ainsi qu’à la surface d’échange racinaire, pouvant de plus inclure les mycorhizes (Guerrero-Galán *et al.*, 2018). La surface foliaire totale A_L et la surface racinaire A_R si elles varient relativement indépendamment, tel que le ratio $A_L:A_R$ peut varier, alors ce ratio peut influencer sur le statut hydrique de la plante tel qu’un faible ratio $A_L:A_R$ permettra un comportement conservateur de l’eau, sécuritaire. Un faible ratio $A_L:A_R$ sera ainsi attendu pour de grands arbres au sein d’une espèce, ou en conditions stressantes et arides. Estimer la surface ou la biomasse racinaire est compliquée, ce qui inhibe le test de cette hypothèse. Cependant quelques études suggèrent tout de même que le ratio $A_L:A_R$ diminue avec l’âge des arbres ou d’un peuplement (Grier *et al.*, 1981; Ryan and Waring, 1992; Vanninen *et al.*, 1996; Magnani *et al.*, 2000).

Au niveau du tronc, c’est le volume d’aubier (dans le sens de bois conducteur), et donc la surface de section à une hauteur donnée, qui déterminera le flux pouvant être alimenté par le tronc. Pour une conductivité spécifique du xylème k_s constante, c’est la surface d’aubier A_S qui détermine directement la conductivité k_h , et donc le flux. De manière analogique au ratio $A_L:A_R$, le ratio $A_L:A_S$ peut théoriquement influencer sur le statut hydrique de la plante, tel que selon la loi de Darcy, le flux entrant F passant par le tronc est équivalent au flux sortant évaporé E :

$$F = \frac{k_s * A_S * \Delta\Psi}{L} \text{ et } E = g_s * A_L * VPD$$

avec $\Delta\Psi$ la différence de potentiels hydriques de part et d’autre de la plante déterminant la force motrice, L la longueur de la voie hydraulique. Alors :

$$A_S = \frac{F * L}{k_s * \Delta\Psi} \text{ et } A_L = \frac{E}{g_s * VPD}$$

D’où :

$$\frac{A_L}{A_S} = \frac{E * k_s * \Delta\Psi}{g_s * VPD * F * L}$$

Pour une plante dans un environnement donné, L , $\Delta\Psi$ et VPD sont constants. Pour une plante donnée, on peut considérer k_s et g_s comme constants. Ainsi, l'on voit qu'un faible ratio $A_L:A_S$ minimise le rapport $E:F$, ce qui correspond à une stratégie de conservation de l'eau. La diminution du ratio $A_L:A_S$ avec l'âge et/ou la hauteur des arbres a été plusieurs fois montrée, ces résultats sont repris et discutés dans différentes revues de synthèse (McDowell *et al.*, 2002; Ryan *et al.*, 2006; Lehnebach *et al.*, 2018). Cependant, estimer la surface de bois réellement conductrice est aussi un défi méthodologique, ce qui amène à traiter certains résultats avec précaution (Lehnebach *et al.*, 2018). De plus, il est généralement assumé que la conductivité spécifique de l'aubier est homogène sur toute sa surface, ce qui peut ne pas être le cas (Delzon *et al.*, 2004). La variation du ratio $A_L:A_S$ avec l'environnement, tel que des ratios faibles seraient plutôt favorisés en conditions d'aridité, que cela soit à l'échelle d'une branche ou de la plante entière, à quelques fois été montrée (Martínez-Vilalta *et al.*, 2009; Pivovarovoff *et al.*, 2014, 2016; Zhang *et al.*, 2016a).

Dans le mécanisme du ratio $A_L:A_S$, des effets capacitifs de l'aubier peuvent aussi s'ajouter. Pour une capacitance C donnée, le volume d'eau extractible V_{ext} est directement proportionnel au volume d'aubier V_s , tel que :

$$V_{ext} = C * V_s * \Delta\Psi$$

La phénologie

Dans la même logique que le ratio $A_L:A_S$, la réduction rapide et drastique, voir complète, de la surface foliaire, associé à un stress hydrique tel que la saison sèche, peut permettre de réduire voir annuler la demande évaporative, et donc de maintenir le statut hydrique de la plante. La perte saisonnière des feuilles, (ou *drought deciduousness* parfois en anglais -Santiago *et al.*, 2016-, qui pourrait être traduit par caducité), est connue depuis longtemps comme associée aux forêts tropicales sèches (Reich and Borchert, 1984; Reich, 1995; Sakai, 2001). Cependant, ce n'est pas un mécanisme généralisé à l'ensemble des espèces. Par exemple, la perte des feuilles peut être associée à d'autres fonctions telles que le relâchement d'une prédation, ponctuelle ou intégrée au cours de l'évolution et totalement déterminée de façon endogène. De plus les déterminismes exogènes ou endogènes peuvent être difficiles à démêler.

Une seule étude à ma connaissance a directement adressée l'impact de la perte des feuilles associée à une saison sèche annuelle sur le statut hydrique de la plante (Wolfé *et al.*, 2016). Pour l'anecdote, les auteurs ont appelé cette hypothèse celle du fusible hydraulique. Sur six espèces étudiées de forêt tropicale sèche, les auteurs ont d'abord montré que le début et la durée de la caducité dépendait de l'espèce. Même si les auteurs ont montré une tendance

générale à ce que la perte des feuilles soit associée à la maintenance du potentiel hydrique de la plante, en limitant les pertes en eau, une espèce parmi les six a tout de même continué à voir son potentiel hydrique diminuer. Cela suggère que la caducité associée à la sécheresse peut être un mécanisme de résistance à la sécheresse efficace, mais que cela n'est pas forcément systématique.

La segmentation

Le mécanisme de valve de sécurité (*safety valve mechanism*) a été implicitement proposé par Martin Zimmermann dans son ouvrage de 1983 *Xylem Structure and the Ascent of Sap* (Zimmermann, 1983). L'idée fondamentale du mécanisme de valve de sécurité est que l'embolie doit avant tout être favorisée et confinée dans les compartiments « petits, distaux, et peu couteux », tels que les feuilles et les racines, afin de préserver les compartiments plus gros et pérennes, représentant des années de croissance et d'investissement, tels que le tronc et les branches charpentières. Cette idée de confinement de l'embolie était l'idée princeps de Zimmermann, même s'il ne l'a jamais présentée que sous la formulation de « valve de sécurité ».

Le patron, ou le phénomène, de valve de sécurité peut être obtenu grâce à deux mécanismes sous-jacents, théoriquement non-exclusifs : la segmentation hydraulique et la segmentation de vulnérabilité. Ces deux mécanismes ont d'abord été proposés en tant qu'hypothèses, et ont longtemps et continue à être nommé comme l'hypothèse de segmentation hydraulique et l'hypothèse de segmentation de vulnérabilité. Si le mécanisme de segmentation hydraulique trouve son origine dans l'ouvrage de Zimmermann (1983), le mécanisme de segmentation de vulnérabilité semble avoir été développé par Melvin Tyree, d'abord dans un papier fondateur (Tyree and Ewers, 1991), puis dans la complétion et la réédition du livre de Zimmermann (Tyree and Zimmermann, 2002)¹.

Je développerai ici les aspects concernant la feuille comme compartiment distal, peu couteux et sacrificable en l'opposant au tronc comme compartiment pérenne à préserver. Cependant les idées développées ici sont parfaitement applicables à la relation tige-racine, où les racines peuvent être considérées comme le compartiment distal et sacrificable. La segmentation hydraulique selon Zimmermann prédit une « constriction hydraulique » au niveau de la jonction entre les feuilles et la tige, tel que les feuilles sont plus résistantes hydrauliquement. La différence de résistance hydraulique ΔR_H entre les feuilles et la tige doit

¹ Martin Zimmermann est décédé en 1984 avant la réédition de cet ouvrage.

prédire une plus grande différence de potentiels hydriques entre les deux compartiments, que le long de la tige par exemple. Lorsque les stomates sont ouverts et le flux non nul, le potentiel hydrique des feuilles est ainsi toujours maintenu inférieur à la celui de la tige. Sous le postulat que le potentiel hydrique seuil déclenchant une perte de conductance soit homogène dans toute la plante, la perte de conductance se fera ainsi en premier lieu dans les feuilles. Si par exemple on ne considère que le xylème dans la segmentation entre feuilles et tiges, la perte de conductance induite par embolie interviendra en premier lieu dans les feuilles. La seconde voie permettant de réaliser un patron de valve de sécurité est la segmentation de vulnérabilité. L'hypothèse prédit une différenciation dans la propriété des compartiments à résister à la perte de conductance. Dans le cas du xylème, il s'agit d'une différenciation dans la résistance à l'embolie. Selon l'hypothèse et l'idée de la valve de sécurité, les feuilles sont plus vulnérables à la perte de conductance que la tige.

Une autre propriété du mécanisme de valve de sécurité, pas forcément explicitée au début de l'émergence des hypothèses de segmentation (Tyree and Ewers, 1991; Tyree and Zimmermann, 2002), est plus directement liée à la résistance à la sécheresse. Lorsqu'une feuille perd sa conductance avec un stress hydrique, que cela soit par segmentation hydraulique ou par segmentation de vulnérabilité, le flux de la voie hydraulique en amont de la feuille devient nul, et la tension appliquée sur la colonne d'eau en amont de la feuille s'annule. Virtuellement et théoriquement, la perte de surface évaporative induite par perte de conductance foliaire, via le processus de segmentation, revient à diminuer le ratio $A_L:A_S$. Dans cette perspective, le mécanisme de valve de sécurité, lui-même contrôlé par les mécanismes de segmentation, en diminuant le ratio $A_L:A_S$ lors d'un stress hydrique, peut être vu comme un mécanisme de résistance à la sécheresse. Ce mécanisme reste valable pour l'interface racine-tige, lorsque le sol devient plus sec que la plante, inversant le gradient de potentiel hydrique.

La segmentation hydraulique aurait pu être nommée « segmentation de résistance », ou « segmentation de potentiel » pour éviter toute ambiguïté avec la segmentation des vulnérabilités comme cela a pu à déjà pu être le cas (Scholz *et al.*, 2014; Bucci *et al.*, 2016; Johnson *et al.*, 2016; Charrier *et al.*, 2016; Skelton *et al.*, 2017a). La segmentation hydraulique a été principalement démontrée dans les années 1980 et 1990 (Zimmermann, 1978; Tyree *et al.*, 1991; Tyree and Alexander, 1993; Joyce and Steiner, 1995; Nardini and Pitt, 1999; Cruziat *et al.*, 2002; Eisner *et al.*, 2002). Cependant, il n'existe pas de démonstration claire d'un lien entre la segmentation hydraulique, l'apparition d'embolies en premier lieu dans le xylème des feuilles avec un effet sur le maintien du statut hydrique de la plante. Concernant la segmentation de vulnérabilité, les premiers tests ont été réalisés dans les années 1990 (Tyree *et al.*, 1993). Le

développement de technologies nouvelles, permettant de mesurer la résistance à l'embolie du xylème des tiges et des feuilles, ainsi que la perte de conductance foliaire K_{leaf} , a permis d'étayer nos connaissances sur la segmentation de vulnérabilité au cours des années 2000, au détriment sans doute de nouvelles études sur la segmentation hydraulique. La première vague d'étude investigant l'hypothèse de segmentation de vulnérabilité était basée sur la mesure de perte de conductance foliaire K_{leaf} en intégrant à la fois les compartiments xylémien et extra-xylémien dans la feuille (Hao *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2009, 2010; Johnson *et al.*, 2011, 2016; Bucci *et al.*, 2012; Scoffoni *et al.*, 2017c). Les méthodes récente de visualisation optique ou de microtomographie aux rayons-x ont pu mettre en évidence de la segmentation de vulnérabilité entre le xylème de la feuille et le xylème de la tige (Hochberg *et al.*, 2016b; Charrier *et al.*, 2016; Skelton *et al.*, 2017a; Rodriguez-Dominguez *et al.*, 2018; Wason *et al.*, 2018; Skelton *et al.*, 2018; Klepsch *et al.*, 2018). Dans leur investigation des contributions relatives du compartiment xylémien et du compartiment extra-xylémien dans la perte de conductance foliaire, Scoffoni *et al.* (2017a) suggèrent même qu'il y a une segmentation de vulnérabilité au sein même de la feuille, tel que le compartiment extra-xylémien serait plus vulnérable à la perte de conductance afin de préserver le compartiment xylémien plus proximal. L'ensemble des études menées depuis les années 2000, ainsi qu'une méta-analyse sur le sujet (Zhu *et al.*, 2016), suggèrent que la degré de segmentation de vulnérabilité est sujet à variation, dépendant ainsi de l'espèce et de l'environnement.

VI – LA RESISTANCE A LA SECHERESSE

1. Qu'est-ce que c'est ?

La résistance à la sécheresse *lato sensu*, ainsi que toute la terminologie qui l'entoure (évitement, tolérance, résistance, résilience, survie X sécheresse, dessiccation, déshydratation) mérite d'être précisément définie dans toute étude au péril d'aboutir à des confusions ou des contresens. La résistance à la sécheresse (ou par opposition, la mortalité par la sécheresse) sont des phénomènes complexes pouvant être déterminés par une grande variété de mécanismes. De plus, parler de résistance à la sécheresse ne mobilise pas les mêmes schémas de représentation en fonction des individus, ou peut avoir été traité différemment entre différentes communautés, p. ex. entre les agronomes et les écologues. Définir précisément la résistance à la sécheresse et l'ensemble des phénomènes qu'elle recouvre est d'autant plus un enjeu aujourd'hui dans la mesure où la mortalité des plantes induite par sécheresse est une menace pour l'humanité, que l'on considère les écosystèmes « naturels » ou bien les systèmes de production agricole. Bien définir la résistance à la sécheresse en se mettant d'accord sur les termes, c'est se donner les moyens de correctement la mesurer, et donc de mieux appréhender cet enjeu, que cela soit scientifiquement ou politiquement.

Deux articles d'opinion ou de synthèse proposant une remise à plat autour de la définition de la résistance à la sécheresse ont été très récemment publiés, avec un chercheur provenant plutôt de la communauté des écologues (Delzon, 2015), et une chercheuse à l'intermédiaire entre les communautés d'écologues et d'agronomes (Volaire, 2018). Globalement, les cadres proposés dans ces différentes publications sont relativement cohérents et homogènes entre eux.

Selon Delzon (2015), la résistance à la sécheresse peut se matérialiser selon trois stratégies : l'échappement, l'évitement, la tolérance (Fig. 25). (i) L'échappement traduit une stratégie où la plante ne s'expose pas aux stress potentiels, soit en ayant un cycle de vie court où la plante meurt avant la mauvaise saison et les graines germent après, soit en perdant ses feuilles. Selon cette stratégie c'est d'abord la survie de la population qui est maximisée, et non celle de l'individu. (ii) L'évitement traduit une stratégie où la plante maintient en priorité son statut hydrique (de fortes valeurs de potentiels hydriques), en minimisant les pertes en eau. Cette stratégie se matérialise par un fort contrôle stomatique ou un enracinement profond. Enfin, (iii) la tolérance traduit une stratégie où les tissus de la plante sont capables de supporter une diminution des potentiels hydriques. Implicitement, si l'on ne considère que l'évitement et la tolérance qui sont les stratégies les plus généralisées à l'échelle globale, l'évitement serait

une stratégie qui prioriserait la survie de l'individu, la tolérance serait une stratégie qui prioriserait le maintien des autres fonctions, notamment la photosynthèse et la croissance.

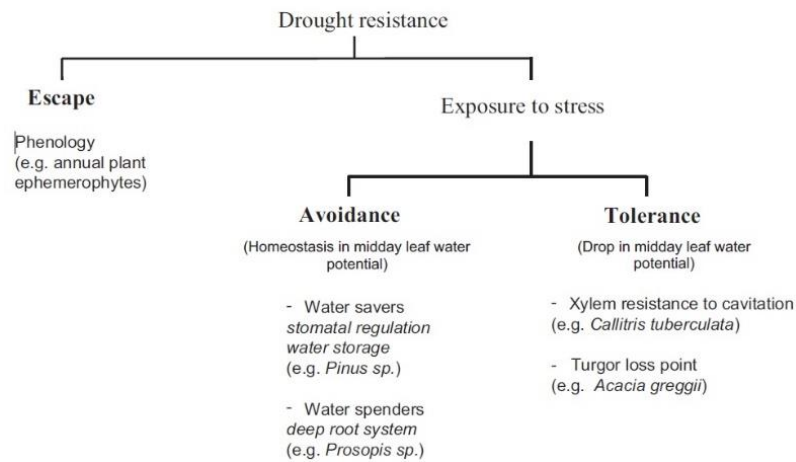


Fig. 25: Classification des stratégies de résistance à la sécheresse selon Delzon (2015). L'échappement (*escape*) correspondant à une absence temporelle durant un stress hydrique. L'évitement (*avoidance*) correspond à une minimisation des pertes en eau (« économiseurs d'eau ») par une forte régulation stomatique et/ou par d'importants stocks d'eau ; ou bien une maximisation de l'absorption de l'eau du sol (« dépenseurs d'eau ») par la biomasse ou la profondeur d'enracinement. L'un des symptômes théoriques de l'évitement est le maintien d'un potentiel hydrique foliaire stable. La tolérance (*tolerance*) correspond à la tolérance des tissus à de faibles potentiels hydriques grâce à une forte résistance à l'embolie du xylème ou à la perte de turgescence dans les feuilles.

Volaire (2018) développe deux niveaux de définition (Fig. 26). Elle distingue d'abord la résistance à la sécheresse *sensu stricto* et la survie à la sécheresse (*drought resistance* et *drought survival* respectivement). Résistance à la sécheresse et survie à la sécheresse ne sont pas des stratégies ici qui dépendraient des espèces, mais des *aptitudes* dont le niveau caractérise chaque espèce. Ces réponses sont en partie liées au type de stress environnemental, la résistance à la sécheresse étant une aptitude que la plupart des espèces manifesteraient lors d'une sécheresse « modérée » ou « normale », et la survie à la sécheresse étant une aptitude plutôt mobilisée lors d'une sécheresse intense comme une vague de chaleur (Cochard, 2019) ou une sécheresse anormalement longue. Dans cette perspective, la résistance à la sécheresse se définit comme la capacité à maintenir un fonctionnement « normal » de la plante, notamment au niveau de la croissance et de la productivité. L'efficacité de cette réponse est par exemple très recherchée en agronomie, puisqu'elle se traduit par la maximisation du rapport production:apport hydrique. La survie à la sécheresse est simplement définie comme la capacité de survivre, et consiste en fait à avoir le temps de dessiccation le plus long possible (Blackman *et al.*, 2016). Le niveau ou l'efficacité du type d'aptitude serait associé à une stratégie plutôt exprimée par une espèce donnée : échappement à la déshydratation, tolérance à la déshydratation, évitement de la déshydratation, tolérance à la dessiccation, et la dormance. Ce niveau de définition correspond au cadre de Delzon (2015), tel que l'échappement, l'évitement,

et la tolérance à la déshydratation sont définis de la même manière. Volaire (2018) intègre en plus la dormance et la tolérance à la dessiccation. La dormance traduit la capacité chez une plante à protéger ses bourgeons durant un stress hydrique. La tolérance à la dessiccation traduit la capacité d'une plante à voir ses tissus atteindre le même niveau d'humidité que l'atmosphère, puis de se réhydrater après une longue période. La tolérance à la dessiccation est le mécanisme impliqué dans ce qui plus communément appelé les plantes reviviscentes ou à résurrection, et représente un phénotype relativement anecdotique.

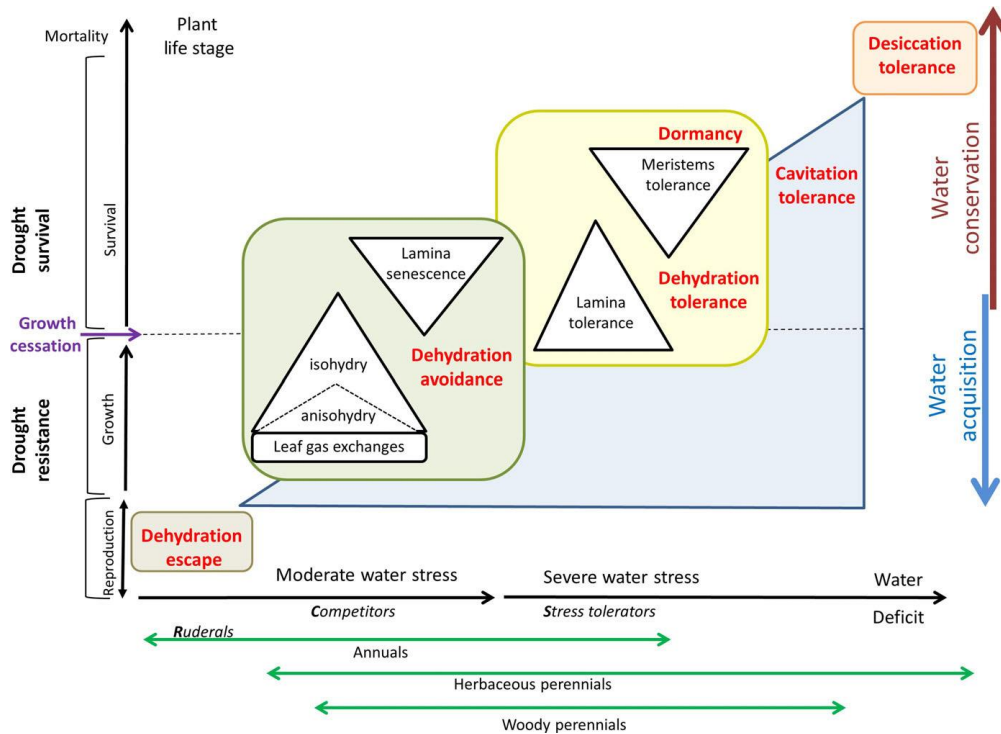


Fig. 26: Classification des aptitudes (*drought resistance*, *drought survival*) et des stratégies (*dehydration escape*, *dehydration avoidance*, *dehydration tolerance*, *dormancy*, *desiccation tolerance*) de résistance à la sécheresse *lato sensu* selon Volaire (2018). L'aptitude de résistance à la sécheresse correspond au maintien de fonctions vitales (photosynthèse, croissance) durant la sécheresse. L'aptitude de survie à la sécheresse correspond à la maximisation de la survie durant un stress hydrique. L'échappement (*dehydration escape*) correspondant à une stratégie d'absence temporelle durant un stress hydrique. L'évitement (*dehydration avoidance*) correspond à une stratégie du maintien des potentiels hydriques (forte régulation stomatique, stockage de l'eau dans les tissus, absorption de l'eau par les racines). La tolérance (*dehydration tolerance*) correspond à une stratégie de tolérance des tissus à de faibles potentiels hydriques grâce à une forte résistance à l'embolie du xylème ou à la perte de turgescence dans les feuilles. La dormance correspond à une stratégie arrêtant totalement la croissance pour maximiser la survie. La tolérance à la dessiccation (*desiccation tolerance*) correspond à une stratégie permettant de tolérer un contenu en eau dans les tissus équivalent à celui de l'atmosphère, à l'image des plantes reviviscentes.

Pour les besoins de la thèse, et ce qui correspond plus à ma vision des choses, je ne considérerais que deux dimensions : la résistance à la sécheresse et la tolérance à la sécheresse. Je définis la résistance à la sécheresse simplement comme la maximisation de la capacité de survie face à un stress hydrique, qui concrètement se matérialise par la maximisation du temps de dessiccation (Blackman *et al.*, 2016), que cela soit face à une sécheresse constante et longue, ou une vague de chaleur. Je définis la tolérance à la sécheresse comme la capacité à maintenir

un fonctionnement « normal » malgré un stress hydrique. La tolérance à la sécheresse pourrait ainsi être mesurée pour une fonction donnée comme l'assimilation photosynthétique, ou la croissance, comme l'écart en termes de valeur de trait traduisant cette fonction entre une condition « normale » et la condition stressante. La tolérance à la sécheresse serait la minimisation de cet écart. Le cadre que je propose a le mérite d'être simple, et d'être mesurable, ou au moins appréciable, pour toutes les espèces.

Un dernier aspect de la résistance à la sécheresse *lato sensu* non développé par Delzon (2015) ou Volaire (2018) est la résilience, ainsi que tous les mécanismes sous-jacents de récupération. Je définis ici la résilience comme la capacité d'une espèce ou d'un individu à retrouver un fonctionnement « normal » après avoir subi un stress ayant conduit à une détérioration de la structure et/ou une altération du fonctionnement, notamment hydraulique. Cette résilience hydraulique se matérialise par des mécanismes de récupération, ou convalescence (*recovery*).

La quantification de la résilience hydraulique nécessite généralement des dispositifs lourds en conditions contrôlés, tels qu'en serre, avec de nombreux plants. L'idée consiste à observer le comportement des plants après une longue période de non-approvisionnement en eau, puis une reprise de cet approvisionnement. L'une des principales méthodes pour la quantification de la résilience hydraulique consiste à mesurer le temps nécessaire pour une plante pour retrouver x % (généralement $x = 50$) de la valeur « normale » maximale d'un trait lié au fonctionnement hydraulique. Les traits suivis sont généralement le potentiel hydrique foliaire, le flux de la tige, la conductance stomatique, ou l'assimilation photosynthétique. L'ensemble de ces traits auront tendance à diminuer en réponse à un stress hydrique. Les premiers à avoir développé cette méthode sont Brodribb et Cochard (2009). Le potentiel hydrique seuil impliquant l'incapacité pour la plante à récupérer ses capacités fonctionnelles est appelé potentiel minimum de restauration. Les trois grandes études à avoir développé cette méthodologie (Brodribb and Cochard, 2009; Brodribb *et al.*, 2010; Urli *et al.*, 2013) suggèrent que ce potentiel minimum de restauration correspond à peu près au P_{50} pour les gymnospermes, et au P_{88} pour les angiospermes. D'autres études utilisant la même méthodologie ont permis de mettre en évidence que la récupération des capacités d'échange gazeux (conductance stomatique et/ou assimilation photosynthétique) est corrélée à la récupération de la capacité de conduction de la tige (Blackman *et al.*, 2009; Resco *et al.*, 2009; Martorell *et al.*, 2014; Knipfer *et al.*, 2015; Skelton *et al.*, 2017b; Creek *et al.*, 2018). Ces résultats suggèrent même que c'est la perte de conductance au niveau de la tige induite par embolie, puis ensuite le potentiel de

récupération de la conductance de la tige qui déterminent le potentiel de récupération des échanges gazeux.

Ces résultats amènent à considérer la capacité de récupération de la conductance de la tige –après embolie– comme un mécanisme central dans la résilience hydraulique. Trois mécanismes, plus ou moins étayés, existent : le remplissage des vaisseaux par pression positive, le remplissage des vaisseaux sous tension, et la croissance secondaire permettant la mise en place d'un nouveau xylème et donc de nouveaux vaisseaux. Par remplissage des vaisseaux (*vessel refilling*) j'entends un mécanisme permettant de chasser l'air d'un vaisseau issu d'une embolie, et le remplacer par de l'eau permettant la remise en fonction du vaisseau vis-à-vis de la fonction de conduction. Le remplissage des vaisseaux par pression (poussée racinaire) est un phénomène qui a déjà été mis en évidence et qui est peu controversé (Knipfer *et al.*, 2015; Charrier *et al.*, 2016; Gleason *et al.*, 2017). Cependant, ce mécanisme n'est effectif que pour quelques mètres au-dessus du sol, et ne peut pas être un mécanisme valable dans le cas d'arbustes, d'arbres, ou de lianes. Le remplissage des vaisseaux sous tension suggère que des cellules métaboliquement actives autour de vaisseaux embolisés pourraient permettre de les remplir d'eau (Brodersen and McElrone, 2013). De plus, l'embolie d'un vaisseau à cause de la défaillance de la membrane de la ponctuation est associée à la déflexion, l'assèchement et le retrait (*shrinking*) de la membrane, qui est probablement un mécanisme irréversible (Tixier *et al.*, 2014; Jansen *et al.*, 2018). Cette hypothèse constitue l'une des plus grandes controverses traversant la discipline, et tend à être de moins en moins corroborée. Enfin, la mise en place de nouveaux vaisseaux par croissance secondaire a déjà été montrée comme étant associée à la récupération de la conduction de la tige après embolie (Brodrribb *et al.*, 2010; Choat *et al.*, 2015; Creek *et al.*, 2018).

2. Les traits ou mécanismes de résistance à la sécheresse

Ici, la résistance à la sécheresse est uniquement entendue dans son acception au sens strict, comme la maximisation de la capacité de survie face à un stress hydrique, qui concrètement se matérialise par la maximisation du temps de dessiccation. Les traits de résistance à la sécheresse sont discutés uniquement dans cette perspective.

La résistance à l'embolie

La maintenance de la capacité d'approvisionnement en eau du système hydraulique dépend grandement de sa résistance à la perte de conduction avec de fortes tensions. Dans le cas du xylème, que cela soit de la tige ou de la feuille, cette capacité dépend essentiellement de la

résistance à l'embolie, mesurée par le P_{50} . Un faisceau d'indices suggère que le P_{50} du xylème des axes ligneux est un trait central dans la résistance à la sécheresse sur la base de trois grands types d'approches.

- (i) Sur la base d'expérimentations en serres en conditions contrôlées, avec une exposition à un long stress hydrique suivie d'une phase de réhydratation pour étudier la capacité de récupération des plants, plusieurs études (Brodribb and Cochard, 2009; Brodribb *et al.*, 2010; Urli *et al.*, 2013) ont montré que le P_{50} pour les gymnospermes et le P_{88} pour les angiospermes correspondent à peu près au point de non-retour, c.-à-d. que passés ce point les plants ont définitivement perdu la capacité de récupérer leur fonctionnement et sont condamnés à mourir par sécheresse. Face à un stress défini en temps et en intensité Barigah *et al.* (2013) ont montré que le taux de mortalité était fortement corrélé au taux de perte de conductance chez le peuplier et le hêtre. Sur un design expérimental similaire, Blackman *et al.* (2019b) ont récemment montré que le P_{50} est très corrélé au temps de dessiccation chez 8 espèces d'*Eucalyptus*.
- (ii) Sur la base de méta-analyses, les résultats de Adams *et al.* (2017) et Anderegg *et al.* (2016) suggèrent que la résistance à l'embolie est le meilleur prédicteur de la mortalité par sécheresse (Fig. 27). Adams *et al.* (2017) se sont basés que sur des expérimentations en serre et ont montré en particulier que le seuil de mortalité est associé à une perte supérieure à 60% de conductance. Anderegg *et al.* (2016) se sont basés sur l'observation de la mortalité par sécheresse dans diverses communautés végétales dans le monde, et ont montré que le P_{50} est le seul prédicteur de cette mortalité avec cinq autres traits fonctionnels testés. Dans le même ordre d'idées Anderegg *et al.* (2015) ont montré que le même déficit hydrique climatique seuil est associé à la fois à la perte brutale de conductivité et une augmentation brutale de la mortalité dans des populations de peuplier tremble sur 200 km².
- (iii) Chez quelques genres de gymnospermes (Pittermann *et al.*, 2012; Larter *et al.*, 2017) ont montré que le P_{50} peut évoluer en réponse à la pression de sélection associée à l'augmentation des niveaux de sécheresse durant le changement climatique du cénozoïque. De plus, la distribution des valeurs de P_{50} restent très fortement associée aux forts gradients d'aridité à l'échelle régionale (Pittermann *et al.*, 2012; Larter *et al.*, 2015, 2017). Enfin, le P_{50} est globalement corrélée aux grands types de végétations (Méditerranéen, désert, forêt tempérée, forêt tropicale sèche, forêt

tropicale humide), aux précipitations moyennes annuelles, aux températures annuelles moyennes, et à l'évapotranspiration potentielle (Maherali *et al.*, 2004).

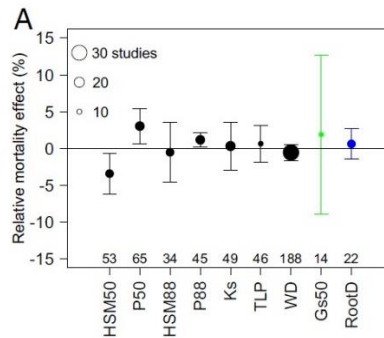


Fig. 27: Pouvoir prédictif de différents traits dans la mortalité des arbres en lien avec la sécheresse sur la base d'une méta-analyse. Changement dans l'anomalie de mortalité par changement d'unité du trait considéré. P50 : potentiel hydrique du xylème de la tige induisant 50% de perte de conductivité ; HSM50 : différence entre le potentiel hydrique foliaire minimum et P50 ; P88 : idem que P50 mais en considérant 88% de perte de conductivité ; HSM88 : idem que HSM50 mais en considérant P88 ; Ks : conductivité spécifique du xylème, traduit l'efficacité de conduction de xylème ; TLP : potentiel hydrique de la feuille à la perte de turgescence ; WD : densité du bois ; Gs50 : potentiel hydrique de la feuille à 50% de perte de conductance stomatique ; RootD : profondeur d'enracinement. Tiré de Anderegg *et al.* 2016.

La résistance à l'embolie peut aussi être appréciée au travers de l'idée d'une marge de sécurité hydraulique (HSM, pour *hydraulic safety margin*) qui est la différence entre le potentiel hydrique foliaire minimum Ψ_{md} (généralement mesuré au midi solaire, au pic de la saison sèche, et traduisant le niveau de stress hydrique expérimenté par la plante) et le P₅₀, tel que :

$$HSM = \Psi_{md} - P_{50}$$

Les potentiels hydriques étant négatifs, plus la marge de sécurité est élevée, plus la valeur associée est positivement grande. Théoriquement, plus cette marge est élevée, plus la résistance à la sécheresse est maximisée. Choat *et al.* (2012) et Delzon et Cochard (2014) ont montré dans une méta-analyse que 70% des espèces avait une marge de sécurité relativement faible (~1 MPa), relativement constante au travers des biomes (méditerranéen, forêt tempérée, forêt tropicale sèche, forêt tropicale humide), suggérant que l'ensemble des forêts était soumis à la même vulnérabilité à la sécheresse (Fig. 28). Cependant, l'intégration des données de P₅₀ n'a pas forcément fait l'objet d'un contrôle strict au regard des potentiels biais méthodologiques (Cochard *et al.*, 2013; Torres-Ruiz *et al.*, 2017) qui étaient moins connus à l'époque, menant à de potentiels surestimation du P₅₀ (surestimation de la vulnérabilité). La méta-analyse de Anderegg *et al.* (2016) suggère que la marge de sécurité est un prédicteur aussi prédictif que le P₅₀ de la mortalité par sécheresse à travers le monde.

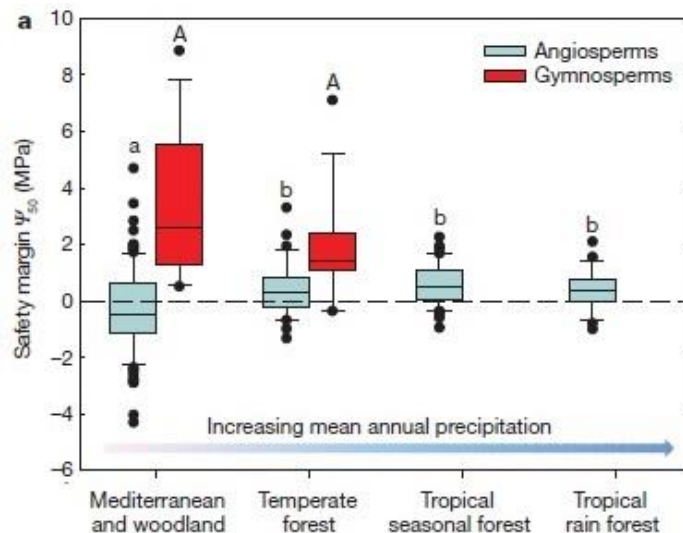


Fig. 28: Variation des moyennes de marge de sécurité (différence entre le potentiel hydrique foliaire minimum et le potentiel hydrique du xylème de la tge induisant 50% de perte de conductivité). Tiré de Choat et al. 2012.

La régulation stomatique et la perte de turgescence des feuilles

Dans la perspective de la résistance à la sécheresse, le point de perte de turgescence (Ψ_{tlp}) et le point de fermeture stomatique ($g_{s,closure}$) peuvent être considérés ensemble, comme similaire. D'un point de vue théorique, le point de perte de turgescence caractérise un changement d'état hydrique de la feuille. Le potentiel hydrique de la feuille descendue en dessous de ce point implique généralement une forte augmentation de la capacitance C , avec le passage d'une capacitance en turgescence C_{ft} (pour *full turgor*) à une capacitance en plasmolyse C_{tlp} (pour *turgor loss point*). La capacitance C_{tlp} étant plus importante, cela implique une perte plus importante de masse d'eau contenue dans la feuille par unité de potentiel hydrique. Passé ce point, s'il n'y a pas une forte régulation stomatique qui intervient, la déshydratation de la feuille devient beaucoup plus rapide. De plus, l'ouverture des stomates augmente avec la pression de turgescence des cellules de garde (Buckley, 2005). D'un point de vue expérimental, Ψ_{tlp} et $g_{s,closure}$ ont souvent été montré comme étant fortement corrélés (Brodrribb and Holbrook, 2003b; Bartlett *et al.*, 2016a), voir comme à peu près égaux (Brodrribb *et al.*, 2003; Rodriguez-Dominguez *et al.*, 2016; Bartlett *et al.*, 2016a). Ces résultats ont amené un petit changement de paradigme dans la discipline, en utilisant Ψ_{tlp} comme un substitut direct de $g_{s,closure}$ (Martin-StPaul *et al.*, 2017), le premier étant beaucoup plus facile à mesurer que le second.

La régulation stomatique et le point de fermeture stomatique (ou Ψ_{tlp}) sont théoriquement et respectivement un mécanisme et un trait de résistance à la sécheresse. Plus la fermeture stomatique interviendra tôt, ou à un potentiel hydrique foliaire élevé, plus les pertes en eau seront minimisées tôt, et plus le temps de dessiccation sera maximisé (Blackman *et al.*,

2016; Martin-StPaul *et al.*, 2017). Pour une capacitance et un niveau de perte résiduelle en eau donnés, cela se matérialise par la différence entre $g_{s,closure}$ et P_{50} , tel que plus cette différence est grande, plus l'intervalle de potentiels hydriques à parcourir avant la mort par dessiccation est grand. La coordination entre le P_{50} du xylème de la tige et $g_{s,closure}$ a souvent été questionnée, selon deux grands points de vue. Soit la sélection naturelle maximise constamment les échanges de gaz et la productivité, en évitant tout de même la dessiccation en cas de stress hydrique, ce qui présuppose une forte corrélation positive entre P_{50} et $g_{s,closure}$, et l'idée que ces deux traits suivent la même trajectoire évolutive (Jones and Sutherland, 1991; Cruiziat *et al.*, 2002; Sperry, 2004; Sperry and Love, 2015; Sperry *et al.*, 2016, 2017; Brodribb and McAdam, 2017). Soit la sélection naturelle maximise le temps de dessiccation, ce qui présuppose une maximisation de la différence entre P_{50} et $g_{s,closure}$, donc une relative indépendance entre les deux traits.

Plusieurs études ont effectivement montré une corrélation positive entre P_{50} et $g_{s,closure}$, que cela soit dans une étude de cas (Chen *et al.*; Brodribb *et al.*, 2003; Li *et al.*, 2016a; Pivovarov *et al.*, 2018) ou dans une méta-analyse (Klein, 2014; Bartlett *et al.*, 2016a). Deux études de cas n'ont cependant pas trouvé de relation (Skelton *et al.*, 2015; Santiago *et al.*, 2018). Cependant, dans leur méta-analyse sur un jeu de données plus robuste Martin-StPaul *et al.* (2017) montrent que P_{50} et $g_{s,closure}$ sont plutôt découplés que coordonnés, et suggèrent que la coordination apparente dans les précédentes études est liée à un cas très contextuel (Brodribb *et al.*, 2003; Li *et al.*, 2016a) ou bien des gammes de P_{50} relativement faibles (Klein, 2014; Bartlett *et al.*, 2016a). Martin-StPaul *et al.* (2017) montrent en effet que le potentiel hydrique de fermeture stomatique ne peut descendre en dessous d'une limite absolue de ~ -3 MPa, avec un modèle suggérant que dépasser cette limite conduirait à une mort rapide en conditions de sécheresse. P_{50} et $g_{s,closure}$ sont effectivement corrélés à une large échelle interspécifique pour $g_{s,closure} > \sim -3$ MPa et $P_{50} > \sim -6$ MPa, mais en dessous de ces seuils, $g_{s,closure}$ ne varie plus et reste proche de -3 MPa. De plus, la méta-analyse de Martin-StPaul *et al.* (2017) montrent clairement que la fermeture stomatique intervient toujours avant le P_{50} , et même l'apparition des premières embolies ($\sim P_{12}$). Ce constat avait déjà été fait, sous le terme de contrôle stomatique, dans des études de cas centrées généralement sur une espèce, en étudiant la relation entre la courbe de sensibilité stomatique et la courbe de vulnérabilité du xylème (p. ex. Cochard *et al.*, 1996; Lemoine *et al.*, 2002; Cochard, 2002b; Cruiziat *et al.*, 2002; Hochberg *et al.*, 2017).

La méta-analyse de Anderegg *et al.* (2016) suggère que le point de fermeture stomatique n'est pas un prédicteur de la mortalité associée à la sécheresse. Blackman *et al.* (2019b) ont montré en conditions contrôlées sur des espèces d'*Eucalyptus* que le point de fermeture stomatique était un prédicteur du temps de dessiccation. Chen *et al.* (2010) ont montré sur une

expérience de sécheresse à long terme, que la marge de sécurité entre P_{50} et $g_{s,closure}$ était positivement corrélée au taux de survie, en accord avec les conclusions de Martin-StPaul *et al.* (2017).

Les pertes résiduelles en eau

La perte résiduelle en eau c.-à-d. l'évaporation totale malgré la fermeture des stomates, notamment médiée par la conductance foliaire minimum, est théoriquement impliquée dans la résistance à la sécheresse. Pour un intervalle donné entre P_{50} et $g_{s,closure}$, et pour une réserve en eau donnée, la conductance minimum déterminera directement le temps nécessaire à vider cette réserve en eau et donc dessécher la plante.

Du fait de l'intérêt tout récent que porte la communauté des hydrauliciens à la conductance minimum (Duursma *et al.*, 2019; Fig. 29), les études portant sur le lien entre résistance à la sécheresse et la conductance minimum sont encore rares. La première étude envisageant cette question est certainement celle de Gleason *et al.* (2014), où les auteurs montrent que les pertes en eau résiduelle (intégrant à la fois la tige et les feuilles) expliquent une part significative du temps de dessiccation de branches excisées, tel que de faibles taux d'évaporation maximisent ce temps. Par un modèle mécanistique intégré (SurEau), Martin-StPaul *et al.* (2017) et Duursma *et al.* (2019) ont montré que la conductance minimum influe sur la vitesse de diminution de potentiels hydriques lors d'un stress, et donc sur le temps de dessiccation. Cependant, Blackman *et al.* (2019b) n'ont pas trouvé de relation entre la conductance foliaire minimum et le temps de dessiccation en conditions contrôlées sur des espèces d'*Eucalyptus*.

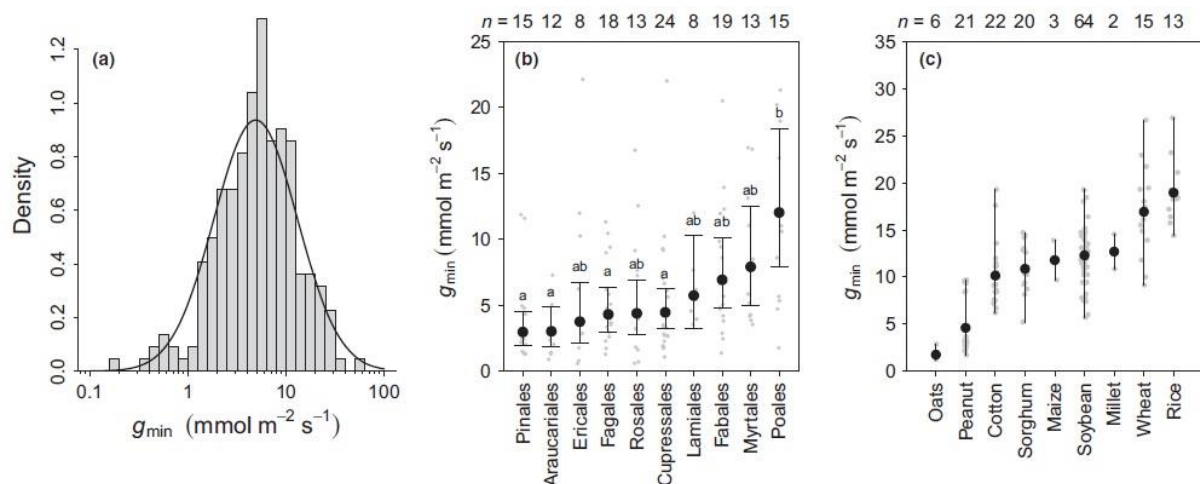


Fig. 29: Variation globale de g_{min} (conductance foliaire minimum) sur la base d'une méta-analyse. (a) Distribution globale de g_{min} pour 221 espèces. (b) Variation globale de g_{min} en fonction du clade. (c) Variation de g_{min} en fonction des principales plantes cultivées. n correspond au nombre d'espèces considérées. Tiré de Duursma *et al.* 2018.

Cochard (2019) a proposé un mécanisme potentiel selon lequel la cuticule –par laquelle s’opèrent des pertes résiduelles en eau- serait sensible à une transition de phase induite par la température. Une telle transition de phase impacterait fortement la perméabilité de la cuticule, tel que celle-ci augmenterait à forte température, durant une vague de chaleur par exemple. À partir du modèle développé par Martin-StPaul *et al.* (2017) et Duursma *et al.* (2019), Cochard (2019) suggère qu’une telle transition de phase induite par la température aurait une forte incidence sur le taux de diminution du potentiel hydrique dans la plante lors d’une sécheresse, et donc en dernier lieu sur le temps de dessiccation qui serait dramatiquement raccourci. Cette première suggestion par modélisation place cette sensibilité par température à la transition de phase de la cuticule comme un trait clé de résistance à la sécheresse. Pour le moment, aucune étude expérimentale n’existe permettant d’apprécier la variabilité de ce trait, ou la relation entre ce trait et la résistance à la sécheresse des espèces.

Les pertes résiduelles en eau de la plante sont à la fois contrôlées par la transpiration des feuilles et celle de l’écorce. La conductance foliaire minimum commence à être étudiée dans la perspective de la résistance à la sécheresse, cela est moins le cas pour la conductance de l’écorce. Quelques études, peu conduites dans la perspective de l’hydraulique des plantes, suggèrent que c’est un trait soumis à variation, avec des valeurs du même ordre de grandeur que la conductance foliaire minimum (Wittmann and Pfan, 2008; Beikircher and Mayr, 2013). D’un côté, la conductance de l’écorce peut être vue comme peu déterminante dans l’évaporation totale après la fermeture des stomates. En effet, les feuilles représentent l’écrasante majorité de la surface totale d’une plante exposée à l’atmosphère. D’un autre côté, la conductance de l’écorce pourrait avoir un rôle déterminant pour la résistance à la sécheresse, notamment dans la perspective de la segmentation et le mécanisme de valve de sécurité entre les feuilles et la tige, ou lors de la sénescence associée à la sécheresse. En effet, lorsqu’une plante perd en surface foliaire évaporante à cause de la segmentation, ou perd physiquement ses feuilles par sénescence, la majorité ou la totalité des pertes en eau deviennent médiées par l’écorce. Dans cette configuration, le taux de diminution du potentiel hydrique de la plante et le temps de dessiccation sont plus directement contrôlés par la conductance de l’écorce. Cependant, il n’existe pour le moment aucune étude conduite dans cette perspective.

Le stockage

Le stockage de l’eau est un mécanisme directement impliqué dans la résistance à la sécheresse. Le cas le plus emblématique en est sûrement les plantes succulentes (Cactaceae, Crassulaceae, Didieraceae...) ou des arbres comme le Baobab (*Adansonia spp.* L., Malvaceae), dont leur

stratégie de résistance à la sécheresse est largement basée sur le stockage de l'eau, notamment grâce à d'importants volumes de parenchymes (Chapotin *et al.*, 2006). Pour un intervalle donné entre P_{50} et $g_{s,closure}$, et pour un taux donné de perte résiduelle en eau, le volume total d'eau en réserve dans les tissus et mobilisable dans le flux évaporatif déterminera directement le temps nécessaire pour déshydrater totalement la plante. Cette réserve en eau sera elle-même déterminée par le volume total de tissu de tige et/ou de feuilles, ainsi que par la capacitance C de ces différents tissus.

Même si la capacitance en tant que telle est étudiée depuis relativement longtemps par la communauté des hydrauliciens (Tyree and Yang, 1990; Goldstein *et al.*, 1998; Meinzer, 2002; Meinzer *et al.*, 2008, 2009; Mcculloh *et al.*, 2014; Pivovarovoff *et al.*, 2016; Santiago *et al.*, 2018), les études portant sur le lien entre capacitance et résistance à la sécheresse sont relativement rares. Cependant, plusieurs études suggèrent indirectement un tel lien. Il a en effet été montré une relation positive entre la capacitance et le potentiel hydrique foliaire minimum Ψ_{MD} expérimentée par une plante, montrant que la capacitance permet de tamponner un stress hydrique en maintenant des potentiels hydriques foliaires et/ou de tige relativement élevés (Borchert, 1994; Stratton *et al.*, 2000; Scholz *et al.*, 2007; Meinzer *et al.*, 2008, 2009; Zhang *et al.*, 2013). Borchert et Pockman (2005) ont certainement été les premiers à montrer – indirectement- un tel lien, avec une relation entre la capacitance et la capacité de réhydratations de branches soumises à un stress hydrique. Gleason *et al.* (2014) ont montré que la capacitance de la branche entière expliquait une part significative du temps de dessiccation de cette même branche. L'expérimentation de Blackman *et al.* (2019a) en conditions contrôlées suggère une relation entre la capacitance des feuilles et le temps de dessiccation des plants. Cependant, sur le même dispositif Blackman *et al.* (2019b) n'ont pas trouvé de relation entre la capacitance de la tige et le temps de dessiccation des plants. Une explication possible est que la capacitance deviendrait pertinente pour des volumes plus importants de tissu, pouvant délivrer des quantités significatives d'eau. De plus, la capacitance est positivement corrélée à la taille des plantes (Scholz *et al.*, 2011).

L'enracinement

Le contenu en eau extractible, ou le potentiel hydrique du sol, ne sont pas homogènes dans le sol. La disponibilité en eau augmente généralement avec la profondeur, du fait de la distance avec l'interface sol-atmosphère qui est le site de la transpiration du sol. De plus, lorsqu'un sol est occupé par une végétation, les premiers horizons du sol seront aussi plus rapidement exploités, du fait que les plantes s'enracinent à partir de l'interface sol-atmosphère. Étant donné

que les racines représentent le site d'absorption de l'eau et déterminent le flux entrant dans la plante, la maximisation de l'absorption est positivement déterminée par la biomasse racinaire, notamment en racines fines, ainsi que par la profondeur d'enracinement. En conditions de sécheresse, les plantes maximisant la biomasse racinaire et/ou la profondeur d'enracinement seront théoriquement avantagées. De ce fait, la biomasse racinaire et la profondeur d'enracinement peuvent être envisagées comme des traits de résistance à la sécheresse.

La quantification de ces traits représente une grande difficulté en raison de l'inaccessibilité du sous-sol. L'estimation de la profondeur d'enracinement se base sur la correspondance entre la composition isotopique de la sève et l'eau du sol, tel que plus la profondeur augmente plus les isotopes rares (^2H et ^{18}O) diminuent en concentration. Ainsi $\delta^2\text{H}$ et $\delta^{18}\text{O}$ (‰) diminuent généralement avec la profondeur du sol (Ehleringer and Dawson, 1992). De plus, la quantification de ces traits n'est généralement pertinente qu'en végétation « naturelle », puisqu'en conditions contrôlées la taille définie des pots de culture limite l'expansion racinaire. Cela complique d'autant plus l'investigation du lien entre résistance à la sécheresse des plantes et les traits racinaires, puisque la majorité des études quantifiant la résistance à la sécheresse se basent sur des expérimentations en conditions contrôlées. Les études faisant un lien direct entre la résistance à la sécheresse des plantes et la profondeur d'enracinement sont à ma connaissance très rares. Padilla et Pugnaire (2007) ont pu montrer que la profondeur d'enracinement était positivement corrélée à la survie de plantules durant une saison sèche en méditerranée. Fensham et Fairfax (2007) ont pu montrer que la surface basale des racines était liée à la survie d'arbre *Eucalyptus* après une sécheresse. Cependant, quelques études proposent des suggestions indirectes, en quantifiant au moins la tolérance à la sécheresse. En effet, la profondeur d'enracinement a plusieurs fois été montrée comme corrélée à des potentiels hydriques foliaires plus élevés (Stahl *et al.*, 2013), notamment en conditions de stress hydrique ou de sécheresse (Jackson *et al.*, 1995; Nardini *et al.*, 2016; Pivovarov *et al.*, 2016; Brum *et al.*, 2017), ainsi qu'à une limitation de la perte des feuilles induite par sécheresse (Meinzer *et al.*, 1999; Clément *et al.*, 2019).

La figure 30 résume la plupart des traits évoqués dans cette revue impliqués dans la réponse à la sécheresse.

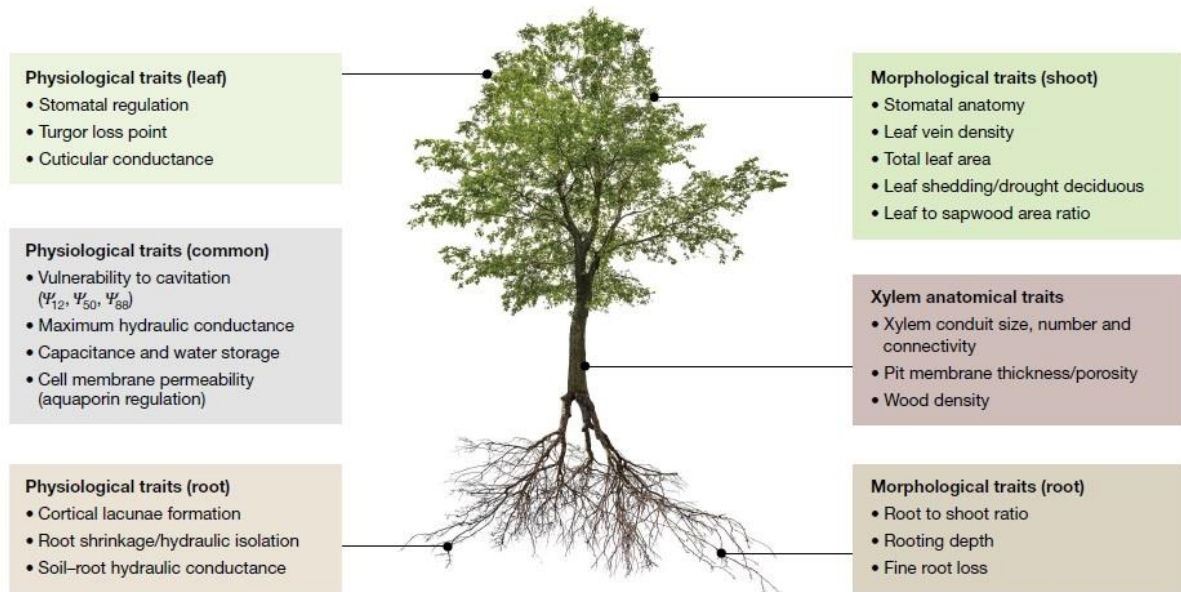


Fig. 30: Résumé des traits physiologiques (à gauche) et morpho-anatomiques impliqués dans la résistance à la sécheresse *lato sensu*. Tiré de Choat et al. 2018.

3. Spectre et stratégie de résistance à la sécheresse, séquence de potentiels

Spectre et stratégie des résistances à la sécheresse

La partie précédente a permis de mettre en lumière le fait que la résistance à sécheresse est un phénotype complexe, entendu comme étant le produit de plusieurs mécanismes (P_{50} , $g_{s,closure}$, capacitance, pertes résiduelles en eau, enracinement) sous-jacents : l'expression particulière de chacun de ces mécanismes ainsi que l'interaction entre ces mécanismes. De plus, des traits comme le point de perte de conductance (P_{50} pour le xylème), les pertes résiduelles en eau, ou la capacitance sont des traits pouvant être mesurés pour les feuilles, les tiges, et les racines. Or, on a vu que la variation entre organes pouvait avoir une signification fonctionnelle propre, y compris dans la perspective de la résistance à la sécheresse. Cette décomposition entre organes démultiplie le nombre d'arrangements entre traits liés à la résistance à la sécheresse théoriquement possible. Cette multiplicité de traits à amener la communauté des hydrauliciens à questionner l'existence d'un spectre de résistance à la sécheresse (*drought resistance spectrum*), même s'il n'est pas exprimé en ces termes par la dite communauté, mais plutôt par la communauté des écologues (Reich, 2014). À l'instant du spectre d'économie foliaire (*leaf economics spectrum* ; Wright *et al.*, 2004), il est question ici d'identifier les grandes stratégies de résistance à la sécheresse définie comme une association particulière de traits. Si de grandes stratégies sont définissables, il existera des associations de traits plus probables et donc plus fréquentes que d'autres, conférant *a priori* une plus grande *fitness* (au moins dans la dimension de la survie de la performance écologique).

Cependant, comme on l'a vu, les traits de résistance à la sécheresse sont presque tous difficiles à capturer, nécessitant généralement beaucoup plus de temps et de moyens que les traits usuellement mesurés en écologie fonctionnelle (Kattge *et al.*, 2011; Díaz *et al.*, 2016). De ce fait, réussir à combiner plusieurs de ces traits dans une même étude de cas dans la perspective d'identifier les stratégies de résistance à la sécheresse est un exploit en soit. Quelques-unes de ces études existent cependant. Santiago *et al.* (2018) ont réussi à assembler pour 14 espèces d'arbres d'Amazonie guyanaise le P_{50} du xylème de la tige, Ψ_{tlp} , la capacitance de la tige, et le ratio $A_L:A_S$. Ils ont trouvé seulement une relation positive entre Ψ_{tlp} et la capacitance, suggérant que les espèces à forte capacitance sont celles qui ferment leurs stomates tôt en réponse à un stress hydrique. Cette étude suggère donc un large espace morpho-fonctionnel défini par les quatre traits cités précédemment. Pivovarovoff *et al.* (2016) ont réussi à assembler pour 15 espèces ligneuses du chaparral californien le P_{50} du xylème de la tige, la capacitance de la tige, la profondeur d'enracinement, et le ratio $A_L:A_S$. Les auteurs ont seulement montré qu'un fort ratio $A_L:A_S$ était associé à une vulnérabilité à l'embolie du xylème, suggérant par la même occasion comme Santiago *et al.* (2018) que l'espace morpho-fonctionnel défini par leurs traits de résistance à la sécheresse était large. Ces deux études suggèrent ensemble qu'il existe de multiples stratégies de résistance à la sécheresse sur un site donné. Une autre étude intègre plusieurs traits de résistance à la sécheresse (P_{50} du xylème de la tige, P_{50} du xylème de la feuille, $g_{s,closure}$, la capacitance de la tige, et la conductance foliaire minimum) pour huit espèces d'*Eucalyptus* (Blackman *et al.*, 2019b), mais ne focalisent pas directement sur la coordination entre traits. La réanalyse de leurs données suggère une forte corrélation entre les traits : les espèces vulnérables à l'embolie (feuille ou tige) sont associées à une forte capacitance et à une fermeture des stomates intervenant tôt. Les espèces à forte capacitance sont aussi les espèces fermant leurs stomates tôt. Cependant, la conductance foliaire minimum n'est corrélée qu'avec la capacitance, tel que les espèces à fortes capacitances possèdent de faibles conductances foliaires minimum. Ce haut degré de corrélation peut être le fait que l'on considère des espèces congénériques et/ou que les espèces considérées proviennent dans l'ensemble d'un milieu aride, maximisant certainement la résistance à la sécheresse.

D'autres suggestions viennent sinon de la méta-analyse. La méta-analyse de Bartlett *et al.* (2016a), basée sur 310 espèces, dont 262 d'angiospermes, est la seule méta-analyse faite à ma connaissance dans le but d'analyser la coordination entre plusieurs traits de résistance à la sécheresse. Les auteurs ont notamment montré une corrélation positive entre le P_{50} du xylème de la tige d'un côté, et Ψ_{tlp} et $g_{s,closure}$ de l'autre, suggérant que les espèces résistantes à l'embolie ferment leurs stomates plus tard. Les auteurs ont aussi montré qu'il y avait une relation positive

entre le P_{50} de la tige et le P_{50} de la racine, et le P_{50} de la tige et le potentiel hydrique foliaire induisant 50% de perte de conductance foliaire ($K_{\text{leaf}P_{50}}$). Sur une méta-analyse plus récente, mais plus centrée sur le fonctionnement de la feuille, Scoffoni *et al.* (2017c) ont montré qu'il y a une relation positive entre $K_{\text{leaf}P_{50}}$ et Ψ_{tlp} , suggérant que les feuilles les plus résistantes à la perte de conductance induite par sécheresse ferment leurs stomates plus tard. En accord avec cela, les auteurs ont aussi montré que le potentiel hydrique induisant 50% de perte de conductance stomatique était supérieur ou égal à $K_{\text{leaf}P_{50}}$. Enfin, les auteurs ont montré une corrélation positive entre le P_{50} du xylème de la tige et $K_{\text{leaf}P_{50}}$ à partir de ce qui est certainement le jeu de données le plus complet à ce jour. Cependant, cette relation est associée à une forte dispersion, en accord avec l'idée de la segmentation de vulnérabilité.

Enfin, d'autres suggestions proviennent d'étude de cas se centrant sur deux ou trois grands traits de la résistance à la sécheresse. Nous avons déjà discuté de la coordination entre le P_{50} du xylème de la tige et $g_{s,\text{closure}}$, avec plusieurs études montrant que les espèces résistantes à l'embolie tentent à fermer leurs stomates plus tard (Chen *et al.*, 2010; Brodrigg *et al.*, 2003; Klein, 2014; Li *et al.*, 2016a; Pivovarov *et al.*, 2018), et d'autres non (Skelton *et al.*, 2015; Santiago *et al.*, 2018; Ziegler *et al.*, 2019). Martin-StPaul *et al.* (2017) ont statué sur la question en montrant que $g_{s,\text{closure}}$ reste indépendant et constant à -3 MPa pour un P_{50} inférieur à ~ -5 MPa (Fig. 31). La relation entre le P_{50} et la capacitance de la tige est une dimension qui a aussi souvent été investie, avec plusieurs études suggérant que les espèces vulnérables à l'embolie sont généralement associées à une forte capacitance (Pratt *et al.*, 2007; Sperry *et al.*, 2008; Meinzer *et al.*, 2008, 2009; Scholz *et al.*, 2011; Mcculloh *et al.*, 2014). Concernant l'enracinement, Blum et Tuberosa (2018) ont montré, pour 15 espèces de forêts tropicales sèches, une corrélation entre Ψ_{tlp} , la variation saisonnière de g_s , et la profondeur d'enracinement, tel que les espèces à enracinement peu profond exercent un plus fort contrôle stomatique en fermant leur stomate plus tôt lors d'un stress hydrique. Mis à part l'étude de Blackman *et al.* (2019b), aucune autre étude à ma connaissance ne permet de discuter du lien entre la conductance foliaire minimum et les autres traits de résistance à la sécheresse.

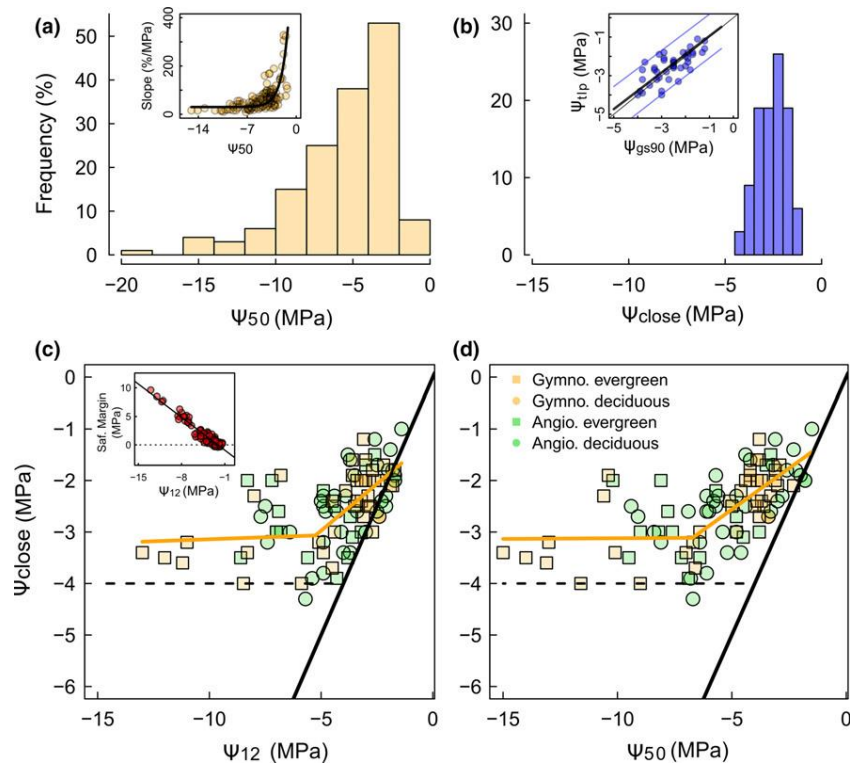


Fig. 31: Relations entre la régulation stomatique et la résistance à l'embolie sur la base d'une méta-analyse. (a) Distribution globale du potentiel hydrique du xylème de la tige induisant 50% de perte de conductivité. (b) Distribution globale du potentiel hydrique à la fermeture des stomates (estimé soit à pour 90% de perte de conductance stomatique, soit à la perte de turgescence). (c) Relation entre le potentiel hydrique à la fermeture des stomates et les potentiels hydrique induisant 12% de perte de conductivité. (d) Relation entre le potentiel hydrique à la fermeture des stomates et les potentiels hydrique induisant 50% de perte de conductivité. (c, d) La droite 1 : 1 est tracée en noir. Tiré de Martin-St-Paul et al. 2017.

Séquence de potentiels hydriques clés

Le fait que la majorité des traits de résistance à la sécheresse soient des potentiels hydriques discrets des tissus de la plante, induisant une modification dans le fonctionnement hydraulique (perte de conductance, perte de capacité de récupération), à amener à modéliser la séquence des potentiels hydriques parcourus par la plante avant la mort par dessèchement. L'idée avec une telle séquence est donc d'identifier pour chaque espèce, ou pour l'ensemble des espèces (1) les potentiels hydriques clés associés à la résistance à la sécheresse, et (2) l'ordre de ces potentiels, définissant la séquence, entre le point de commencement d'un stress hydrique et le potentiel hydrique létal, tel que la connaissance du statut hydrique de la plante à n'importe quel moment t permettrait d'apprécier où se situe la plante sur sa trajectoire de résistance à la sécheresse.

Cette idée de séquence a certainement été introduite par la méta-analyse de Bartlett *et al.* (2016a). Leur séquence intègre les potentiels hydriques associés à la perte de conductance du xylème de la tige, la perte de conductance de la feuille, la perte de conductance stomatique, le point de perte de turgescence, le potentiel hydrique foliaire minimum, et le potentiel hydrique létal (Fig. 32). Le début de la séquence sera défini par le passage de la plante à un état de stress

hydrique, généralement lui-même défini comme le début de la régulation stomatique. Globalement, à l'échelle de l'ensemble des espèces analysées, les pertes de conductances stomatiques et foliaires interviennent en premières à peu près dans le même temps, suivies de la fermeture des stomates, suivie du point associé à 50% de perte de conductance dans la tige, puis enfin le potentiel hydrique létale très similaire à la P_{88} . Récemment John *et al.* (2018) et Trueba *et al.* (2019) ont complété cette séquence, en étudiant une dizaine d'espèces, en y intégrant les potentiels hydriques foliaires associés à la perte de capacité de réhydratation des feuilles, et à la perte de fluorescence de chlorophylle, indiquant l'efficacité quantique de photochimie du photosystème II. Les résultats de ces deux études suggèrent que la perte de capacité de réhydratation des feuilles et la perte de fluorescence de la chlorophylle arrivent dans le même temps, en fin de séquence entre le P_{50} et la P_{88} de la tige.

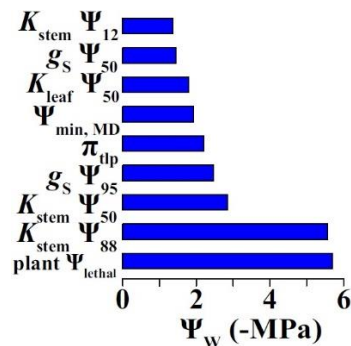


Fig. 32: Séquence de potentiels hydriques en lien avec la résistance à la sécheresse sur la base d'une méta-analyse. $K_{stem} \Psi_{12}$: potentiel hydrique de la tige induisant 12% de perte de conductivité ; $g_s \Psi_{50}$: potentiel hydrique foliaire induisant 50% de perte de conductance stomatique ; $K_{leaf} \Psi_{50}$: potentiel hydrique foliaire induisant 50% de perte de conductance foliaire ; $\Psi_{min, MD}$: potentiel hydrique foliaire minimum, mesuré au zénith ; π_{tip} : potentiel hydrique foliaire au point de perte de turgescence ; $g_s \Psi_{95}$: potentiel hydrique foliaire à 95% de perte de conductance stomatique. $K_{stem} \Psi_{50}$: potentiel hydrique de la tige à 50% de perte de conductivité ; $K_{stem} \Psi_{88}$: potentiel hydrique de la tige à 88% de perte de conductivité ; plant Ψ_{lethal} : potentiel hydrique à la mort de la plante. Tiré de Bartlett et al. 2016.

Aujourd'hui, les méta-analyses et études de cas robustes récentes suggèrent très fortement la séquence suivante : (1) que la perte de conductance stomatique, la perte de conductance foliaire du compartiment extraxylémien, et la perte de conductance foliaire totale arrivent entre premier lieu et dans le même temps (Scoffoni *et al.*, 2017a,c), mais qu'il soit peu probable que la perte de conductance stomatique arrive après la perte de conductance foliaire totale (Scoffoni *et al.*, 2017c) ; (2) que la fermeture stomatique précède toujours l'apparition de l'embolie dans le xylème de la tige (P_{12})(Martin-StPaul *et al.*, 2017) ; (3) que la perte de conduction du xylème de la feuille se place entre la perte de conductance foliaire totale et la perte de conductance du xylème de la tige (Hochberg *et al.*, 2016b; Scoffoni *et al.*, 2017a; Rodriguez-Dominguez *et al.*, 2018; Skelton *et al.*, 2018), en lien avec la segmentation hydraulique ; (4) que le P_{88} de la tige et le potentiel létal arrivent en dernier lieu, en ce qui

concerne les angiospermes (Urli *et al.*, 2013; Blackman *et al.*, 2019a). Les études futures sur cette séquence devront : (1) mieux identifier la séquence entre les points de fermeture des stomates, de perte de conductance foliaire totale, et de perte de conductance du xylème des feuilles ; (2) comment les différentes phases de capacitances (capillaire, élastique, liée à l'embolie ; en turgescence ou en plasmolyse) sont structurées par ses potentiels hydriques clés, et comment elles influent sur la relation entre potentiel hydrique et contenu relatif en eau ; (3) dans quelle mesure cette séquence généralement définie sur la base de moyennes pour plusieurs espèces reste valide pour une espèce donnée (Fig. 34).

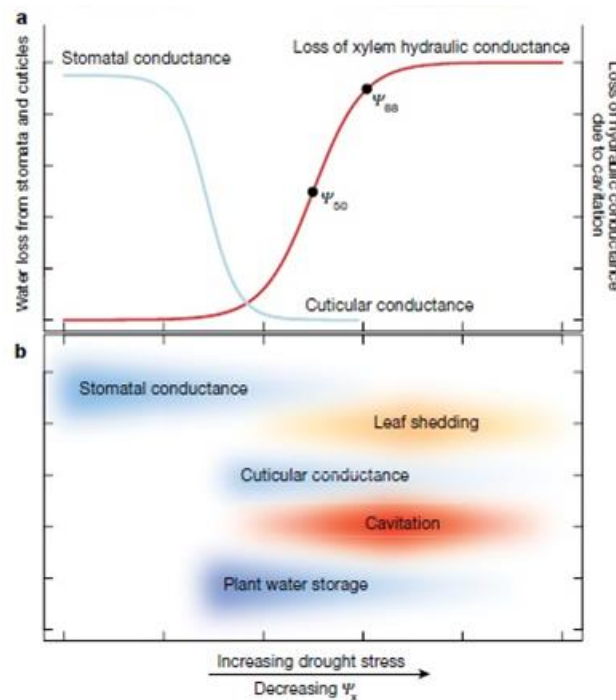


Fig. 33: Réponse moyenne à la sécheresse. (a) En moyenne, la fermeture des stomates en réponse à la diminution du potentiel hydrique intervient avant l'apparition d'embolies. (b) Schéma conceptuel de la séquence des réponses à la sécheresse. La fermeture stomatique intervient globalement en première, les pertes en résiduelle suite à cette réponse deviennent principalement médiées par la conductance foliaire minimum. L'eau stockée dans les tissus de la plante peut permettre de limiter la chute de potentiel hydrique. Lorsque le stress devient important, certaines plantes peuvent perdre leurs feuilles pour minimiser au maximum l'évapotranspiration. Enfin, l'embolie intervient lorsque le potentiel hydrique de la plante devient trop faible, pouvant conduire à la mort. Tiré de Choat et al. 2018.

BIBLIOGRAPHIE

- Aasamaa K, Söber A, Rahi M.** 2001. Leaf anatomical characteristics associated with shoot hydraulic conductance, stomatal conductance and stomatal sensitivity to changes of leaf water status in temperate deciduous trees. *Functional Plant Biology* **28**, 765–774.
- Adams WWI, Terashima I (Eds.).** 2018. *The Leaf: A Platform for Performing Photosynthesis*. Springer International Publishing.
- Adams HD, Zeppel MJB, Anderegg WRL, et al.** 2017. A multi-species synthesis of physiological mechanisms in drought-induced tree mortality. *Nature Ecology and Evolution*.
- Alder NN, Pockman WT, Sperry JS, Nuismer S.** 1997. Use of centrifugal force in the study of xylem cavitation. *Journal of Experimental Botany* **48**, 665–674.
- Anderegg WRL, Flint A, Huang C, Flint L, Berry JA, Davis FW, Sperry JS, Field CB.** 2015. Tree mortality predicted from drought-induced vascular damage. *Nature Geoscience* **8**, 367–371.
- Anderegg WRL, Klein T, Bartlett M, Sack L, Pellegrini AFA, Choat B, Jansen S.** 2016. Meta-analysis reveals that hydraulic traits explain cross-species patterns of drought-induced tree mortality across the globe. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **113**, 5024–5029.
- Anfodillo T, Carraro V, Carrer M, Fior C, Rossi S.** 2006. Convergent tapering of xylem conduits in different woody species. *New Phytologist* **169**, 279–290.
- Anfodillo T, Di Bisceglie DP, Urso T.** 2002. Minimum cuticular conductance and cuticle features of *Picea abies* and *Pinus cembra* needles along an altitudinal gradient in the Dolomites (NE Italian Alps). *Tree Physiology* **22**, 479–487.
- Anfodillo T, Petit G, Crivellaro A.** 2013. Axial conduit widening in woody species: a still neglected anatomical pattern. *IAWA Journal* **34**, 352–364.
- Aranda I, Gil L, Pardos JA.** 2005. Seasonal changes in apparent hydraulic conductance and their implications for water use of European beech (*Fagus sylvatica* L.) and sessile oak [*Quercus petraea* (Matt.) Liebl] in South Europe. *Plant Ecology* **179**, 155–167.
- Askenasy E.** 1895. *Über das Saftsteigen*. Carl Winter.
- Baas P, Ewers FW, Davis SD, Wheeler EA.** 2004. 15 - Evolution of xylem physiology. *The Evolution of Plant Physiology*. Oxford: Academic Press, 273–295.
- Ball RA, Oosterhuis DM.** 2005. Measurement of root and leaf osmotic potential using the vapor-pressure osmometer. *Environmental and Experimental Botany* **53**, 77–84.
- Barigah TS, Charrier O, Douris M, Bonhomme M, Herbette S, Améglio T, Fichot R, Brignolas F, Cochard H.** 2013. Water stress-induced xylem hydraulic failure is a causal factor of tree mortality in beech and poplar. *Annals of Botany* **112**, 1431–1437.
- Bartlett, Klein, Jansen, Choat, Sack L.** 2016a. The correlations and sequence of plant stomatal, hydraulic, and wilting responses to drought. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **113**, 13098–13103.
- Bartlett MK, Scoffoni C, Ardy R, Zhang Y, Sun S, Cao K, Sack L.** 2012a. Rapid determination of comparative drought tolerance traits: using an osmometer to predict turgor loss point. *Methods in Ecology and Evolution* **3**, 880–888.
- Bartlett MK, Scoffoni C, Sack L.** 2012b. The determinants of leaf turgor loss point and prediction of drought tolerance of species and biomes: a global meta-analysis. *Ecology Letters* **15**, 393–405.
- Bartlett, Zhang, Yang, Kreidler, Sun, Lin L, Hu Y-H, Cao K-F, Sack L.** 2016b. Drought tolerance as a driver of tropical forest assembly: resolving spatial signatures for multiple processes. *Ecology* **97**, 503–514.
- Beeckman H.** 2016. Wood anatomy and trait-based ecology. *IAWA Journal* **37**, 127–151.
- Beikircher B, Mayr S.** 2013. Winter peridermal conductance of apple trees: lammas shoots and spring shoots compared. *Trees* **27**, 707–715.
- Bettiati D, Petit G, Anfodillo T.** 2012. Testing the equi-resistance principle of the xylem transport system in a small ash tree: empirical support from anatomical analyses. *Tree Physiology* **32**, 171–177.
- Blackman CJ, Brodribb TJ, Jordan GJ.** 2009. Leaf hydraulics and drought stress: response, recovery and survivorship in four woody temperate plant species. *Plant, Cell & Environment* **32**, 1584–1595.
- Blackman CJ, Creek D, Maier C, et al.** 2019a. Drought response strategies and hydraulic traits contribute to mechanistic understanding of plant dry-down to hydraulic failure. *Tree Physiology*.
- Blackman CJ, Li X, Choat B, Rymer PD, Kauwe MGD, Duursma RA, Tissue DT, Medlyn BE.** 2019b. Desiccation time during drought is highly predictable across species of *Eucalyptus* from contrasting climates. *New Phytologist* **0**.
- Blackman CJ, Pfautsch S, Choat B, Delzon S, Gleason SM, Duursma RA.** 2016. Toward an index of desiccation time to tree mortality under drought. *Plant, Cell & Environment* **39**, 2342–2345.
- Blum A, Tuberosa R.** 2018. Dehydration survival of crop plants and its measurement. *Journal of Experimental Botany* **69**, 975–981.
- Böhm J.** 1893. Capillarität und Saftsteigen. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* **11**, 203–212.

- Borchert R.** 1994. Soil and Stem Water Storage Determine Phenology and Distribution of Tropical Dry Forest Trees. *Ecology* **75**, 1437–1449.
- Borchert R, Pockman WT.** 2005. Water storage capacitance and xylem tension in isolated branches of temperate and tropical trees. *Tree Physiology* **25**, 457–466.
- Bouche PS, Delzon S, Choat B, et al.** 2016. Are needles of *Pinus pinaster* more vulnerable to xylem embolism than branches? New insights from X-ray computed tomography. *Plant, Cell & Environment* **39**, 860–870.
- Boyer JS.** 1967a. Leaf Water Potentials Measured with a Pressure Chamber. *Plant Physiology* **42**, 133–137.
- Boyer JS.** 1967b. Matric Potentials of Leaves. *Plant Physiology* **42**, 213–217.
- Boyer JS.** 1995. *Measuring the water status of plants and soils*. Academic Press, Inc.
- Boyer JS, Kramer PJ.** 1995. *Water relations of plants and soils*. Academic Press, Inc.
- Brodersen C, McElrone A.** 2013. Maintenance of xylem Network Transport Capacity: A Review of Embolism Repair in Vascular Plants. *Frontiers in Plant Science* **4**.
- Brodrribb TJ.** 2009. Xylem hydraulic physiology: The functional backbone of terrestrial plant productivity. *Plant Science* **177**, 245–251.
- Brodrribb TJ, Bienaimé D, Marmottant P.** 2016a. Revealing catastrophic failure of leaf networks under stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **113**, 4865–4869.
- Brodrribb, Bowman, Nichols, Delzon, Burlett.** 2010. Xylem function and growth rate interact to determine recovery rates after exposure to extreme water deficit. *New Phytologist* **188**, 533–542.
- Brodrribb TJ, Carriqui M, Delzon S, Lucani C.** 2017. Optical Measurement of Stem Xylem Vulnerability. *Plant Physiology* **174**, 2054–2061.
- Brodrribb TJ, Cochard H.** 2009. Hydraulic Failure Defines the Recovery and Point of Death in Water-Stressed Conifers. *Plant Physiology* **149**, 575–584.
- Brodrribb TJ, Feild TS.** 2000. Stem hydraulic supply is linked to leaf photosynthetic capacity: evidence from New Caledonian and Tasmanian rainforests. *Plant, Cell & Environment* **23**, 1381–1388.
- Brodrribb TJ, Feild TS, Jordan GJ.** 2007. Leaf Maximum Photosynthetic Rate and Venation Are Linked by Hydraulics. *Plant Physiology* **144**, 1890–1898.
- Brodrribb TJ, Holbrook NM.** 2003a. Changes in leaf hydraulic conductance during leaf shedding in seasonally dry tropical forest. *New Phytologist* **158**, 295–303.
- Brodrribb, Holbrook.** 2003b. Stomatal Closure during Leaf Dehydration, Correlation with Other Leaf Physiological Traits. *Plant Physiology* **132**, 2166–2173.
- Brodrribb TJ, Holbrook NM, Edwards EJ, Gutiérrez MV.** 2003. Relations between stomatal closure, leaf turgor and xylem vulnerability in eight tropical dry forest trees. *Plant, Cell & Environment* **26**, 443–450.
- Brodrribb TJ, Holbrook NM, Gutiérrez MV.** 2002. Hydraulic and photosynthetic co-ordination in seasonally dry tropical forest trees. *Plant, Cell & Environment* **25**, 1435–1444.
- Brodrribb TJ, Holbrook NM, Zwieniecki MA, Palma B.** 2005. Leaf hydraulic capacity in ferns, conifers and angiosperms: impacts on photosynthetic maxima. *New Phytologist* **165**, 839–846.
- Brodrribb TJ, McAdam SAM.** 2017. Evolution of the Stomatal Regulation of Plant Water Content. *Plant Physiology* **174**, 639–649.
- Brodrribb TJ, Skelton RP, McAdam SAM, Bienaimé D, Lucani CJ, Marmottant P.** 2016b. Visual quantification of embolism reveals leaf vulnerability to hydraulic failure. *New Phytologist* **209**, 1403–1409.
- Brown HR.** 2013. The theory of the rise of sap in trees: some historical and conceptual remarks. *Physics in Perspective* **15**, 320–358.
- Brum M, Teodoro GS, Abrahão A, Oliveira RS.** 2017. Coordination of rooting depth and leaf hydraulic traits defines drought-related strategies in the campos rupestres, a tropical montane biodiversity hotspot. *Plant and Soil* **420**, 467–480.
- Bucci SJ, Goldstein G, Scholz FG, Meinzer FC.** 2016. Physiological Significance of Hydraulic Segmentation, Nocturnal Transpiration and Capacitance in Tropical Trees: Paradigms Revisited. In: Goldstein G., In: Santiago LS, eds. *Tree Physiology. Tropical Tree Physiology: Adaptations and Responses in a Changing Environment*. Cham: Springer International Publishing, 205–225.
- Bucci SJ, Scholz FG, Campanello PI, et al.** 2012. Hydraulic differences along the water transport system of South American *Nothofagus* species: do leaves protect the stem functionality? *Tree Physiology* **32**, 880–893.
- Buckley TN.** 2005. The control of stomata by water balance. *New Phytologist* **168**, 275–292.
- Buckley TN.** 2019. How do stomata respond to water status? *New Phytologist* **224**, 21–36.
- Buckley TN, John GP, Scoffoni C, Sack L.** 2015. How Does Leaf Anatomy Influence Water Transport outside the Xylem? *Plant Physiology* **168**, 1616–1635.
- Buckley TN, John GP, Scoffoni C, Sack L.** 2017. The Sites of Evaporation within Leaves. *Plant Physiology* **173**, 1763–1782.

- Burdon RD, Kibblewhite RP, Walker JCF, Megraw RA, Evans R, Cown DJ.** 2004. Juvenile Versus Mature Wood: A New Concept, Orthogonal to Corewood Versus Outerwood, with Special Reference to *Pinus radiata* and *P. taeda*. *Forest Science* **50**, 399–415.
- Cai J, Li S, Zhang H, Zhang S, Tyree MT.** 2014. Recalcitrant vulnerability curves: methods of analysis and the concept of fibre bridges for enhanced cavitation resistance. *Plant, Cell & Environment* **37**, 35–44.
- Campanello PI, Gatti MG, Goldstein G.** 2008. Coordination between water-transport efficiency and photosynthetic capacity in canopy tree species at different growth irradiances. *Tree Physiology* **28**, 85–94.
- Carlquist.** 1984. Vessel grouping in dicotyledon wood: Significance and relationship to imperforate tracheary elements. Aliso.
- Carlquist S.** 2001. *Comparative Wood Anatomy: Systematic, Ecological, and Evolutionary Aspects of Dicotyledon Wood*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- Carlquist S.** 2007. Bordered pits in ray cells and axial parenchyma: the histology of conduction, storage, and strength in living wood cells. *Botanical Journal of the Linnean Society* **153**, 157–168.
- Chapotin SM, Razanameharizaka JH, Holbrook NM.** 2006. Water relations of baobab trees (*Adansonia* spp. L.) during the rainy season: does stem water buffer daily water deficits? *Plant, Cell & Environment* **29**, 1021–1032.
- Charra-Vaskou K, Badel E, Burlett R, Cochard H, Delzon S, Mayr S.** 2012. Hydraulic efficiency and safety of vascular and non-vascular components in *Pinus pinaster* leaves. *Tree Physiology* **32**, 1161–1170.
- Charrier G, Torres-Ruiz JM, Badel E, et al.** 2016. Evidence for hydraulic vulnerability segmentation and lack of xylem refilling under tension. *Plant Physiology*, pp.01079.2016.
- Chave J, Coomes D, Jansen S, Lewis SL, Swenson NG, Zanne AE.** 2009. Towards a worldwide wood economics spectrum. *Ecology Letters* **12**, 351–366.
- Chen Z, Li S, Luan J, Zhang Y, Zhu S, Wan X, Liu S.** Prediction of temperate broadleaf tree species mortality in arid limestone habitats with stomatal safety margins. *Tree Physiology*.
- Chen J-W, Zhang Q, Li X-S, Cao K-F.** 2009. Independence of stem and leaf hydraulic traits in six Euphorbiaceae tree species with contrasting leaf phenology. *Planta* **230**, 459–468.
- Chen J-W, Zhang Q, Li X-S, Cao K-F.** 2010. Gas exchange and hydraulics in seedlings of *Hevea brasiliensis* during water stress and recovery. *Tree Physiology* **30**, 876–885.
- Choat B, Badel E, Burlett R, Delzon S, Cochard H, Jansen S.** 2016. Noninvasive Measurement of Vulnerability to Drought-Induced Embolism by X-Ray Microtomography. *Plant Physiology* **170**, 273–282.
- Choat B, Brodersen CR, McElrone AJ.** 2015. Synchrotron X-ray microtomography of xylem embolism in *Sequoia sempervirens* saplings during cycles of drought and recovery. *New Phytologist* **205**, 1095–1105.
- Choat B, Cobb AR, Jansen S.** 2008. Structure and function of bordered pits: new discoveries and impacts on whole-plant hydraulic function. *New Phytologist* **177**, 608–626.
- Choat B, Jansen S, Brodribb TJ, et al.** 2012. Global convergence in the vulnerability of forests to drought. *Nature* **491**, 752–755.
- Christman MA, Sperry JS.** 2010. Single-vessel flow measurements indicate scalariform perforation plates confer higher flow resistance than previously estimated. *Plant, Cell & Environment* **33**, 431–443.
- Christman MA, Sperry JS, Adler FR.** 2009. Testing the ‘rare pit’ hypothesis for xylem cavitation resistance in three species of *Acer*. *New Phytologist* **182**, 664–674.
- Christman MA, Sperry JS, Smith DD.** 2012. Rare pits, large vessels and extreme vulnerability to cavitation in a ring-porous tree species. *New Phytologist* **193**, 713–720.
- Clément C, Pierret A, Maeght J-L, Hartmann C, Xayyathip K, Soullieuth B, Sounyafong P, Latsachack K, Thammahacksa C, Sengtaheuanghoung O.** 2019. Linking tree-rooting profiles to leaf phenology: a first attempt on *Tectona Grandis* Linn F. *Trees*.
- Cochard H.** 2002a. A technique for measuring xylem hydraulic conductance under high negative pressures. *Plant, Cell & Environment* **25**, 815–819.
- Cochard H.** 2002b. Xylem embolism and drought-induced stomatal closure in maize. *Planta* **215**, 466–471.
- Cochard H.** 2019. A new mechanism for tree mortality due to drought and heatwaves. *bioRxiv*, 531632.
- Cochard H, Badel E, Herbette S, Delzon S, Choat B, Jansen S.** 2013. Methods for measuring plant vulnerability to cavitation: a critical review. *Journal of Experimental Botany*, ert193.
- Cochard H, Bréda N, Granier A.** 1996. Whole tree hydraulic conductance and water loss regulation in *Quercus* during drought: evidence for stomatal control of embolism? *Annales des Sciences Forestières* **53**, 197–206.
- Cochard H, Bréda N, Granier A, Aussenac G.** 1992a. Vulnerability to air embolism of three European oak species (*Quercus petraea* (Matt) Liebl, *Q pubescens* Willd, *Q robur* L). *Annales des Sciences Forestières* **49**, 225–233.

- Cochard H, Cruiziat P, Tyree MT.** 1992*b*. Use of Positive Pressures to Establish Vulnerability Curves: Further Support for the Air-Seeding Hypothesis and Implications for Pressure-Volume Analysis. *Plant Physiology* **100**, 205–209.
- Cochard H, Froux F, Mayr S, Coutand C.** 2004. Xylem Wall Collapse in Water-Stressed Pine Needles. *Plant Physiology* **134**, 401–408.
- Cochard H, Tyree MT.** 1990. Xylem dysfunction in *Quercus*: vessel sizes, tyloses, cavitation and seasonal changes in embolism. *Tree Physiology* **6**, 393–407.
- Coomes DA, Heathcote S, Godfrey ER, Shepherd JJ, Sack L.** 2008. Scaling of xylem vessels and veins within the leaves of oak species., Scaling of xylem vessels and veins within the leaves of oak species. *Biology Letters*, *Biology Letters* **4**, 4, 302, 302–306.
- Copeland EB.** 1902. The Rise of the Transpiration Stream: An Historical and Critical Discussion. *Botanical Gazette* **34**, 161–193.
- Cowan IR, Troughton JH.** 1971. The relative role of stomata in transpiration and assimilation. *Planta* **97**, 325–336.
- Creek D, Blackman CJ, Brodribb TJ, Choat B, Tissue DT.** 2018. Coordination between leaf, stem, and root hydraulics and gas exchange in three arid-zone angiosperms during severe drought and recovery. *Plant, Cell & Environment* **41**, 2869–2881.
- Cruiziat P, Cochard H, Améglio T.** 2002. Hydraulic architecture of trees: main concepts and results. *Annals of Forest Science* **59**, 723–752.
- Darwin F.** 1898. IX. Observations on stomata. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character* **190**, 531–621.
- Delzon S.** 2015. New insight into leaf drought tolerance. *Functional Ecology* **29**, 1247–1249.
- Delzon S, Cochard H.** 2014. Recent advances in tree hydraulics highlight the ecological significance of the hydraulic safety margin. *New Phytologist* **203**, 355–358.
- Delzon S, Douthe C, Sala A, Cochard H.** 2010. Mechanism of water-stress induced cavitation in conifers: bordered pit structure and function support the hypothesis of seal capillary-seeding. *Plant, Cell & Environment* **33**, 2101–2111.
- Delzon S, Sartore M, Granier A, Loustau D.** 2004. Radial profiles of sap flow with increasing tree size in maritime pine. *Tree Physiology* **24**, 1285–1293.
- Díaz S, Kattge J, Cornelissen JHC, et al.** 2016. The global spectrum of plant form and function. *Nature* **529**, 167–171.
- Dixon HH.** 1914. *Transpiration and the ascent of sap in plants*. London, Macmillan and co., limited.
- Dixon H, Joly J.** 1895. On the ascent of sap. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*.
- Duursma RA, Blackman CJ, López R, Martín-StPaul NK, Cochard H, Medlyn BE.** 2019. On the minimum leaf conductance: its role in models of plant water use, and ecological and environmental controls. *New Phytologist* **221**, 693–705.
- Ehleringer JR, Dawson TE.** 1992. Water uptake by plants: perspectives from stable isotope composition. *Plant, Cell & Environment* **15**, 1073–1082.
- Eisner NJ, Gilman EF, Grabosky J, Beeson RC.** 2002. Branch junction characteristics affect hydraulic segmentation in red maple. *Journal of Arboriculture* **28**, 245–251.
- Ellmore GS, Zanne AE, Orians CM.** 2006. Comparative sectoriality in temperate hardwoods: hydraulics and xylem anatomy. *Botanical Journal of the Linnean Society* **150**, 61–71.
- Evert RF.** 2006. *Esau's Plant Anatomy: Meristems, Cells, and Tissues of the Plant Body: Their Structure, Function, and Development*. John Wiley & Sons.
- Farquhar GD, Schulze ED, Koppers M.** 1980. Responses to humidity by stomata of *Nicotiana glauca* L. and *Corylus avellana* L. are consistent with the optimization of carbon dioxide uptake with respect to water loss. *Australian Journal of Plant Physiology* **7**, 315–327.
- Fensham RJ, Fairfax RJ.** 2007. Drought-related tree death of savanna eucalypts: Species susceptibility, soil conditions and root architecture. *Journal of Vegetation Science* **18**, 71–80.
- 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 Phytologist* **202**, 79–94.
- Franks PJ.** 2006. Higher rates of leaf gas exchange are associated with higher leaf hydrodynamic pressure gradients. *Plant, Cell & Environment* **29**, 584–592.
- Gardiner B, Barnett J, Saranpää P, Gril J (Eds.).** 2014. *The Biology of Reaction Wood*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- Gleason SM, Blackman CJ, Cook AM, Laws CA, Westoby M.** 2014. Whole-plant capacitance, embolism resistance and slow transpiration rates all contribute to longer desiccation times in woody angiosperms from arid and wet habitats. *Tree Physiology* **34**, 275–284.

- Gleason SM, Westoby M, Jansen S, et al.** 2016. Weak tradeoff between xylem safety and xylem-specific hydraulic efficiency across the world's woody plant species. *New Phytologist* **209**, 123–136.
- Gleason SM, Wiggans DR, Bliss CA, Young JS, Cooper M, Willi KR, Comas LH.** 2017. Embolized Stems Recover Overnight in *Zea mays*: The Role of Soil Water, Root Pressure, and Nighttime Transpiration. *Frontiers in Plant Science* **8**.
- Goldstein G, Andrade JL, Meinzer FC, Holbrook NM, Cavelier J, Jackson P, Celis A.** 1998. Stem water storage and diurnal patterns of water use in tropical forest canopy trees. *Plant, Cell & Environment* **21**, 397–406.
- Grier CC, Vogt KA, Keyes MR, Edmonds RL.** 1981. Biomass distribution and above- and below-ground production in young and mature *Abies amabilis* zone ecosystems of the Washington Cascades. *Canadian Journal of Forest Research* **11**, 155–167.
- Guerrero-Galán C, Houdinet G, Calvo-Polanco M, Bonaldi KE, Garcia K, Zimmermann SD.** 2018. Chapter Ten - The Role of Plant Transporters in Mycorrhizal Symbioses. In: Maurel C, ed. *Membrane Transport in Plants*. Advances in Botanical Research. Academic Press, 303–342.
- Hacke U, Sauter JJ.** 1996. Drought-Induced Xylem Dysfunction in Petioles, Branches, and Roots of *Populus balsamifera* L. and *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. *Plant Physiology* **111**, 413–417.
- Hacke UG, Spicer R, Schreiber SG, Plavcová L.** 2016. An ecophysiological and developmental perspective on variation in vessel diameter. *Plant, Cell & Environment*.
- Hao G-Y, Hoffmann WA, Scholz FG, Bucci SJ, Meinzer FC, Franco AC, Cao K-F, Goldstein G.** 2008. Stem and leaf hydraulics of congeneric tree species from adjacent tropical savanna and forest ecosystems. *Oecologia* **155**, 405–415.
- Helmholtz H.** 1874. Ueber galvanische Polarisation in gasfreien Flüssigkeiten. *Annalen der Physik* **226**, 483–495.
- Herbette S, Bouchet B, Brunel N, Bonnin E, Cochard H, Guillon F.** 2015. Immunolabelling of intervessel pits for polysaccharides and lignin helps in understanding their hydraulic properties in *Populus tremula* × *alba*. *Annals of Botany* **115**, 187–199.
- Herbette S, Cochard H.** 2010. Calcium Is a Major Determinant of Xylem Vulnerability to Cavitation. *Plant Physiology* **153**, 1932–1939.
- Hochberg U, Albuquerque C, Rachmilevitch S, Cochard H, David-Schwartz R, Brodersen CR, McElrone A, Windt CW.** 2016a. Grapevine petioles are more sensitive to drought induced embolism than stems: evidence from in vivo MRI and microcomputed tomography observations of hydraulic vulnerability segmentation. *Plant, Cell & Environment* **39**, 1886–1894.
- Hochberg U, Albuquerque C, Rachmilevitch S, Cochard H, David-Schwartz R, Brodersen CR, McElrone A, Windt CW.** 2016b. Grapevine petioles are more sensitive to drought induced embolism than stems: evidence from in vivo MRI and microcomputed tomography observations of hydraulic vulnerability segmentation. *Plant, Cell & Environment* **39**, 1886–1894.
- Hochberg U, Windt CW, Ponomarenko A, Zhang Y-J, Gersony J, Rockwell FE, Holbrook NM.** 2017. Stomatal Closure, Basal Leaf Embolism, and Shedding Protect the Hydraulic Integrity of Grape Stems. *Plant Physiology* **174**, 764–775.
- Holbrook NM, Ahrens ET, Burns MJ, Zwieniecki MA.** 2001. In Vivo Observation of Cavitation and Embolism Repair Using Magnetic Resonance Imaging. *Plant Physiology* **126**, 27–31.
- Honert TH van den.** 1948. Water transport in plants as a catenary process. *Discussions of the Faraday Society* **3**, 146–153.
- Hubbard RM, Ryan MG, Stiller V, Sperry JS.** 2001. Stomatal conductance and photosynthesis vary linearly with plant hydraulic conductance in ponderosa pine. *Plant, Cell & Environment* **24**, 113–121.
- Huber B.** 1928. *Weitere quantitative Untersuchungen über das Wasserleitungssystem der Pflanzen.*
- Jackson PC, Cavelier J, Goldstein G, Meinzer FC, Holbrook NM.** 1995. Partitioning of water resources among plants of a lowland tropical forest. *Oecologia* **101**, 197–203.
- Jacobsen AL, Pratt RB, Venturas MD, Hacke UG.** 2019. Large volume vessels are vulnerable to water-stress-induced embolism in stems of poplar. *IAWA Journal* **40**, 4-S4.
- Jansen S, Baas P, Gasson P, Lens F, Smets E.** 2004. Variation in xylem structure from tropics to tundra: Evidence from vestured pits. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **101**, 8833–8837.
- Jansen S, Baas P, Gasson P, Smets E.** 2003. Vestured Pits: Do They Promote Safer Water Transport? *International Journal of Plant Sciences* **164**, 405–413.
- Jansen S, Choat B, Pletsers A.** 2009. Morphological variation of intervessel pit membranes and implications to xylem function in angiosperms. *American Journal of Botany* **96**, 409–419.
- Jansen S, Klepsch M, Li S, Kotowska MM, Schiele S, Zhang Y, Schenk HJ.** 2018. Challenges in understanding air-seeding in angiosperm xylem.
- Jansen S, Lamy J-B, Burlett R, Cochard H, Gasson P, Delzon S.** 2012. Plasmodesmatal pores in the torus of bordered pit membranes affect cavitation resistance of conifer xylem. *Plant, Cell & Environment* **35**, 1109–1120.

- Jansen S, Nardini A.** 2014. From systematic to ecological wood anatomy and finally plant hydraulics: are we making progress in understanding xylem evolution? *New Phytologist* **203**, 12–15.
- Jansen S, Schenk HJ.** 2015. On the ascent of sap in the presence of bubbles. *American Journal of Botany* **102**, 1561–1563.
- John GP, Henry C, Sack L.** 2018. Leaf rehydration capacity: Associations with other indices of drought tolerance and environment. *Plant, Cell & Environment* **41**, 2638–2653.
- Johnson DM, McCulloh KA, Meinzer FC, Woodruff DR, Eissenstat DM, Phillips N.** 2011. Hydraulic patterns and safety margins, from stem to stomata, in three eastern US tree species. *Tree Physiology* **31**, 659–668.
- Johnson DM, Wortemann R, McCulloh KA, Jordan-Meille L, Ward E, Warren JM, Palmroth S, Domec J-C.** 2016. A test of the hydraulic vulnerability segmentation hypothesis in angiosperm and conifer tree species. *Tree Physiology* **36**, 983–993.
- Jones HG, Sutherland RA.** 1991. Stomatal control of xylem embolism. *Plant, Cell & Environment* **14**, 607–612.
- Joyce BJ, Steiner KC.** 1995. Systematic variation in xylem hydraulic capacity within the crown of white ash (*Fraxinus americana*). *Tree Physiology* **15**, 649–656.
- Jupa R, Plavcová L, Gloser V, Jansen S.** 2016. Linking xylem water storage with anatomical parameters in five temperate tree species. *Tree Physiology* **36**, 756–769.
- Kattge J, Díaz S, Lavorel S, et al.** 2011. TRY – a global database of plant traits. *Global Change Biology* **17**, 2905–2935.
- Khurana AK, Chen H, Wall CG.** 1998. Nucleation of Gas Bubbles in Surface Irregularities. *Chemical Engineering Communications* **165**, 199–215.
- Kleiber M.** 1932. Body size and metabolism. *Hilgardia*, 315–332.
- Kleiber M.** 1947. Body size and metabolic rate. *Physiological Reviews* **27**, 511–541.
- Klein T.** 2014. The variability of stomatal sensitivity to leaf water potential across tree species indicates a continuum between isohydric and anisohydric behaviours. *Functional Ecology* **28**, 1313–1320.
- Klepsch MM, Schmitt M, Paul Knox J, Jansen S.** 2016. The chemical identity of intervessel pit membranes in *Acer* challenges hydrogel control of xylem hydraulic conductivity. *AoB Plants* **8**.
- Klepsch M, Zhang Y, Kotowska MM, et al.** 2018. Is xylem of angiosperm leaves less resistant to embolism than branches? Insights from microCT, hydraulics, and anatomy. *Journal of Experimental Botany* **69**, 5611–5623.
- Knipfer T, Cuneo IF, Earles JM, Reyes C, Brodersen CR, McElrone AJ.** 2017. Storage Compartments for Capillary Water Rarely Refill in an Intact Woody Plant. *Plant Physiology* **175**, 1649–1660.
- Knipfer T, Eustis A, Brodersen C, Walker AM, McElrone AJ.** 2015. Grapevine species from varied native habitats exhibit differences in embolism formation/repair associated with leaf gas exchange and root pressure. *Plant, Cell & Environment* **38**, 1503–1513.
- Koch GW, Sillett SC, Jennings GM, Davis SD.** 2004. The limits to tree height. *Nature* **428**, 851.
- Koide RT, Robichaux RH, Morse SR, Smith CM.** 1989. Plant water status, hydraulic resistance and capacitance. In: Percy RW., In: Ehleringer JR., In: Mooney HA., In: Rundel PW, eds. *Plant Physiological Ecology: Field methods and instrumentation*. Dordrecht: Springer Netherlands, 161–183.
- Larter M.** 2016. Evolution de la résistance à la cavitation chez les conifères.
- Larter M, Brodribb TJ, Pfautsch S, Burlett R, Cochard H, Delzon S.** 2015. Extreme Aridity Pushes Trees to Their Physical Limits. *Plant Physiology* **168**, 804–807.
- Larter M, Pfautsch S, Domec J-C, Trueba S, Nagalingum N, Delzon S.** 2017. Aridity drove the evolution of extreme embolism resistance and the radiation of conifer genus *Callitris*. *New Phytologist* **215**, 97–112.
- Lassoie JP.** 1973. Diurnal Dimensional Fluctuations in a Douglas-fir Stem in Response to Tree Water Status. *Forest Science* **19**, 251–255.
- Lawson T, Terashima I, Fujita T, Wang Y.** 2018. Coordination Between Photosynthesis and Stomatal Behavior. In: Adams III WW., In: Terashima I, eds. *Advances in Photosynthesis and Respiration. The Leaf: A Platform for Performing Photosynthesis*. Cham: Springer International Publishing, 141–161.
- Lazzarin M, Crivellaro A, Williams CB, Dawson TE, Mozzi G, Anfodillo T.** 2016. Tracheid and pit anatomy vary in tandem in a tall *Sequoiadendron giganteum* tree. *IAWA Journal* **37**, 172–185.
- Lechthaler S, Gazzabin M, Anfodillo T.** 2018. The hydraulic architecture of the leaf lamina fits an area preserving design. *Acta Horticulturae* **1222**, 43–48.
- Lehnebach R.** 2015. Etude de la variabilité ontogénique du profil ligneux chez quelques espèces forestières tropicales de Guyane Française.
- Lehnebach R, Beyer R, Letort V, Heuret P.** 2018. The pipe model theory half a century on: a review. *Annals of Botany* **121**, 773–795.
- Lehnebach R, Bossu J, Va S, Morel H, Amusant N, Nicolini E, Beauchêne J.** 2019. Wood Density Variations of Legume Trees in French Guiana along the Shade Tolerance Continuum: Heartwood Effects on Radial Patterns and Gradients. *Forests* **10**, 80.

- Lemoine D, Cochard H, Granier A.** 2002. Within crown variation in hydraulic architecture in beech (*Fagus sylvatica* L): evidence for a stomatal control of xylem embolism. *Annals of Forest Science* **59**, 19–27.
- Lens F, Sperry JS, Christman MA, Choat B, Rabaey D, Jansen S.** 2011. Testing hypotheses that link wood anatomy to cavitation resistance and hydraulic conductivity in the genus *Acer*. *New Phytologist* **190**, 709–723.
- Lens F, Vos RA, Charrier G, et al.** 2016. Scalariform-to-simple transition in vessel perforation plates triggered by differences in climate during the evolution of Adoxaceae. *Annals of Botany* **118**, 1043–1056.
- Li S, Feifel M, Karimi Z, Schuldt B, Choat B, Jansen S.** 2016a. Leaf gas exchange performance and the lethal water potential of five European species during drought. *Tree Physiology* **36**, 179–192.
- Li S, Lens F, Espino S, Karimi Z, Klepsch M, Schenk HJ, Schmitt M, Schuldt B, Jansen S.** 2016b. Intervessel pit membrane thickness as a key determinant of embolism resistance in angiosperm xylem. *IAWA Journal* **37**, 152–171.
- Lobo A, Torres-Ruiz JM, Burlett R, et al.** 2018. Assessing inter- and intraspecific variability of xylem vulnerability to embolism in oaks. *Forest ecology and management* **424**, 53–61.
- Loepfe L, Martínez-Vilalta J, Piñol J, Mencuccini M.** 2007. The relevance of xylem network structure for plant hydraulic efficiency and safety. *Journal of Theoretical Biology* **247**, 788–803.
- Magnani F, Mencuccini M, Grace J.** 2000. Age-related decline in stand productivity: the role of structural acclimation under hydraulic constraints. *Plant, Cell & Environment* **23**, 251–263.
- Maherali H, Pockman WT, Jackson RB.** 2004. Adaptive radiation in the vulnerability of woody plants to xylem cavitation. *Ecology* **85**, 2184–2199.
- Maréchaux I, Bartlett M, Sack L, Baraloto C, Engel J, Joetzer E, Chave J, Kitajima J.** 2015. Drought tolerance as predicted by leaf water potential at turgor loss point varies strongly across species within an Amazonian forest. *Functional Ecology* **29**, 1268–1277.
- Martínez-Vilalta J, Cochard H, Mencuccini M, et al.** 2009. Hydraulic adjustment of Scots pine across Europe. *New Phytologist* **184**, 353–364.
- Martínez-Vilalta J, Mencuccini M, Álvarez X, Camacho J, Loepfe L, Piñol J.** 2012. Spatial distribution and packing of xylem conduits. *American Journal of Botany* **99**, 1189–1196.
- Martin-StPaul N, Delzon S, Cochard H.** 2017. Plant resistance to drought depends on timely stomatal closure. *Ecology Letters* **20**, 1437–1447.
- Martorell S, Diaz-Espejo A, Medrano H, Ball MC, Choat B.** 2014. Rapid hydraulic recovery in *Eucalyptus pauciflora* after drought: linkages between stem hydraulics and leaf gas exchange. *Plant, Cell & Environment* **37**, 617–626.
- Maton C, Gartner BL.** 2005. Do gymnosperm needles pull water through the xylem produced in the same year as the needle? *American Journal of Botany* **92**, 123–131.
- Maurel C, Boursiac Y, Luu D-T, Santoni V, Shahzad Z, Verdoucq L.** 2015. Aquaporins in Plants. *Physiological Reviews* **95**, 1321–1358.
- Mayr S, Kartusch B, Kikuta S.** 2014. Evidence for Air-Seeding: Watching the Formation of Embolism in Conifer Xylem. *The journal of plant hydraulics* **1**.
- Mcculloh KA, Johnson DM, Meinzer FC, Voelker SL, Lachenbruch B, Domec J-C.** 2012. Hydraulic architecture of two species differing in wood density: opposing strategies in co-occurring tropical pioneer trees. *Plant, Cell & Environment* **35**, 116–125.
- Mcculloh KA, Johnson DM, Meinzer FC, Woodruff DR.** 2014. The dynamic pipeline: hydraulic capacitance and xylem hydraulic safety in four tall conifer species. *Plant, Cell & Environment* **37**, 1171–1183.
- McDowell N, Barnard H, Bond B, et al.** 2002. The relationship between tree height and leaf area: sapwood area ratio. *Oecologia* **132**, 12–20.
- Medeiros JS, Lens F, Maherali H, Jansen S.** 2019. Vestured pits and scalariform perforation plate morphology modify the relationships between angiosperm vessel diameter, climate and maximum plant height. *New Phytologist* **221**, 1802–1813.
- Meinzer FC.** 2002. Co-ordination of vapour and liquid phase water transport properties in plants. *Plant, Cell & Environment* **25**, 265–274.
- Meinzer FC, Andrade JL, Goldstein G, Holbrook NM, Cavellier J, Wright SJ.** 1999. Partitioning of soil water among canopy trees in a seasonally dry tropical forest. *Oecologia* **121**, 293–301.
- Meinzer FC, Grantz DA.** 1990. Stomatal and hydraulic conductance in growing sugarcane: stomatal adjustment to water transport capacity*. *Plant, Cell & Environment* **13**, 383–388.
- Meinzer FC, Johnson DM, Lachenbruch B, Mcculloh KA, Woodruff DR.** 2009. Xylem hydraulic safety margins in woody plants: coordination of stomatal control of xylem tension with hydraulic capacitance. *Functional Ecology* **23**, 922–930.
- Meinzer FC, Woodruff DR, Domec J-C, Goldstein G, Campanello PI, Gatti MG, Villalobos-Vega R.** 2008. Coordination of leaf and stem water transport properties in tropical forest trees. *Oecologia* **156**, 31–41.

- Mellerowicz EJ, Sundberg B.** 2008. Wood cell walls: biosynthesis, developmental dynamics and their implications for wood properties. *Current Opinion in Plant Biology* **11**, 293–300.
- Mencuccini M, Hölttä T, Petit G, Magnani F.** 2007. Sanio's laws revisited. Size-dependent changes in the xylem architecture of trees. *Ecology Letters* **10**, 1084–1093.
- Messinger SM, Buckley TN, Mott KA.** 2006. Evidence for Involvement of Photosynthetic Processes in the Stomatal Response to CO₂. *Plant Physiology* **140**, 771–778.
- Milburn JA.** 1973. Cavitation Studies on Whole Ricinus Plants by Acoustic Detection. *Planta* **112**, 333–342.
- Morel H, Mangenet T, Beauchêne J, Ruelle J, Nicolini E, Heuret P, Thibaut B.** 2015. Seasonal variations in phenological traits: leaf shedding and cambial activity in *Parkia nitida* Miq. and *Parkia velutina* Benoist (Fabaceae) in tropical rainforest. *Trees* **29**, 973–984.
- Morris H, Plavcová L, Cvecko P, et al.** 2016. A global analysis of parenchyma tissue fractions in secondary xylem of seed plants. *New Phytologist* **209**, 1553–1565.
- Mott KA, Parkhurst DF.** 1991. Stomatal responses to humidity in air and helox. *Plant, Cell & Environment* **14**, 509–515.
- Mott KA, Peak D.** 2010. Stomatal responses to humidity and temperature in darkness. *Plant, Cell & Environment* **33**, 1084–1090.
- Muchow RC, Sinclair TR.** 1989. Epidermal conductance, stomatal density and stomatal size among genotypes of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Plant, Cell & Environment* **12**, 425–431.
- Nardini A, Casolo V, Borgo AD, Savi T, Stenni B, Bertonecin P, Zini L, McDowell NG.** 2016. Rooting depth, water relations and non-structural carbohydrate dynamics in three woody angiosperms differentially affected by an extreme summer drought. *Plant, Cell & Environment* **39**, 618–627.
- Nardini A, Pitt F.** 1999. Drought resistance of *Quercus pubescens* as a function of root hydraulic conductance, xylem embolism and hydraulic architecture. *The New Phytologist* **143**, 485–493.
- Nardini A, Salleo S.** 2005. Water stress-induced modifications of leaf hydraulic architecture in sunflower: coordination with gas exchange. *Journal of Experimental Botany* **56**, 3093–3101.
- Olson ME, Anfodillo T, Rosell JA, Petit G, Crivellaro A, Isnard S, León-Gómez C, Alvarado-Cárdenas LO, Castorena M.** 2014. Universal hydraulics of the flowering plants: vessel diameter scales with stem length across angiosperm lineages, habits and climates. *Ecology Letters* **17**, 988–997.
- Olson ME, Soriano D, Rosell JA, et al.** 2018. Plant height and hydraulic vulnerability to drought and cold. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **115**, 7551–7556.
- Padilla FM, Pugnaire FI.** 2007. Rooting depth and soil moisture control Mediterranean woody seedling survival during drought. *Functional Ecology* **21**, 489–495.
- Pammenter NW, Van der Willigen C.** 1998. A mathematical and statistical analysis of the curves illustrating vulnerability of xylem to cavitation. *Tree Physiology* **18**, 589–593.
- Pan R, Tyree MT.** How does water flow from vessel to vessel? Further investigation of the tracheid bridge concept. *Tree Physiology*.
- Pantin F, Blatt MR.** 2018. Stomatal Response to Humidity: Blurring the Boundary between Active and Passive Movement. *Plant Physiology* **176**, 485–488.
- Peak D, Mott KA.** 2011. A new, vapour-phase mechanism for stomatal responses to humidity and temperature. *Plant, Cell & Environment* **34**, 162–178.
- Pereira L, Bittencourt PRL, Oliveira RS, Junior MBM, Barros FV, Ribeiro RV, Mazzafera P.** 2016. Plant pneumatics: stem air flow is related to embolism – new perspectives on methods in plant hydraulics. *New Phytologist* **211**, 357–370.
- Pereira L, Flores-Borges DNA, Bittencourt PRL, Mayer JLS, Kiyota E, Araújo P, Jansen S, Freitas RO, Oliveira RS, Mazzafera P.** 2018. Infrared Nanospectroscopy Reveals the Chemical Nature of Pit Membranes in Water-Conducting Cells of the Plant Xylem. *Plant Physiology* **177**, 1629–1638.
- Petit G, Anfodillo T.** 2013. Widening of xylem conduits and its effect on the diurnal course of water potential gradients along leaf venations. *Acta horticulturae*.
- Petit G, Anfodillo T, De Zan C.** 2009. Degree of tapering of xylem conduits in stems and roots of small *Pinus cembra* and *Larix decidua* trees. *Botany* **87**, 501–508.
- Petit G, Anfodillo T, Mencuccini M.** 2008. Tapering of xylem conduits and hydraulic limitations in sycamore (*Acer pseudoplatanus*) trees. *New Phytologist* **177**, 653–664.
- Petit G, Crivellaro A.** 2014. Comparative axial widening of phloem and xylem conduits in small woody plants. *Trees* **28**, 915–921.
- Petit G, DeClerck FAJ, Carrer M, Anfodillo T.** 2014. Axial vessel widening in arborescent monocots. *Tree Physiology* **34**, 137–145.
- Petit G, Pfautsch S, Anfodillo T, Adams MA.** 2010. The challenge of tree height in *Eucalyptus regnans*: when xylem tapering overcomes hydraulic resistance. *The New Phytologist* **187**, 1146–1153.

- Pfautsch S, Aspinwall MJ, Drake JE, Chacon-Doria L, Langelaan RJA, Tissue DT, Tjoelker MG, Lens F.** 2018. Traits and trade-offs in whole-tree hydraulic architecture along the vertical axis of *Eucalyptus grandis*. *Annals of Botany* **121**, 129–141.
- Pfautsch S, Renard J, Tjoelker MG, Salih A.** 2015. Phloem as Capacitor: Radial Transfer of Water into Xylem of Tree Stems Occurs via Symplastic Transport in Ray Parenchyma. *Plant Physiology* **167**, 963–971.
- Pickard WF.** 1981. The ascent of sap in plants. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* **37**, 181–229.
- Pittermann J.** 2010. The evolution of water transport in plants: an integrated approach. *Geobiology* **8**, 112–139.
- Pittermann J, Stuart SA, Dawson TE, Moreau A.** 2012. Cenozoic climate change shaped the evolutionary ecophysiology of the Cupressaceae conifers. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **109**, 9647–9652.
- Pivovarov AL, Cook VMW, Santiago LS.** 2018. Stomatal behaviour and stem xylem traits are coordinated for woody plant species under exceptional drought conditions. *Plant, Cell & Environment* **41**, 2617–2626.
- Pivovarov AL, Pasquini SC, Guzman D, E M, Alstad KP, Stemke JS, Santiago LS.** 2016. Multiple strategies for drought survival among woody plant species. *Functional Ecology* **30**, 517–526.
- Pivovarov A, Sack S, Santiago L.** 2014. Coordination of stem and leaf hydraulic conductance in southern California shrubs: a test of the hydraulic segmentation hypothesis. *New Phytologist* **203**, 842–850.
- Plavcová L, Hoch G, Morris H, Ghiasi S, Jansen S.** 2016. The amount of parenchyma and living fibers affects storage of nonstructural carbohydrates in young stems and roots of temperate trees. *American Journal of Botany* **103**, 603–612.
- Plomion C, Leprovost G, Stokes A.** 2001. Wood Formation in Trees. *Plant Physiology* **127**, 1513–1523.
- Poiseuille JL.** 1844. *Recherches experimentales sur le mouvement des liquides dans les tubes de tres-petits diametres*. Imprimerie Royale.
- Pratt RB, Jacobsen AL, Ewers FW, Davis SD.** 2007. Relationships among xylem transport, biomechanics and storage in stems and roots of nine Rhamnaceae species of the California chaparral. *New Phytologist* **174**, 787–798.
- Prendin AL, Mayr S, Beikircher B, von Arx G, Petit G.** 2018. Xylem anatomical adjustments prioritize hydraulic efficiency over safety as Norway spruce trees grow taller. *Tree Physiology* **38**, 1088–1097.
- Rathgeber CBK.** 2017. Conifer tree-ring density inter-annual variability – anatomical, physiological and environmental determinants. *New Phytologist* **216**, 621–625.
- Reich PB.** 1995. Phenology of tropical forests: patterns, causes, and consequences. *Canadian Journal of Botany* **73**, 164–174.
- Reich PB.** 2014. The world-wide ‘fast–slow’ plant economics spectrum: a traits manifesto. *Journal of Ecology* **102**, 275–301.
- Reich PB, Borchert R.** 1984. Water Stress and Tree Phenology in a Tropical Dry Forest in the Lowlands of Costa Rica. *Journal of Ecology* **72**, 61–74.
- Resco V, Ewers BE, Sun W, Huxman TE, Weltzin JF, Williams DG.** 2009. Drought-induced hydraulic limitations constrain leaf gas exchange recovery after precipitation pulses in the C3 woody legume, *Prosopis velutina*. *New Phytologist* **181**, 672–682.
- Richards AE, Wright IJ, Lenz TI, Zanne AE.** 2014. Sapwood capacitance is greater in evergreen sclerophyll species growing in high compared to low-rainfall environments. *Functional Ecology* **28**, 734–744.
- Rodriguez-Dominguez CM, Buckley TN, Egea G, Cires A de, Hernandez-Santana V, Martorell S, Diaz-Espejo A.** 2016. Most stomatal closure in woody species under moderate drought can be explained by stomatal responses to leaf turgor. *Plant, Cell & Environment* **39**, 2014–2026.
- Rodriguez-Dominguez CM, Murphy MRC, Lucani C, Brodrigg TJ.** 2018. Mapping xylem failure in disparate organs of whole plants reveals extreme resistance in olive roots. *New Phytologist* **218**, 1025–1035.
- Rosell JA, Olson ME.** 2014. Do lianas really have wide vessels? Vessel diameter–stem length scaling in non-self-supporting plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **16**, 288–295.
- Roth-Nebelsick A, Uhl D, Mosbrugger V, Kerp H.** 2001. Evolution and Function of Leaf Venation Architecture: A Review. *Annals of Botany* **87**, 553–566.
- Ryan MG, Phillips N, Bond BJ.** 2006. The hydraulic limitation hypothesis revisited. *Plant, Cell & Environment* **29**, 367–381.
- Ryan MG, Waring RH.** 1992. Maintenance Respiration and Stand Development in a Subalpine Lodgepole Pine Forest. *Ecology* **73**, 2100–2108.
- Ryan MG, Yoder BJ.** 1997. Hydraulic Limits to Tree Height and Tree Growth. *BioScience* **47**, 235–242.
- Sack L, Buckley TN, Scoffoni C.** 2016. Why are leaves hydraulically vulnerable? *Journal of Experimental Botany* **67**, 4917–4919.
- Sack L, Cowan PD, Jaikumar N, Holbrook NM.** 2003. The ‘hydrology’ of leaves: co-ordination of structure and function in temperate woody species. *Plant, Cell & Environment* **26**, 1343–1356.
- Sack L, Holbrook NM.** 2006. Leaf Hydraulics. *Annual Review of Plant Biology* **57**, 361–381.

- Sack L, Scoffoni C.** 2013. Leaf venation: structure, function, development, evolution, ecology and applications in the past, present and future. *New Phytologist* **198**, 983–1000.
- Sack L, Scoffoni C, Johnson DM, Buckley TN, Brodribb TJ.** 2015. The Anatomical Determinants of Leaf Hydraulic Function. In: Hacke U, ed. *Functional and Ecological Xylem Anatomy*. Cham: Springer International Publishing, 255–271.
- Sakai S.** 2001. Phenological diversity in tropical forests. *Population Ecology* **43**, 77–86.
- Sanio K.** 1872. Über die grosse der holzzellen bei der gemeinen der kiefer (*Pinus sylvestris*). *J. Wissen. Bot.*, 401–420.
- Santiago LS, Bonal D, De Guzman ME, Ávila-Lovera E.** 2016. Drought Survival Strategies of Tropical Trees. In: Goldstein G., In: Santiago LS, eds. *Tree Physiology. Tropical Tree Physiology: Adaptations and Responses in a Changing Environment*. Cham: Springer International Publishing, 243–258.
- Santiago LS, Guzman MED, Baraloto C, Vogenberg JE, Brodie M, Hérault B, Fortunel C, Bonal D.** 2018. Coordination and trade-offs among hydraulic safety, efficiency and drought avoidance traits in Amazonian rainforest canopy tree species. *New Phytologist* **218**, 1015–1024.
- Šantrůček J, Šimáňová E, Karbalková J, Šimková M, Schreiber L.** 2004. A new technique for measurement of water permeability of stomatous cuticular membranes isolated from *Hedera helix* leaves. *Journal of Experimental Botany* **55**, 1411–1422.
- Schenk HJ.** 2018. Wood: Biology of a living tissue. *American Journal of Botany* **105**, 139–141.
- Schenk HJ, Espino S, Rich-Cavazos S, Jansen S.** 2018. From the sap's perspective: The nature of vessel surfaces in angiosperm xylem. *American Journal of Botany* **105**, 172–185.
- Schenk HJ, Espino S, Romo DM, et al.** 2017. Xylem Surfactants Introduce a New Element to the Cohesion-Tension Theory. *Plant Physiology* **173**, 1177–1196.
- Schenk HJ, Steppe K, Jansen S.** 2015. Nanobubbles: a new paradigm for air-seeding in xylem. *Trends in Plant Science* **20**, 199–205.
- Schmid R, Machado RD.** 1968. Pit membranes in hardwoods—Fine structure and development. *Protoplasma* **66**, 185–204.
- Scholander PF, Bradstreet ED, Hemmingsen EA, Hammel HT.** 1965. Sap Pressure in Vascular Plants: Negative hydrostatic pressure can be measured in plants. *Science* **148**, 339–346.
- Scholander PF, Hammel HT, Hemmingsen EA, Bradstreet ED.** 1964. Hydrostatic Pressure and Osmotic Potential in Leaves of Mangroves and Some Other Plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **52**, 119–125.
- Scholz FG, Bucci SJ, Goldstein G.** 2014. Strong hydraulic segmentation and leaf senescence due to dehydration may trigger die-back in *Nothofagus dombeyi* under severe droughts: a comparison with the co-occurring *Austrocedrus chilensis*. *Trees* **28**, 1475–1487.
- Scholz FG, Bucci SJ, Goldstein G, Meinzer FC, Franco AC, Miralles-Wilhelm F.** 2007. Biophysical properties and functional significance of stem water storage tissues in Neotropical savanna trees. *Plant, Cell & Environment* **30**, 236–248.
- Scholz FG, Phillips NG, Bucci SJ, Meinzer FC, Goldstein G.** 2011. Hydraulic Capacitance: Biophysics and Functional Significance of Internal Water Sources in Relation to Tree Size. In: Meinzer FC., In: Lachenbruch B., In: Dawson TE, eds. *Tree Physiology. Size- and Age-Related Changes in Tree Structure and Function*. Dordrecht: Springer Netherlands, 341–361.
- Scholz A, Rabaey D, Stein A, Cochard H, Smets E, Jansen S.** 2013. The evolution and function of vessel and pit characters with respect to cavitation resistance across 10 *Prunus* species. *Tree Physiology* **33**, 684–694.
- Schuetz M, Smith R, Ellis B.** 2013. Xylem tissue specification, patterning, and differentiation mechanisms. *Journal of Experimental Botany* **64**, 11–31.
- Schuster A-C, Burghardt M, Alfarhan A, Bueno A, Hedrich R, Leide J, Thomas J, Riederer M.** 2016. Effectiveness of cuticular transpiration barriers in a desert plant at controlling water loss at high temperatures. *AoB PLANTS* **8**.
- Scoffoni C, Albuquerque C, Brodersen C, Townes SV, John GP, Bartlett MK, Buckley TN, McElrone AJ, Sack L.** 2017a. Outside-xylem vulnerability, not xylem embolism, controls leaf hydraulic decline during dehydration. *Plant Physiology*, pp.01643.2016.
- Scoffoni C, Albuquerque C, Brodersen CR, Townes SV, John GP, Cochard H, Buckley TN, McElrone AJ, Sack L.** 2017b. Leaf vein xylem conduit diameter influences susceptibility to embolism and hydraulic decline. *New Phytologist* **213**, 1076–1092.
- Scoffoni C, McKown AD, Rawls M, Sack L.** 2012. Dynamics of leaf hydraulic conductance with water status: quantification and analysis of species differences under steady state. *Journal of Experimental Botany* **63**, 643–658.
- Scoffoni C, Sack L, Ort D.** 2017c. The causes and consequences of leaf hydraulic decline with dehydration. *Journal of Experimental Botany* **68**, 4479–4496.

- Shimazaki K, Doi M, Assmann SM, Kinoshita T.** 2007. Light Regulation of Stomatal Movement. *Annual Review of Plant Biology* **58**, 219–247.
- Skelton RP, Brodribb TJ, Choat B.** 2017a. Casting light on xylem vulnerability in an herbaceous species reveals a lack of segmentation. *New Phytologist* **214**, 561–569.
- Skelton RP, Brodribb TJ, McAdam SAM, Mitchell PJ.** 2017b. Gas exchange recovery following natural drought is rapid unless limited by loss of leaf hydraulic conductance: evidence from an evergreen woodland. *New Phytologist* **215**, 1399–1412.
- Skelton RP, Dawson TE, Thompson SE, Shen Y, Weitz AP, Ackerly D.** 2018. Low Vulnerability to Xylem Embolism in Leaves and Stems of North American Oaks. *Plant Physiology* **177**, 1066–1077.
- Skelton RP, West AG, Dawson TE.** 2015. Predicting plant vulnerability to drought in biodiverse regions using functional traits. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **112**, 5744–5749.
- Sperry JS.** 2003. Evolution of Water Transport and Xylem Structure. *International Journal of Plant Sciences* **164**, S115–S127.
- Sperry JS.** 2004. Coordinating stomatal and xylem functioning – an evolutionary perspective. *New Phytologist* **162**, 568–570.
- Sperry JS, Donnelly JR, Tyree MT.** 1988. A method for measuring hydraulic conductivity and embolism in xylem. *Plant, Cell & Environment* **11**, 35–40.
- Sperry J, Hacke U, Pittermann J.** 2006. Size and function in conifer tracheids and angiosperm vessels. *American Journal of Botany* **93**, 1490–1500.
- Sperry JS, Hacke UG, Wheeler JK.** 2005. Comparative analysis of end wall resistivity in xylem conduits. *Plant, Cell & Environment* **28**, 456–465.
- Sperry JS, Love DM.** 2015. What plant hydraulics can tell us about responses to climate-change droughts. *New Phytologist* **207**, 14–27.
- Sperry JS, Meinzer FC, McCulloh KA.** 2008. Safety and efficiency conflicts in hydraulic architecture: scaling from tissues to trees. *Plant, Cell & Environment* **31**, 632–645.
- Sperry JS, Venturas MD, Anderegg WRL, Mencuccini M, Mackay DS, Wang Y, Love DM.** 2017. Predicting stomatal responses to the environment from the optimization of photosynthetic gain and hydraulic cost. *Plant, Cell & Environment* **40**, 816–830.
- Sperry JS, Wang Y, Wolfe BT, Mackay DS, Anderegg WRL, McDowell NG, Pockman WT.** 2016. Pragmatic hydraulic theory predicts stomatal responses to climatic water deficits. *New Phytologist* **212**, 577–589.
- Stahl C, Hérault B, Rossi V, Burban B, Bréchet C, Bonal D.** 2013. Depth of soil water uptake by tropical rainforest trees during dry periods: does tree dimension matter? *Oecologia* **173**, 1191–1201.
- Starr C.** 2007. *Biology: Concepts and Applications without Physiology*. Cengage Learning.
- Steudle E.** 2001. The cohesion-tension mechanism and the acquisition of water by plant roots. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **52**, 847–875.
- Strasburger E.** 1891. *Ueber den bau und die verrichtungen der leitungsbahnen in den pflanzen*. G. Fischer.
- Stratton L, Goldstein G, Meinzer FC.** 2000. Stem water storage capacity and efficiency of water transport: their functional significance in a Hawaiian dry forest. *Plant, Cell & Environment* **23**, 99–106.
- Tixier A, Herbette S, Jansen S, Capron M, Tordjeman P, Cochard H, Badel E.** 2014. Modelling the mechanical behaviour of pit membranes in bordered pits with respect to cavitation resistance in angiosperms. *Annals of Botany* **114**, 325–334.
- Torres-Ruiz JM, Cochard H, Choat B, et al.** 2017. Xylem resistance to embolism: presenting a simple diagnostic test for the open vessel artefact. *New Phytologist* **215**, 489–499.
- Trifiló P, Raimondo F, Savi T, Gullo L, A M, Nardini A.** 2016. The contribution of vascular and extra-vascular water pathways to drought-induced decline of leaf hydraulic conductance. *Journal of Experimental Botany* **67**, 5029–5039.
- Trueba S, Pan R, Scoffoni C, John GP, Davis SD, Sack L.** 2019. Thresholds for leaf damage due to dehydration: declines of hydraulic function, stomatal conductance and cellular integrity precede those for photochemistry. *New Phytologist* **223**, 134–149.
- Trueba S, Rowe NP, Neinhuis C, Wanke S, Wagner ST, Isnard S.** 2015. Stem Anatomy and the Evolution of Woodiness in Piperales. *International Journal of Plant Sciences* **176**, 468–485.
- Turner NC.** 1981. Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. *Plant and Soil* **58**, 339–366.
- Tyree MT.** 1997. The Cohesion-Tension theory of sap ascent: current controversies. *Journal of Experimental Botany* **48**, 1753–1765.
- Tyree MT, Alexander JD.** 1993. Hydraulic conductivity of branch junctions in three temperate tree species. *Trees* **7**, 156–159.
- Tyree MT, Cochard H, Cruiziat P, Sinclair B, Ameglio T.** 1993. Drought-induced leaf shedding in walnut: evidence for vulnerability segmentation. *Plant, Cell & Environment* **16**, 879–882.

- Tyree MT, Dixon MA.** 1983. Cavitation Events in *Thuja occidentalis* L.? : Ultrasonic Acoustic Emissions from the Sapwood Can Be Measured. *Plant Physiology* **72**, 1094–1099.
- Tyree MT, Ewers FW.** 1991. The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *New Phytologist* **119**, 345–360.
- Tyree MT, Hammel HT.** 1972. The Measurement of the Turgor Pressure and the Water Relations of Plants by the Pressure-bomb Technique. *Journal of Experimental Botany* **23**, 267–282.
- Tyree MT, Snyderman DA, Wilmot TR, Machado J-L.** 1991. Water Relations and Hydraulic Architecture of a Tropical Tree (*Schefflera morototoni*): Data, Models, and a Comparison with Two Temperate Species (*Acer saccharum* and *Thuja occidentalis*). *Plant Physiology* **96**, 1105–1113.
- Tyree MT, Sperry JS.** 1989. Vulnerability of Xylem to Cavitation and Embolism. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **40**, 19–36.
- Tyree MT, Yang S.** 1990. Water-storage capacity of *Thuja*, *Tsuga* and *Acer* stems measured by dehydration isotherms. *Planta* **182**, 420–426.
- Tyree MT, Zimmermann MH.** 2002. *Xylem Structure and the Ascent of Sap*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- Urli M, Porté AJ, Cochard H, Guengant Y, Burtlett R, Delzon S.** 2013. Xylem embolism threshold for catastrophic hydraulic failure in angiosperm trees. *Tree Physiology* **33**, 672–683.
- Vanninen P, Ylitalo H, Sievänen R, Mäkelä A.** 1996. Effects of age and site quality on the distribution of biomass in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Trees* **10**, 231–238.
- Venturas MD, Sperry JS, Hacke UG.** 2017. Plant xylem hydraulics: What we understand, current research, and future challenges. *Journal of Integrative Plant Biology* **59**, 356–389.
- Volaire F.** 2018. A unified framework of plant adaptive strategies to drought: Crossing scales and disciplines. *Global Change Biology* **24**, 2929–2938.
- Wason JW, Anstreicher KS, Stephansky N, Huggett BA, Brodersen CR.** 2018. Hydraulic safety margins and air-seeding thresholds in roots, trunks, branches and petioles of four northern hardwood trees. *New Phytologist* **219**, 77–88.
- Wason JW, Huggett BA, Brodersen CR.** 2017. MicroCT imaging as a tool to study vessel endings in situ. *American Journal of Botany* **104**, 1424–1430.
- West GB, Brown JH, Enquist BJ.** 1997. A General Model for the Origin of Allometric Scaling Laws in Biology. *Science* **276**, 122–126.
- West GB, Brown JH, Enquist BJ.** 1999. A general model for the structure and allometry of plant vascular systems. *Nature* **400**, 664–667.
- Westwater JW.** 1956. Boiling of Liquids. In: Drew TB., In: Hoopes JW, eds. *Advances in Chemical Engineering*. Academic Press, 1–76.
- Wheeler JK, Sperry JS, Hacke UG, Hoang N.** 2005. Inter-vessel pitting and cavitation in woody Rosaceae and other vesselless plants: a basis for a safety versus efficiency trade-off in xylem transport. *Plant, Cell & Environment* **28**, 800–812.
- Whitehead D, Edwards WRN, Jarvis PG.** 1984. Conducting sapwood area, foliage area, and permeability in mature trees of *Picea sitchensis* and *Pinus contorta*. *Canadian Journal of Forest Research* **14**, 940–947.
- Williams CB, Anfodillo T, Crivellaro A, Lazzarin M, Dawson TE, Koch GW.** 2019. Axial variation of xylem conduits in the Earth’s tallest trees. *Trees*.
- Wittmann C, Pfanz H.** 2008. Antitranspirant functions of stem periderms and their influence on cortical photosynthesis under drought stress. *Trees* **22**, 187–196.
- Wolfe BT, Sperry JS, Kursar TA.** 2016. Does leaf shedding protect stems from cavitation during seasonal droughts? A test of the hydraulic fuse hypothesis. *New Phytologist* **212**, 1007–1018.
- Wong SC, Cowan IR, Farquhar GD.** 1979. Stomatal conductance correlates with photosynthetic capacity. *Nature* **282**, 424.
- Wright IJ, Reich PB, Westoby M, et al.** 2004. The worldwide leaf economics spectrum. *Nature* **428**, 821–827.
- Zanne AE, Westoby M, Falster DS, Ackerly DD, Loarie SR, Arnold SEJ, Coomes DA.** 2010. Angiosperm wood structure: Global patterns in vessel anatomy and their relation to wood density and potential conductivity. *American Journal of Botany* **97**, 207–215.
- Zhang L, Copini P, Weemstra M, Sterck F.** 2016a. Functional ratios among leaf, xylem and phloem areas in branches change with shade tolerance, but not with local light conditions, across temperate tree species. *New Phytologist* **209**, 1566–1575.
- Zhang Y, Klepsch M, Jansen S.** 2017. Bordered pits in xylem of vesselless angiosperms and their possible misinterpretation as perforation plates. *Plant, Cell & Environment* **40**, 2133–2146.
- Zhang Y-J, Meinzer FC, Qi J-H, Goldstein G, Cao K-F.** 2013. Midday stomatal conductance is more related to stem rather than leaf water status in subtropical deciduous and evergreen broadleaf trees. *Plant, Cell & Environment* **36**, 149–158.
- Zhang Y-J, Rockwell FE, Graham AC, Alexander T, Holbrook NM.** 2016b. Reversible Leaf Xylem Collapse: A Potential “Circuit Breaker” against Cavitation. *Plant Physiology* **172**, 2261–2274.

- Zhang Y-J, Rockwell FE, Wheeler JK, Holbrook NM.** 2014. Reversible Deformation of Transfusion Tracheids in *Taxus baccata* Is Associated with a Reversible Decrease in Leaf Hydraulic Conductance. *Plant Physiology* **165**, 1557–1565.
- Zhu S-D, Liu H, Xu Q-Y, Cao K-F, Ye Q.** 2016. Are leaves more vulnerable to cavitation than branches? *Functional Ecology* **30**, 1740–1744.
- Ziemińska K, Butler DW, Gleason SM, Wright IJ, Westoby M.** 2013. Fibre wall and lumen fractions drive wood density variation across 24 Australian angiosperms. *AoB PLANTS* **5**.
- Ziemińska K, Westoby M, Wright IJ.** 2015. Broad Anatomical Variation within a Narrow Wood Density Range—A Study of Twig Wood across 69 Australian Angiosperms. *PLOS ONE* **10**, e0124892.
- Zimmermann MH.** 1978. Hydraulic architecture of some diffuse-porous trees. *Canadian Journal of Botany* **56**, 2286–2295.
- Zimmermann MH.** 1983. *Xylem Structure and the Ascent of Sap*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- Zweifel R, Item H, Häslér R.** 2000. Stem radius changes and their relation to stored water in stems of young Norway spruce trees. *Trees* **15**, 50–57.

CHAPITRE 2

**Anatomies, vasculatures, and mechanics underlying
the leaf size-stem size spectrum for 42 Neotropical
tree species**

Chapitre 2

Traits anatomiques, vasculaires, et mécaniques sous-jacents à la variation des dimensions foliaires et de la tige pour 42 espèces d'arbres Néotropicaux

RESUME

1. Le spectre des dimensions foliaires et de la tige est une des principales dimensions des stratégies écologiques des plantes. Mais les ajustements anatomiques, et leur implications mécaniques et hydrauliques, soulignant le spectre opposant espèces à grandes et espèces à petites feuilles restent peu connus.

2. Nous avons étudié 42 espèces d'arbres de forêt tropicale humide de Guyane française, en couvrant une large diversité phylogénétique (magnolidées, rosidées, astéridées) et une large gamme de variation de surface foliaire. Nous avons quantifié (i) les surfaces et les proportions de tissus anatomiques, (ii) la rigidité en flexion et les coûts de construction associés à la stabilité mécanique, ainsi que (iii) les traits de vascularisation et de conductivité théorique du xylème.

3. La relation entre surface de section de tige et surface de la pousse feuillée était allométrique. Avec l'augmentation des dimensions de la pousse : la proportion de moelle de la tige augmentait, le ratio entre surface foliaire et surface de xylème augmentait, la rigidité en flexion de la tige augmentait disproportionnellement mais pour un coût en biomasse relativement plus faible. Le diamètre des vaisseaux était lié à la fois à la longueur du chemin hydraulique et de la surface de la pousse feuillée. L'élargissement des vaisseaux avec la longueur du chemin était en accord avec les modèles d'optimalité hydraulique, permettant d'atténuer la résistance hydrodynamique. Quand l'effet de la longueur du chemin a été pris en compte, la conductivité de la tige était proportionnelle à la surface de feuille alimentée en aval.

4. Notre étude démontre que la dimension foliaire affecte la relation avec les traits de la tige. La relation entre surface foliaire et surface de la tige était allométrique, la stratégie mécanique était différente entre les espèces à grandes feuilles et celles à petites feuilles. Même si l'alimentation en eau par unité de surface foliaire semblait être maintenue le long du spectre de variation de surface foliaire, cela était permis grâce à différentes architectures vasculaires entre les espèces à grandes feuilles et celles à petites feuilles.

Mots-clés : allométrie, dimension foliaire, conductivité hydraulique théorique, anatomie, pousse feuillée, élargissement axial des vaisseaux.

Chapter 2

ABSTRACT

1. The leaf size-stem size spectrum is one of the leading dimension of plant ecological strategies. But the anatomical changes, and their mechanical and hydraulic implications, underlying small-leaved vs large-leaved species are still poorly known.
2. We investigated 42 tropical rainforest tree species from French Guiana, spanning a large phylogenetic diversity (magnolids, rosids, asterids) and a large leaf size range. We quantified stem (i) anatomical tissue areas and partitioning, (ii) flexural stiffness and the construction cost associated with mechanical stability, as well as (iii) xylem vasculature and theoretical conductivity traits.
3. The stem area-leaf area scaling was allometric. With increasing shoot size: stem pith fraction increased, the leaf area-to-xylem area ratio increased, the stem flexural stiffness disproportionately increased but was biomass-based cheaper. Vessel size was related to both the conductive path length and the shoot leaf area. Vessel widening with the path length was in agreement with hydraulic optimality models, allowing for the mitigation of the hydrodynamic resistance. When the effect of the path length was taken into account, the stem conductivity was proportional to the downstream supplied leaf size.
4. Our study demonstrates that leaf size affects the scaling of stem traits. The leaf area-stem area scaling was allometric across species, the mechanical strategy was different between small-leaved and large-leaved species. Even if water supply per leaf area seems to be maintained across the leaf size spectrum, this was achieved through different vasculature between small-leaved and large-leaved species.

Key words: allometry, leaf size, theoretical hydraulic conductivity, anatomy, shoot, scaling, axial vessel widening.

INTRODUCTION

The leaf size-stem size spectrum (LS-SS) is considered as one of the main dimensions of plant ecological strategies (Westoby *et al.*, 2002; Westoby & Wright, 2003; Lauri, 2019). The LS-SS has been fruitful to tackle leaf and stem size variability and relationship. Sinnott (1921) has certainly been the first to point out to a relationship between leaf size and the related internode size for *Acer saccharum*. But Corner (1949) has been more influencer, and is frequently cited when investigating LS-SS, with the famous “Corner’s rules”. There is today a diversity of concepts mergeable within a unique LS-SS framework : Corner’s rules (Corner, 1949; Hallé *et al.*, 1978; White, 1983a,b; Brouat *et al.*, 1998; Ackerly & Donoghue, 1998), leaf-stem allometry (Brouat & McKey, 2001; Normand *et al.*, 2008; Fan *et al.*, 2017), leaf size-twig size spectrum (Westoby & Wright, 2003; Sun *et al.*, 2006), and leptocaulis-pachycaulis spectrum (Corner, 1949; Hallé *et al.*, 1978).

Within this LS-SS framework, the central approach focused on morphological traits (e.g. leaf area, internode cross-sectional area, lamina and petiole mass, lamina and petiole length...). Also, a long-standing central question has been the form of relationships among traits between isometry and allometry (Brouat *et al.*, 1998). Isometry relates to a strict relationship of proportionality, whereas allometry refers to different paces of variation, described by a power function between two traits. Discerning allometric vs. isometric scalings between organ-level or organism-level traits is an important priority, since different functional requirements and resource allocation can be reflected between small vs. large organs or organisms, and finally different ecological strategies and responses to selective pressures (Harvey & Pagel, 1991; Brouat *et al.*, 1998)

The leaf area-stem cross-sectional area (further abbreviated stem area) scaling is the main relationship investigated within the LS-SS framework. The positive allometric scaling is mostly consensual, regarding the number of studies supporting this pattern at the interspecific level (Brouat & McKey, 2001; Westoby & Wright, 2003; Preston & Ackerly, 2003; Sun *et al.*, 2006; Normand *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2009; Xiang *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2010; Yan *et al.*, 2013; Osada *et al.*, 2015), with leaf area increasing faster than stem cross-sectional area. By contrast, only two studies to our knowledge support isometry (Brouat *et al.* 1998; Fan *et al.* 2017). But these studies may be based on relatively narrow range of leaf and stem size variation, hindering the allometric nature of the relationship. Indeed, Brouat *et al.* (1998) investigated temperate species, whereas Fan *et al.* (2017) were restricted to the *Ficus* genus, which should limit the breadth of the size range. Here, we want to investigate the largest range of leaf size variation for an original study, based on the rainforest tropical diversity.

In every studies pointing out to allometry, large-leaved species display disproportionately more leaf area per stem cross-sectional area. Despite this allometric scaling has been shown several times (references above), we poorly know what are the anatomical and functional (i.e. hydraulic, mechanic, photosynthesis) changes underlying such morphological scaling between leaf and stem. The LS-SS has been generally simply explained by increasing water and mechanical supplies with size (Brouat *et al.* 1998; Normand *et al.* 2008), and until recently, investigations of the LS-SS critically lack measurements of traits other than morphological. Fan *et al.* (2017) demonstrated that a trade-off between xylem hydraulic efficiency (measured as the theoretical xylem-specific conductivity; $\text{kg m}^{-1} \text{MPa}^{-1} \text{s}^{-1}$) and stem mechanical stiffness (measured as the modulus of elasticity; N m^{-2}) underlined the leaf area-stem area relationship for *Ficus* species. But their study firstly concluded to an isometric leaf area-stem area scaling, probably because they were restricted to the genus level. Moreover, Fan *et al.* (2017) do not quantify tissue partitioning. Olson *et al.* (2018a) have quantified pith diameter across 55 species and stem mechanical rigidity, but they did not discuss the pith in term of tissue fraction and partitioning ; moreover they did not incorporate the vascular and hydraulic components. Then, we still do not know what anatomical traits –in terms of tissue cross-sectional areas and fractions- determine the allometric scaling between leaf area and the stem cross-sectional area.

Moreover, such stem anatomical changes should have functional implications, in terms of mechanics and hydraulics. First, changes in stem mechanical stiffness, in response to leaf load, can be achieved in two ways, non-mutually exclusive. (a) The material property affects the flexural stiffness, as a stick of iron is stiffer than a stick of polymer for instance. In plants, this can be achieved through investments in the quality of the different supportive tissues (xylem, sclerenchyma, collenchyma), by changing the wall thickness of cells associated with support (Lachenbruch & McCulloh, 2014). Variation in microfibril angles of the cell wall can also change the modulus of elasticity of the tissue (Donaldson, 2008). (b) The geometry also modifies the flexural stiffness, as for a given amount of material, a hollow tube is larger and therefore stiffer than a full tube. In plants, this can be achieved through large stems, or even hollow stems, with low volumetric construction cost (Olson *et al.*, 2009; Dlouhá *et al.*, 2018; Mahley *et al.*, 2018).

Assuming similar amounts of biomass to allocate to stem growth between small-leaved and large-leaved species, Olson *et al.* (2018a) have shown that large-leaved species require low-density tissues to achieve a faster stem growth, because of greater leaf spacing. Then, low-density tissues is associated to a mechanical strategy based on geometry, by promoting large

stems with low volumetric construction costs. But it is poorly known how these material-vs-geometry strategies are related to stem anatomy. Also, we do not know yet if the stem mechanical stiffness is equivalent between small-leaved and large-leaved species for a given leaf load.

Second, changes in water supply can be achieved in two ways, non-mutually exclusive. (a) For a given vessel diameter and vessel density, increasing the xylem cross-sectional area allows to increase vessel number, and thus hydraulic conductivity. However, increasing the number of vessels comes with increasing construction cost because additional space is required (Banavar *et al.*, 1999; McCulloh *et al.*, 2003; Gleason *et al.*, 2018). (b) Alternatively, for a given xylem cross-sectional area, increasing vessel diameter allows to increase hydraulic conductivity. The Hagen-Poiseuille law predicts that the conductivity of a capillary is a fourth power of its diameter (Tyree & Zimmermann, 2002). Thus, a small increase in vessel diameter has disproportionate impacts on conductivity, and few wide vessels can in turn allow for less xylem area, thus less construction cost. As wide vessels require more space –the number of vessels being equal-, it can be hypothesised to find wide vessels on large-leaved species.

However, changing leaf and stem sizes is not without consequence. Changing the size is generally associated with changes in the conductive path length, and thus hydrodynamic resistance as the hydraulic resistance of a capillary is proportional to its length (West *et al.*, 1999; Olson *et al.*, 2014). To balance increasing hydraulic resistance and minimise the potential loss of water supply per leaf area (Prendin *et al.*, 2018; Echeverría *et al.*, 2019), specific vascular architecture should be achieved, potentially affecting the scaling of anatomy and vasculature with leaf size. Indeed, axial basipetal vessel widening has been shown to be a universal pattern allowing to mitigate such hydrodynamic resistance (West *et al.*, 1999; Anfodillo *et al.*, 2006; Olson *et al.*, 2014, 2018b). Then, stem length is the primary driver of vessel diameter (Olson & Rosell, 2013; Olson *et al.*, 2014; Rosell *et al.*, 2017), and should be taken into account when investigating vessel diameter variability (Lechthaler *et al.*, 2019b). Changes in stem vasculature, with the implications in water supply per leaf area, have never been studied in the LS-SS framework.

Here, we aim to quantify the scaling of the LS-SS for a large range of size variation. Moreover, we want to integrate the diversity of anatomical, vascular, and mechanical traits associated with the leaf–stem scaling, at a large interspecific level. We took advantage of the Amazon rainforest in French Guiana to span a large leaf and stem size variation (40 to 2,000 cm² for individual leaf area) across 40 species for a large phylogenetic diversity (magnolids, rosids, asterids). We only sampled rainforest canopy trees. We measured across 100 trees,

morphological, tissue cross-sectional areas and fractions, vascular and theoretical hydraulic, and mechanical traits, at the shoot level (i.e. a unique unbranched stem with its supported leaves). We specifically addressed the following questions:

- If we assume the leaf area-stem area scaling to be allometric, what are the anatomical traits –in terms of tissue areas and partitioning- determining such scaling?
- What is the mechanical strategy (geometry vs material property) to deal with the mechanical load associated with larger leaves?
- What are the vascular and hydraulic variations across the spectrum? Are vascular adjustments in agreement with the mitigation of the hydrodynamic resistance coming with the conductive path length? Do these vascular adjustments and leaf size variation affect the water supply per leaf area?

MATERIALS AND METHODS

Study site, species, and plant material

The experiment was conducted in French Guiana, at the Paracou experimental station (<https://paracou.cirad.fr/website>; 5°16'26''N, 52°55'26''W), in a lowland tropical rainforest (Gourlet-Fleury *et al.*, 2004). The tropical climate of French Guiana is highly seasonal due to the north-south movement of the Inter-Tropical Convergence Zone. The mean (\pm SE) annual air temperature is 25.7 °C \pm 0.1°C and the mean precipitation is 3102 mm \pm 70 mm (from 2004 to 2014; Aguilos *et al.*, 2019). There is a dry season lasting from mid-August to mid-November, during which rainfall is < 100 mm month⁻¹.

A total of 42 species for 100 trees were sampled, spanning mainly canopy, dominant or co-dominant, sun-exposed, adult trees. Only 3 species were part of the midstorey, and thus shade-tolerant. Depending on species abundance, 2-3 trees per species were sampled. A large phylogenetic diversity -with members of magnolid, rosid, and asterid clades- was spanned, to enhance morphological and anatomical diversity (Phylogenetic tree in Fig. S1). One shoot per tree was sampled. In the context of our study, a shoot was defined as a single unbranched stem supporting the most numerous leaves, but with no missing leaves between the youngest leaf and the oldest leaf (Fig. 1). Shoots were selected to avoid damaged leaves. A shoot was cut at the base of the internode supporting the last oldest leaf. In this way, the quantity of wood and vessels at the base of the shoot can be associated with a precise downstream quantity of leaves. Shoots were solely sampled in tree canopy by professional climbers. Only sun-exposed shoots were sampled, except for the 3 shade-tolerant species. Shoots were treated in laboratory, the same day of field sampling. Two sessions of fieldwork were needed. The first one was dedicated

to the anatomical sampling, the second one to the mechanical sampling. Because of logistical issues, mechanical measurements were not feasible during the first session.

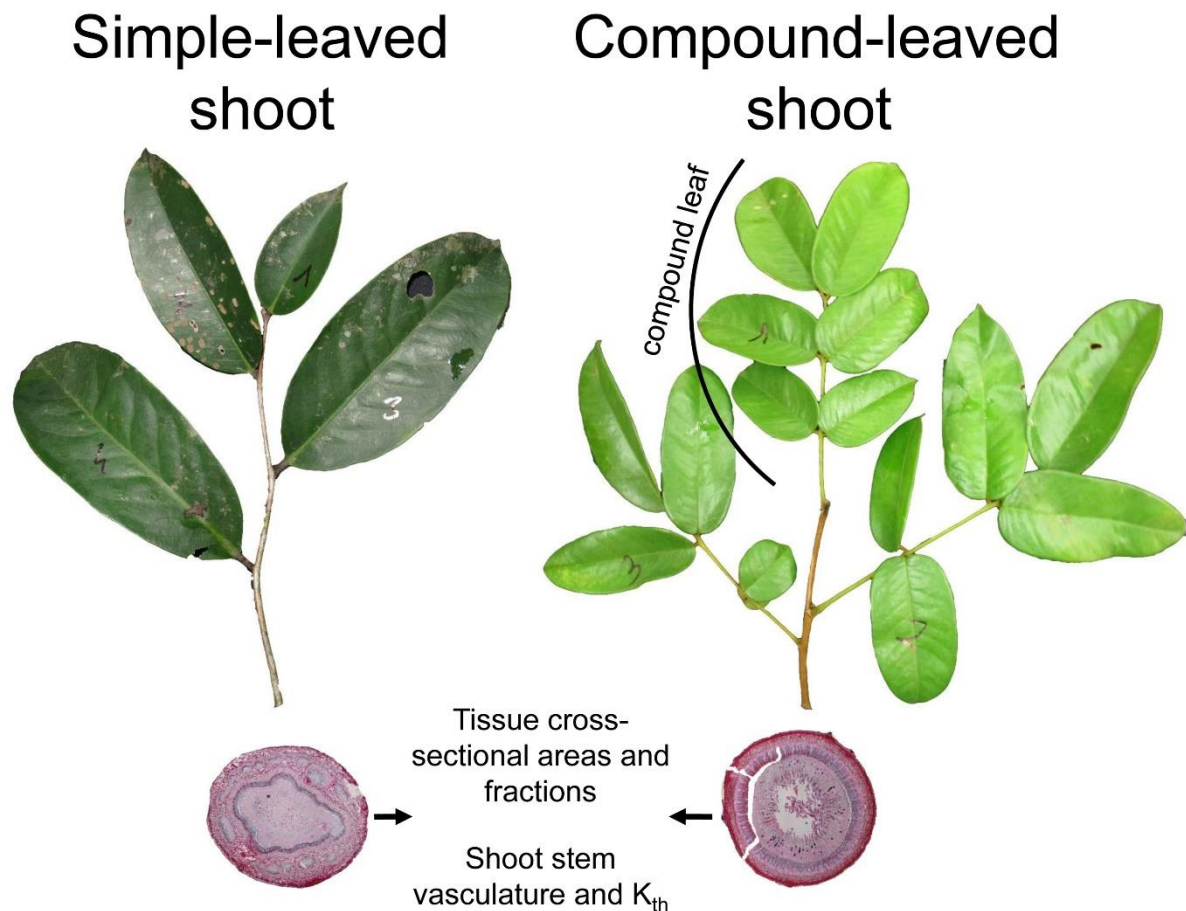


Fig. 1. Illustration of typical leafy shoots for a simple-leaved shoot (left part) and a compound-leaved shoot (right part). For the compound-leaved shoot, a complete compound leaf is shown. In the context of our study, a shoot was defined as a single unbranched stem supporting the most numerous leaves, but with no missing leaves between the youngest leaf and the oldest leaf. Shoots were selected to avoid damaged leaves. Anatomical cross-sections were made at the base of each shoot for measurements of tissue cross-sectional areas and fractions, vasculature, and theoretical hydraulic conductivity.

First session traits: anatomical traits

The first session of fieldwork was dedicated to anatomical sampling, between January and July 2017. Here, the 42 species of the study was sampled, spanning 100 trees. In the laboratory, for a given shoot, leaves were cut apart from the stem. The stem length (cm), and the rachis length of median leaf of the shoot- was measured with a ruler for the conductive path length. The total shoot leaf area (cm²) was measured by scanning leaves and using the ImageJ software. A 1-cm-long stem sample was sampled at the base of the shoot, from the internode supporting the last and oldest leaf. The anatomical sample was conserved in 50° ethanol. Anatomical cross-sections were made, by taking care to keep the complete section, and all tissues undamaged.

Anatomical sections were coloured with FASGA staining. Images of each cross-section were digitised with an optical microscope (Olympus BX60; Olympus Corporation; Tokyo; Japan) with x50 magnification and a Canon camera EOS 500D (lens Olympus U-TVI-X ; F 0.0; ISO 100; speed 1/25). Pictures were assembled in a panorama using Kolor AutoPanoGiga software (v.3.0.0, <http://kolor.com/autopano/>) to obtain a complete picture of the cross-section. The digitised cross-sections were processed with CS5 Photoshop software (v.12.0, <http://adobe.com/products/photoshop/html>). In addition to the complete cross-section, we considered four tissue types: pith, xylem (merging primary and secondary xylems), phloem, and cortex. We manually delineated the tissues on the photographs and created layer masks. The masks of these layers were used to calculate the cross-sectional area and fraction of each tissue, and the whole stem area with the ImageJ software (v.1.43u; <http://imagej.nih.gov/ij/>).

For the xylem, vessels were analysed with the ImageJ software to calculate theoretical xylem hydraulic properties (Abramoff *et al.*, 2004). For each vessel, we calculated its cross-sectional area (μm^2) and its elliptical diameters. To study variations in the dimensions of the vessel, we used the mean hydraulic diameter (D_h , μm ; Table 1), i.e. the diameter that all vessels, considered as circles, in a given tissue would have to sustain exactly the same tissue hydraulic conductivity (Tyree & Zimmermann, 2002). The total number of vessels was counted. We also measured the conductive area (mm^2) as the sum of the cross-section area of all vessels (Table 1). Knowing the dimensions of each vessel, the number of vessels, and the total xylem area, a theoretical hydraulic conductivity (K_{th} , $\text{kg m MPa}^{-1} \text{ s}^{-1}$) was estimated based on formulas in Table 1. See Table 1 for a complete list of traits.

To test if water supply per leaf area is constant or not, we analysed the relationship between K_{th} and the shoot leaf area. As we expect D_h to be related to the conductive path length to buffer the hydrodynamic resistance (West *et al.*, 1999; Olson *et al.*, 2014), and as the calculated K_{th} is directly related to D_h according to the Hagen-Poiseuille law (Tyree & Zimmermann, 2002), we standardised K_{th} by the conductive path length (Lechthaler *et al.*, 2019b).

Second session traits: mechanical traits

In order to quantify mechanical traits, we carried out a second fieldwork session between May and June 2018 to sample new shoots. Here, 27 species in common with the first session could be sampled, with 2-3 trees per species, spanning 60 trees. In the laboratory, for a given shoot, leaves were cut apart from the stem. Modulus of elasticity were measured in green condition

soon after sampling, the same day or the day after. Then, stem and leaves were dried in a oven at 70°C during 72h. Stem and leaves dry mass were measured separately.

Table 1. List of measured traits, abbreviations, and formula.

Trait	Unit	Abbreviation	Formula
Stem cross-sectional area	mm ²		
Shoot leaf area	cm ²		
Shoot leaf dry mass	g		
Pith, xylem, phloem, cortex cross-sectional areas	mm ²		
Pith, xylem, phloem, cortex cross-sectional fractions			
Modulus of elasticity	kN mm ⁻²	MOE	
Second moment of area	mm ⁴	<i>I</i>	$I = \pi D^4/64$ with D the stem cross-sectional diameter
Flexural stiffness	kN mm ²	EI	<i>I</i> * MOE
Specific flexural stiffness	kN mm ² g ⁻¹ cm ³	Specific EI	EI/stem density
Mean hydraulic diameter	μm		$D_h = (\sum D_v^4/N)^{1/4}$
Vessel hydraulic diameter	μm		$D_v = [32(ab)3/(a^2+b^2)]^{1/4}$ a and b major and minor ellipse diameters
Number of vessels		N _{vessel}	
Conductive area	μm ²		N _{vessel} * π(D _h /2) ²
Theoretical hydraulic conductivity	kg s ⁻¹ MPa ⁻¹ m	K _{th}	K _{th} = ΣK _{ellipse}
Ellipse conductivity	kg s ⁻¹ MPa ⁻¹ m	K _{ellipse}	$K_{\text{ellipse}} = \pi a^3 b^3 / 64 \eta (a^3 + b^3)$ with η = 1.002 * 10 ⁻⁹ MPa s ⁻¹ at 20°C a and b major and minor ellipse diameters

Before cutting the shoot at the internode supporting the last oldest leaf, but after removing all leaves, the modulus of elasticity (MOE, kN mm⁻²; Table 1) of the stem was measured based on a four-point bending method. We measured MOE representative of the stem part supporting leaves. The four-point bending method allows for a mean value of MOE along the axis. Depending on the length of the stem free of branching, a distance of 12 or 18 cm between the two external supporting points was used. Two orthogonal diameters of the sample cross-section situated exactly between the two external supporting points were measured, by using a calliper. Successive photos was taken following increasing loading of same weight of 10g-weight. This load was chosen to ensure to remain in the elastic domain. Displacements according to loading was measured with image analyses, using ImageJ software. MOE was calculated from the slope of this relationship.

The second moment of area (*I*, mm⁴; Table 1) was calculated from the diameter of the cross-section of the stem sample. *I* quantifies the distribution of mass in a cross-section with respect to the centre of mass of the cross-section, and described the effect of geometry in

mechanics. The flexural stiffness (EI, kN mm²; Table 1) of the stem was calculated as the product of E and I. To quantify the biomass-use efficiency in performing flexural stiffness within a shoot, we calculated a specific flexural stiffness (specific EI, kN mm² g⁻¹ cm³; Table 1) as the ratio between EI and the shoot stem density (g cm⁻³). The shoot stem density was calculated as the ratio between the shoot stem dry mass (g) and the shoot stem volume (cm³). The stem volume was estimated as the product of the stem measured with a ruler, and the stem cross-sectional section measured with a calliper from two orthogonal diameters at the base of the shoot. High specific EI would indicate that a given level of flexural stiffness is achieved relatively cheaply within the shoot: a high flexural stiffness for a given stem density, i.e. construction cost. See Table 1 for a complete list of traits.

Statistical analysis

All statistical analyses were performed with R software (<http://CRAN-R-project.org>). After log transformation, all relationships between each paired trait were determined with an SMA (Standardized major axis regression; Warton *et al.*, 2006), which allows measurement of the error on both the *x*-axis and *y*-axis (Harvey & Pagel, 1991). These correlation relationships are described as: $y = ax^b$, such as: $\log(y) = \log(a) + b * \log(x)$, where *b* is the slope (or scaling exponent) and *a* the intercept (allometric coefficient). A 95% confidence interval was used to decide whether it is significantly correlated or not. A slope test was performed to determine if the slope differed from 1 (H1: $a \neq 1$ for an allometric scaling) or not (H0: $a = 1$ for an isometric scaling). SMA were carried out with the (S)MATR package (Falster *et al.*, 2006).

RESULTS

Shoot morphology

The shoot leaf area was positively and allometrically related to the stem cross-sectional area (Fig. 2; Table 2; $P < 0.001$; $R^2 = 0.681$), with a scaling exponent of 1.18, such that large-leaved species displayed disproportionately larger leaf area for a given stem cross-sectional area. The shoot leaf mass was positively and isometrically related to the stem cross-sectional area (Table 2; $P < 0.001$; $R^2 = 0.347$), as also to the shoot leaf area (Table 2; $P < 0.001$; $R^2 = 0.859$).

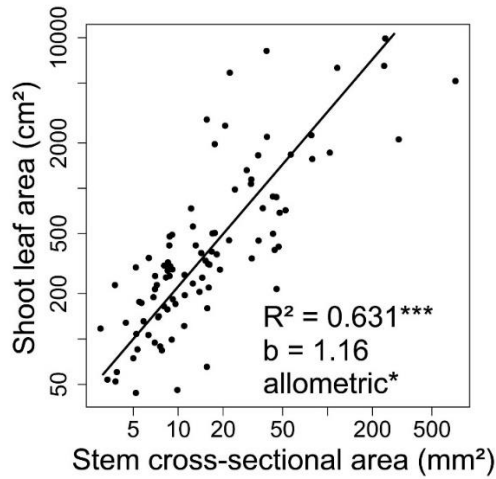


Fig. 2. Shoot leaf area according to stem cross-sectional area on a log-log scale. *b*: scaling exponent. Allometric/isometric: a test comparison with a slope of 1 (null hypothesis of isometry): * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

Table 2. Log-log linear relationships based on standardised major axis regression.

<i>Y</i>	<i>X</i>	<i>P</i>	<i>R</i> ²	slope	95% CIs (slope)
Shoot leaf area	Stem cross-sectional area	< 0.001	0.631	1.159	1.014 – 1.325
Leaf dry mass	Stem cross-sectional area	< 0.001	0.347	1.145	0.949 – 1.384
Leaf dry mass	Shoot leaf area	< 0.001	0.859	0.996	0.920 – 1.079
Pith cross-sectional area	Shoot leaf area	< 0.001	0.636	0.988	0.865 – 1.127
Xylem cross-sectional area	Shoot leaf area	< 0.001	0.698	0.891	0.781 – 1.017
Phloem cross-sectional area	Shoot leaf area	< 0.001	0.528	0.886	0.755 – 1.040
Cortex cross-sectional area	Shoot leaf area	< 0.001	0.421	0.891	0.758 – 1.046
MOE	Stem cross-sectional area	< 0.001	0.584	-1.054	-1.245 – -0.891
EI	Stem cross-sectional area	< 0.001	0.804	1.400	1.234 – 1.588
<i>D</i> _h	Hydraulic path length	< 0.001	0.342	0.389	0.318 – 0.475
<i>D</i> _h	Shoot leaf area	< 0.001	0.354	0.278	0.232 – 0.334
Number of vessels	Shoot leaf area	< 0.001	0.476	0.549	0.460 – 0.654
Conductive area	Shoot leaf area	< 0.001	0.684	0.863	0.754 – 0.987
<i>K</i> _{th} /Hydraulic path length	Shoot leaf area	< 0.001	0.416	1.022	0.823 – 1.269

Bold values refer to significant correlation ($P < 0.05$). Table 1 for a list of abbreviations. CI: confidence interval.

Stem tissue partitioning

Pith cross-sectional area was positively and isometrically related to the shoot leaf area (Fig. 3a; $P < 0.001$; $R^2 = 0.636$). Xylem cross-sectional area was positively and allometrically related to the shoot leaf area (Fig. 3b; Table 2; $P < 0.001$; $R^2 = 0.698$), such that large-leaved species displayed disproportionately larger leaf area per xylem area. Phloem cross-sectional area was positively and isometrically related to the shoot leaf area (Fig. 3c; Table 2; $P < 0.001$; $R^2 = 0.528$). Cortex cross-sectional area was positively and isometrically related to the shoot leaf area (Fig. 3d; Table 2; $P < 0.001$; $R^2 = 0.421$).

Pith cross-sectional fraction was positively related to the shoot leaf area (Fig. 4a; $P < 0.01$; $R^2 = 0.080$). Xylem and phloem cross-sectional fractions were unrelated to the shoot leaf area (Fig. 4b,c; $P > 0.05$). Cortex cross-sectional fraction was negatively related to the shoot leaf area (Fig. 4d; Table 2; $P < 0.001$; $R^2 = 0.161$).

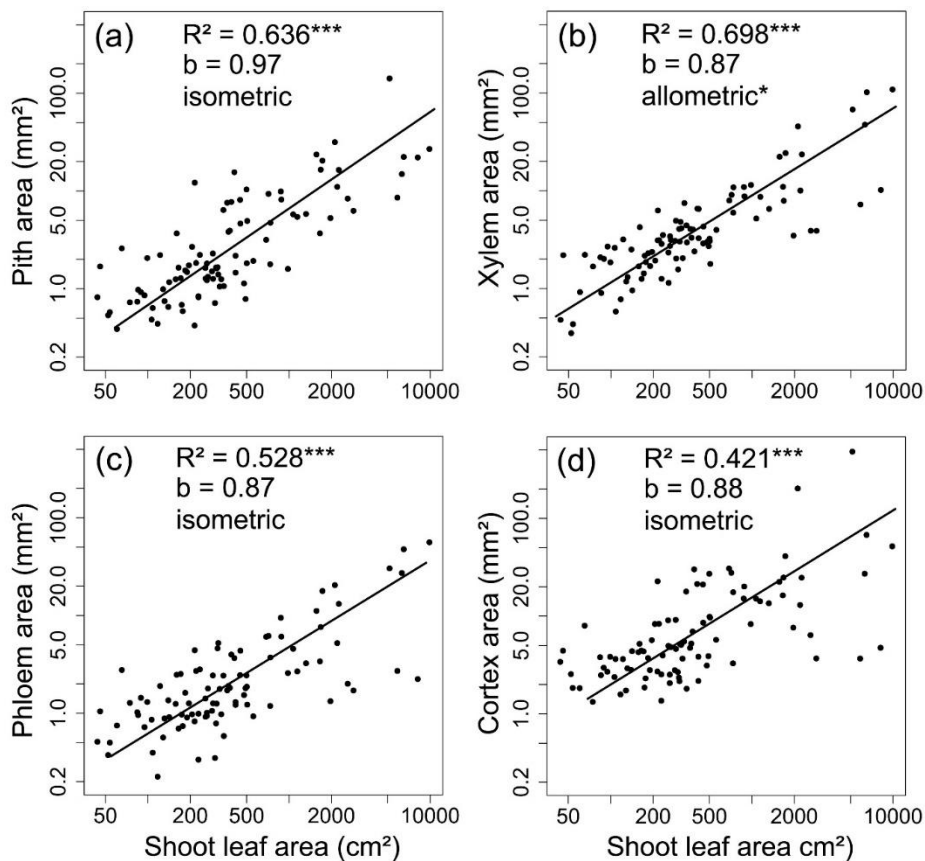


Fig. 3. Scaling of stem tissue cross-sectional area with the shoot leaf area. (a) Pith cross-sectional area according to the shoot leaf area. (b) Xylem cross-sectional area according to the shoot leaf area. (c) Phloem cross-sectional area according to the shoot leaf area. (d) Cortex cross-sectional area according to the shoot leaf area. All results are presented on log-log scale. b: scaling exponent. Allometric/isometric: a test comparison with a slope of 1 (null hypothesis of isometry): * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

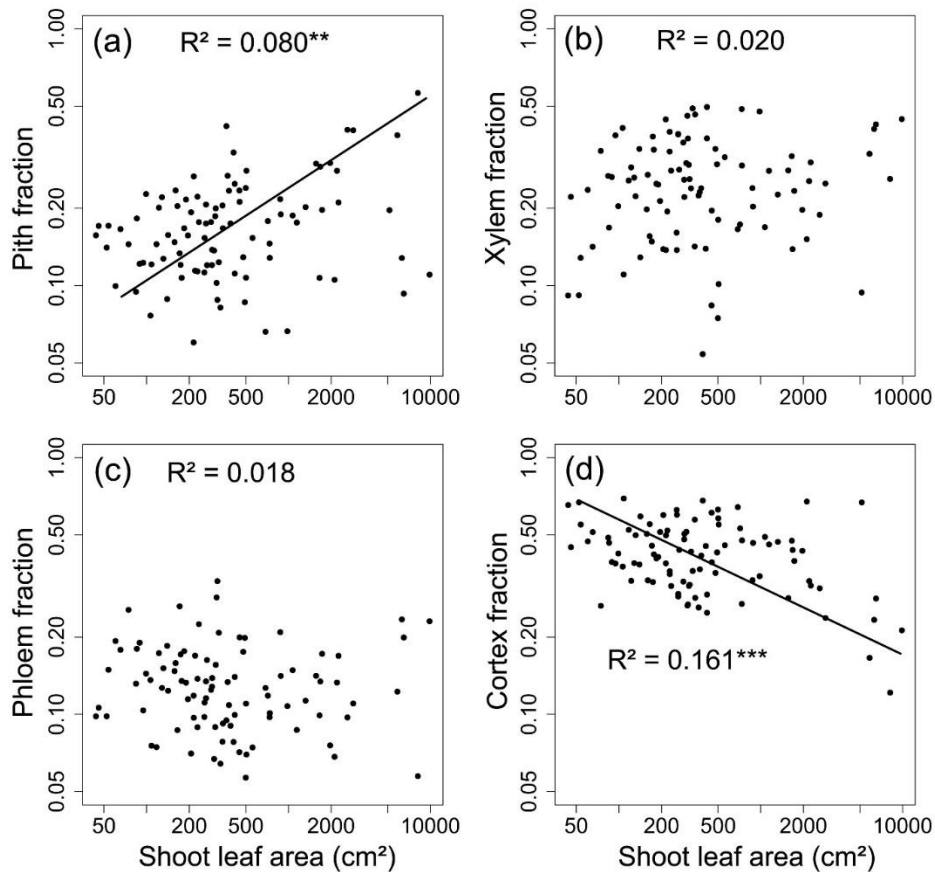


Fig. 4. Scaling of stem tissue cross-sectional fraction with the shoot leaf area. (a) Pith cross-sectional fraction according to the shoot leaf area. (b) Xylem cross-sectional fraction according to the shoot leaf area. (c) Phloem cross-sectional fraction according to the shoot leaf area. (d) Cortex cross-sectional fraction according to the shoot leaf area. All results are presented on log-log scale. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

Stem mechanics

MOE was negatively and isometrically related to the stem cross-sectional area (Fig. 5a; Table 2; $P < 0.001$; $R^2 = 0.584$). I was directly a 2 power function of the stem cross-sectional area (Fig. 5b). EI was positively and allometrically related to the stem cross-sectional area (Fig. 5c; Table 2; $P < 0.001$; $R^2 = 0.804$), such that large-leaved species displayed disproportionately stiffer stems than small-leaved species. The specific EI was positively related to the stem cross-sectional area (Fig. 5d; Table 2; $P < 0.001$; $R^2 = 0.762$), such that large-leaved species achieved higher stem stiffness for a given construction cost.

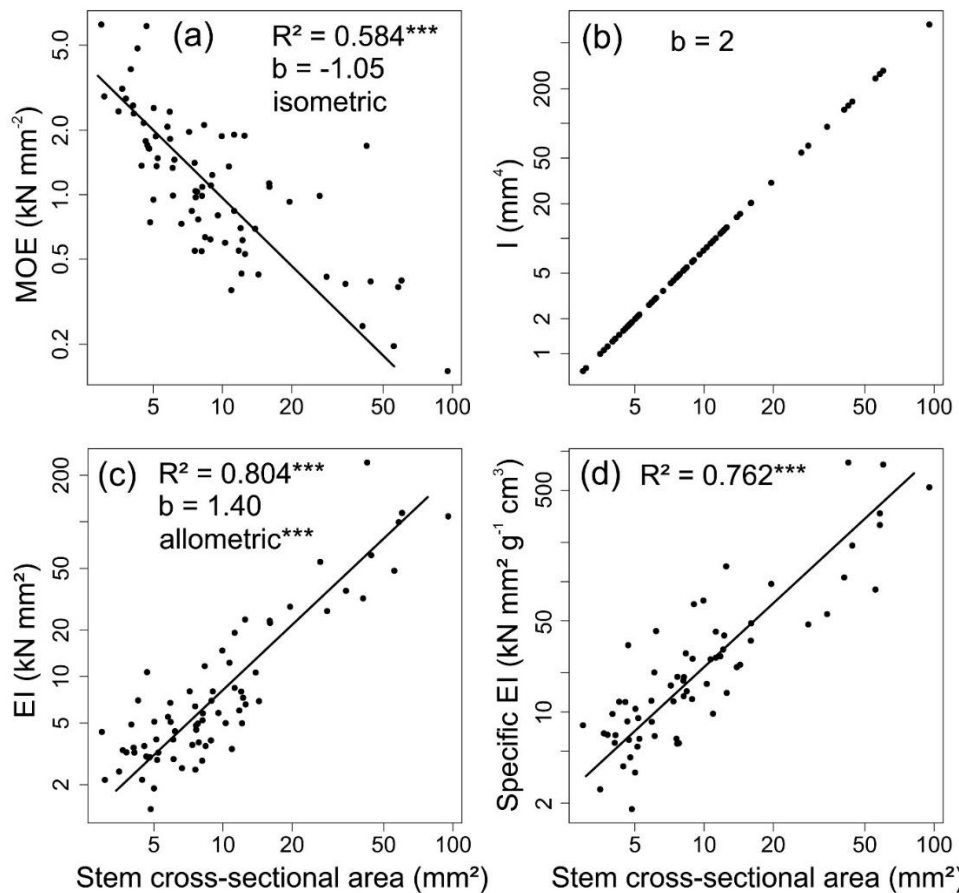


Fig. 5. Scaling of mechanical traits with the stem cross-sectional area. (a) Stem modulus of elasticity (MOE) according to the stem cross-sectional area. (b) Stem second moment of area according to the stem cross-sectional area. (c) Flexural stiffness (EI) according to the stem cross-sectional area. (b) Specific flexural stiffness (specific EI) according to the stem cross-sectional area. All results are presented on log-log scale. b: scaling exponent. Allometric/isometric: a test comparison with a slope of 1 (null hypothesis of isometry): * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

Stem vasculature and theoretical hydraulics

The mean hydraulic diameter was positively correlated to the conductive path length with a scaling exponent of 0.39 (Fig. 6a; Table 2; $P < 0.001$; $R^2 = 0.342$), and to the shoot leaf area (Fig. 6b; Table 2; $P < 0.001$; $R^2 = 0.354$). The number of vessels was positively and allometrically related to the shoot leaf area (Fig. 6c; $P < 0.001$; $R^2 = 0.476$), such that large-leaved species displayed disproportionately less vessels for a given supplied leaf area. The conductive area was positively and allometrically related to the shoot leaf area (Fig. 6d; $P < 0.001$; $R^2 = 0.684$), such that large-leaved species displayed disproportionately less conductive area for a given supplied leaf area. The theoretical stem conductivity at the base of the shoot, but divided by the conductive path length, was positively and isometrically related to the shoot leaf area (Fig. 7; Table 2; $P < 0.001$; $R^2 = 0.436$).

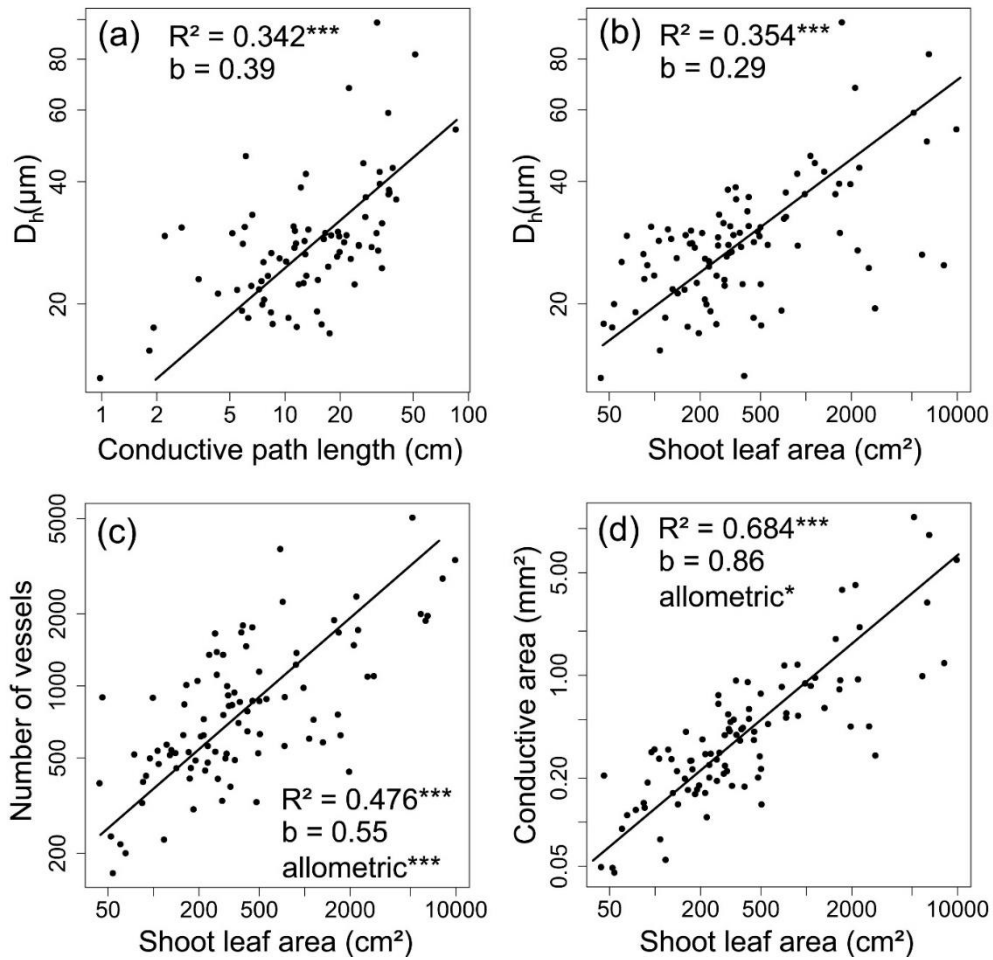


Fig. 6. Scaling of vascular traits with the conductive path length and the shoot leaf area respectively. (a) Vessel mean hydraulic diameter according to the conductive path length. (b) Vessel mean hydraulic diameter according to the shoot leaf area. (c) The number of vessels according to the shoot leaf area. (d) The cumulated vessel area according to the shoot leaf area. All results are presented on log-log scale. b : scaling exponent. Allometric/isometric: a test comparison with a slope of 1 (null hypothesis of isometry): * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

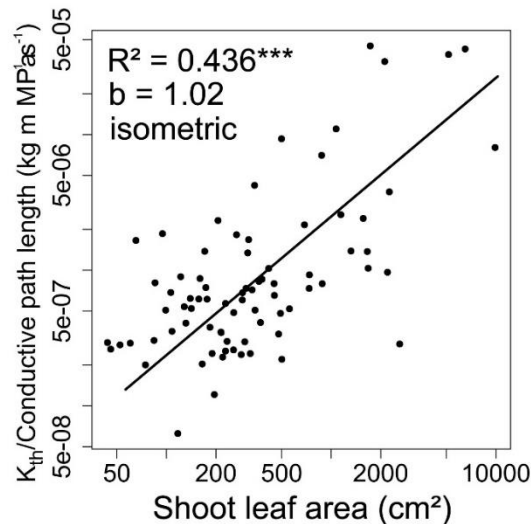


Fig. 7. The theoretical stem hydraulic conductivity (K_{th}) divided by the conductive path length, according to the shoot leaf area. b : scaling exponent. Allometric/isometric: a test comparison with a slope of 1 (null hypothesis of isometry): * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

DISCUSSION

The leaf area-stem area scaling is allometric and determined by tissue partitioning

We found a positive and allometric scaling between the shoot leaf area and the stem cross-sectional area at the base of the shoot. It is in agreement with a majority of studies that have investigated the leaf area-stem area scaling, and supporting allometry at the interspecific level (Brouat & McKey, 2001; Westoby & Wright, 2003; Preston & Ackerly, 2003; Sun *et al.*, 2006; Normand *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2009; Xiang *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2010; Yan *et al.*, 2013; Osada *et al.*, 2015). It is in disagreement with only two studies (Brouat *et al.* 1998; Fan *et al.* 2017) that supports isometry between leaf area and stem area. We suggest these results to be idiosyncratic, since the former is based on only temperate species, and the later on only a genus, in both cases leading certainly to a limited range of variation.

However, the study of Fan *et al.* (2017) suggests that the intragenic or intraspecific leaf area-stem area scaling can be ruled by isometry, depending on the genus or the species. Indeed, among the studies investigating the leaf area-stem area scaling at the intraspecific levels (Brouat *et al.*, 1998; Brouat & McKey, 2001; Preston & Ackerly, 2003; Normand *et al.*, 2008; Yan *et al.*, 2013), it seems that an isometric or an allometric scaling depends on the species. As for our criticism of the founding of an isometric scaling at the interspecific level (Brouat *et al.*, 1998; Fan *et al.*, 2017), isometric-vs-allometric scaling may depends on the breadth of intraspecific leaf size variation, such that a small breadth should limit the possibility of an allometric scaling. Since the allometric leaf area-stem area scaling is rather consensual at the interspecific level, a step forward would be to investigate the diversity of intraspecific scaling, as the scaling

exponent can be considered as a trait in its own right, with its own adaptive value (Vasseur *et al.*, 2012, 2018). Moreover, it seems there is a diversity of strategies around the leaf area-stem area trend, according to the one-order-magnitude variation of the leaf shoot area for a ~50-mm² stem cross-sectional area we found for instance. This raises the question of the functional and the ecological strategies of the species displayed at the edge of the hull delimiting the whole leaf area-stem area variation.

The positive allometric leaf area-stem area scaling we found means that large-leaved species display disproportionately more leaf area per xylem area. On the four types of tissues we measured (pith, xylem, phloem, cortex), only the xylem area was allometrically related to the shoot leaf area, such that leaf area-to-xylem area ratio increases with increasing size. The shoot leaf area-xylem area scaling should be the leading driver of the overall allometric leaf area-stem area scaling. Moreover, even if phloem and cortex were isometrically related to the shoot leaf area, the scaling exponent of both relationships tend to be less than 1 (0.87 and 0.88 respectively). This tendency could participate at driving the overall allometric leaf area-stem area scaling, in an additive way.

Flexural stiffness is achieved through stem geometry

We found an increasing pith fraction when stem cross-sectional area and the shoot leaf area increase. Such anatomy allowed to reduce biomass costs for volumetric construction of large stem, since pith is mainly made of large parenchyma cells with thin and poorly lignified cell wall (Evert, 2006). The decreasing MOE with stem cross-sectional area is thus probably explained by an increase in pith fraction. Then, increasing pith fraction, by cheaply achieving large sections and volumes, allows for a higher I , with I being a two power function of the stem cross-sectional area. The allometric scaling of I balanced the loss of MOE, driving a flexural stiffness positively and allometrically related with stem cross-sectional area. In other words, thick stems are disproportionately stiffer than thin stems. This result is in agreement with Niklas (1996), who also found an allometric scaling of flexural stiffness with leaf size, but only for one species (*Acer saccharum*) at the petiole level and without incorporating anatomical observations.

The allometric scaling of flexural stiffness could be explained in two non-exclusive ways. Firstly, the disproportionate greater stiffness of large stems could suggest disproportionate mechanical stress, such as the drag forces of wind (Niklas, 1996, 1999). But such proposition should be tested, and large leaves generally exhibit a diversity of form and shape to relax the drag forces (Vogel, 2009; Nicotra *et al.*, 2011). Moreover, we can argue that

flexural stiffness is not the most relevant trait against drag forces of wind. Flexibility could also be selected to relax strain and stress, combined with a high modulus of rupture.

Secondly, the static load of leaves could also lead to disproportionate flexural stiffness on larger leaves (Niklas, 1999). We found an isometric scaling between the leaf dry mass and the stem cross-sectional area, as also between the leaf dry mass and the shoot leaf area. This suggests at first equal mechanical load on a leaf-area basis between small-leaved and large-leaved species, even if the leaf fresh mass would have been more realistic. But as the bending moment of a cantilevered beam (i.e. the leaf) scales with the cube of its length (Gere & Timoshenko, 1997; Niinemets *et al.*, 2007), support requirements should increase disproportionately. A larger leaf also represents a massive biomass investment in a unique structure. The loss of one leaf could be dramatic economically, since large leaves are generally less numerous (i.e. negative trade-off between leaf size and leafing intensity; Kleiman & Aarssen, 2007; Xiang *et al.*, 2009; Dombroskie & Aarssen, 2012; Yan *et al.*, 2013; Fan *et al.*, 2017). Overbuilding mechanically the stem, and having a high safety factor, could have been selected to preclude dramatic loss of biomass and assimilative structure.

Favouring I against MOE for increasing the flexural stiffness leads to the reduction of biomass costs. We found a positive relationship between the specific flexural stiffness (i.e. flexural stiffness divided by the stem density) and the stem-cross sectional area, suggesting that a given level of flexural stiffness is achieved cheaper for large-leaved species. Such result suggests that increasing I is a more economical way to achieve flexural stiffness. Moreover, reducing construction cost also allows to reduce construction time, i.e. stem growth and leaf expansion rate. Indeed, we know there is a general trade-off between organ or wood density, and growth performance (Chave *et al.*, 2009; Hérault *et al.*, 2011). By assuming a similar amount of carbon fixed per unit leaf area, and thus a similar amount of biomass to allocate to stem growth, Olson *et al.* (2018a) have shown that large-leaved species require higher stem growth due to greater leaf spacing. Then, this is why large-leaved species display low-density tissue, and low MOE but high I .

Finally, our study was massively conducted on large canopy and light-demanding trees. Some shade-tolerant and understorey species also exhibit large leaves (Hallé *et al.*, 1978; Bruy *et al.*, 2018), and shade-tolerant species have generally low growth rates and deploy perennial structures with high density and high lifespan (Westoby *et al.*, 2002; Poorter *et al.*, 2006; Poorter & Rozendaal, 2008). Thus, it would be of interest to look if large-leaved and shade-tolerant species exhibit a stem flexural stiffness firstly driven by MOE, in relation with denser, more lignified, and more perennial tissues and structures.

Maintenance of leaf water supplies across the size spectrum

Our study suggests that the LS-SS does not affect the leaf water supply, i.e. the amount of water supplied to each unit of leaf area. Indeed, we observed an isometric scaling between the theoretical hydraulic conductivity (K_{th}) and the shoot leaf area, when the effect of path length on K_{th} was taken into account. However, this maintenance of water supply was allowed by allometric scaling between stem vasculature and the shoot leaf area.

The increasing vessel size with the conductive path length, or axial basipetal vessel widening, is a well-known pattern usually described at the tree level along the stem (Petit *et al.*, 2008, 2010; Bettiati *et al.*, 2012; Anfodillo *et al.*, 2013; Olson *et al.*, 2014). To mitigate the hydrodynamic resistance, hydraulic optimality models (West *et al.*, 1999) predict a minimum widening rate of 0.2 (i.e. $D_h \sim \text{path length}^{0.2}$). This widening rate is found across all plants and trees when looking to the stem vasculature (Anfodillo *et al.* 2006, 2013, Petit *et al.* 2014, Olson *et al.* 2014, 2018). Our widening rate of 0.39 was higher than 0.2, but is consistent with what has been previously found, since the vessel widening rate is not constant along the total path length and tends to be higher toward the apex (Anfodillo *et al.*, 2006; Petit *et al.*, 2010; Bettiati *et al.*, 2012). Moreover, the widening rate has been found to be 2 to 3 times higher within leaves (Coomes *et al.*, 2008; Lechthaler *et al.*, 2019a; Levionnois *et al.*, *in press*). This increasing widening rate toward the apex or within leaves is not fully understood, but is thought to be linked to intense vessel furcation within the crown, within branches, and within leaves (Bettiati *et al.*, 2012; Lechthaler *et al.*, 2019a). The increasing widening rate could also be linked to hydraulic segmentation within the crown or at the stem-leaf interface, since the hydraulic segmentation hypothesis assumes that leaves should be hydraulically more resistant than stems (Tyree and Ewers 1991; Tyree and Zimmermann 2002; Pivovarov *et al.* 2014), based on “vessel constriction” (Zimmermann, 1978).

By dividing K_{th} by the conductive path length, we partially took into account this distance effect, in order to test the effect of leaf size on water supply (Lechthaler *et al.*, 2019b). The isometric scaling between our standardised K_{th} and shoot leaf area suggests that (i) the vessel widening along the shoot stem balances the increasing hydraulic resistance with path length, and that (ii) the water supply per unit leaf area is maintained across the LS-SS. In other words, small vs large leaves are not different from the point of view of water supply. This is in agreement with a recent study also demonstrating based on calculated K_{th} that axial vessel widening allows for a constant water supply per leaf area at the plant level, across a gradient of plant height (Echeverría *et al.*, 2019). However, the vessel widening rate in our study is derived

from several samples, and our study does not take into account the individual vessel widening of each sample and species contrary to past studies (Bettiati *et al.*, 2012; Petit *et al.*, 2014; Lechthaler *et al.*, 2019a), even if we can assume a convergent vessel widening across species and individuals (Olson *et al.*, 2014, 2018b; Fajardo *et al.*, 2019; Levionnois *et al.*, *in press*).

The allometric scaling between the number of vessels and the supplied shoot leaf area suggests a decrease in the number of vessels per leaf area, from the shoot apex towards the shoot base. This demonstrates at least disproportionately less vessels per leaf area at the base of the shoot of large-leaved species. This also suggests vessel furcation towards the apex, probably linked to the “morphological branching”, with the insertion of leaves (Bettiati *et al.*, 2012), and the further branching of leaf veins (Lechthaler *et al.*, 2019a).

Both vessel widening and apparent vessel fusion towards the shoot base leads to an allometric scaling between the conductive area and the shoot leaf area, with large-leaved species displaying disproportionately less conductive area per leaf area. In other words, large-leaved species display a more efficient xylem, i.e. greater water supply per unit xylem area. Indeed, K_{th} is firstly determined by vessel diameter, as the conductivity of a vessel is a fourth-power function of its diameter. Then, wider vessels at the base of large-leaved shoots allows to alleviate the number of vessels for a given water supply per leaf area. Finally, with wider vessels, a given water supply per leaf area can be achieved with less conductive area.

As numerous vessels require additional space and biomass investment (Banavar *et al.*, 1999), disproportionately less vessels and conductive area for large-leaved species allows to reduce the required xylem area per leaf area. Then, the scaling of vasculature (i.e. vessel size and number) explains the allometric scaling between xylem area and shoot leaf area we firstly observed, such that large-leaved species display disproportionately more leaf area per xylem area. Then, the allometric scaling between xylem area and shoot leaf area participates at explaining the allometric scaling between shoot leaf area and stem cross-sectional area, such that disproportionately less xylem area probably drives disproportionately less stem cross-sectional area for large-leaved species. Finally, as disproportionately less xylem area for large-leaved species alleviates stem construction cost, this should (i) facilitate the construction of larger stem volume, (ii) favour the decrease of stem density, and (iii) favour the increase of the specific flexural stiffness (see discussion above).

CONCLUSION

Combining morphological, anatomical, vascular, and mechanical measurements, we found that the leaf area-stem area scaling is allometric, dues to higher pith fraction and higher leaf area-

to-xylem area ratio for large-leaved species. Pith fraction drives a geometry-based mechanical strategy, rendering the stem of large-leaved species disproportionately stiffer. Finally, adjustments on vessel size seem to allow for the maintenance of water supply per leaf area and the mitigation of hydrodynamic resistance across the LS-SS. Our study demonstrates that the LS-SS is underlined by size related changes, notably on the anatomical topology and in the construction cost for mechanical stiffness. A better understanding the adaptive value of leaf size will need to integrate construction costs, leaf expansion times, as also leaf lifespan, and look at how all these parameters interact with light availability.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the climbing team for canopy sampling: Jocelyn Cazal, Valentine Alt, Samuel Council, Anthony Percevaux, and Elodie Courtois. We thank all the technical assistance for field work: Oscar Affholder, Louise Authier, Benoit Burban, Elia Dardevet, Frederic Fung Foong You, Eva Gril, Ruth Tchana Wandji.

The author(s) would like to thank SILVATECH (Silvatech, INRA, 2018. Structural and functional analysis of tree and wood Facility, doi: 10.15454/1.5572400113627854E12) from UMR 1434 SILVA, 1136 IAM, 1138 BEF and 4370 EA LERMAB EEF research center INRA Nancy-Lorraine for its contribution to the realisation of anatomical cuts. SILVATECH facility is supported by the French National Research Agency through the Laboratory of Excellence ARBRE (ANR-11-LABX-0002-01).

This study was funded by the GFclim project (FEDER 20142020, Project GY0006894) and an “Investissement d’Avenir” grant from the Agence Nationale de la Recherche (CEBA: ANR-10-LABX-0025; ARBRE, ANR-11-LABX-0002-01). S.L. was supported by a doctoral fellowship from CEBA.

LITERATURE

- Abramoff MD, Magalhães PJ, Ram SJ. 2004.** Image processing with ImageJ. *Biophotonics International* **11**: 36–42.
- Ackerly D, Donoghue MJ. 1998.** Leaf size, sapling allometry, and Corner's rules: phylogeny and correlated evolution in maples (*Acer*). *The American Naturalist* **152**: 767–791.
- Aguilos M, Stahl C, Burban B, Herault B, Courtois EA, Coste S, Wagner F, Ziegler C, Takagi K, Bonal D. 2019.** Interannual and seasonal variations in ecosystem transpiration and water use efficiency in a tropical rainforest. *Forests* **10**: 20.
- Anfodillo T, Carraro V, Carrer M, Fior C, Rossi S. 2006.** Convergent tapering of xylem conduits in different woody species. *New Phytologist* **169**: 279–290.
- Anfodillo T, Petit G, Crivellaro A. 2013.** Axial conduit widening in woody species: a still neglected anatomical pattern. *IAWA Journal* **34**: 352–364.
- Banavar JR, Maritan A, Rinaldo A. 1999.** Size and form in efficient transportation networks. *Nature* **399**: 130.
- Bettiati D, Petit G, Anfodillo T. 2012.** Testing the equi-resistance principle of the xylem transport system in a small ash tree: empirical support from anatomical analyses. *Tree Physiology* **32**: 171–177.
- Brouat C, Gibernau M, Amsellem L, McKey D. 1998.** Corner's Rules revisited: ontogenetic and interspecific patterns in leaf-stem allometry. *The New Phytologist* **139**: 459–470.
- Brouat C, McKey D. 2001.** Leaf-stem allometry, hollow stems, and the evolution of caulinary domatia in myrmecophytes. *New Phytologist* **151**: 391–406.
- Bruy D, Hattermann T, Barrabé L, Mouly A, Barthélémy D, Isnard S. 2018.** Evolution of Plant Architecture, Functional Diversification and Divergent Evolution in the Genus *Atractocarpus* (Rubiaceae) for New Caledonia. *Frontiers in Plant Science* **9**.
- Chave J, Coomes D, Jansen S, Lewis SL, Swenson NG, Zanne AE. 2009.** Towards a worldwide wood economics spectrum. *Ecology Letters* **12**: 351–366.
- Coomes DA, Heathcote S, Godfrey ER, Shepherd JJ, Sack L. 2008.** Scaling of xylem vessels and veins within the leaves of oak species., Scaling of xylem vessels and veins within the leaves of oak species. *Biology letters, Biology Letters* **4**, **4**: 302, 302–306.
- Corner E.J.H. 1949.** The Durian Theory or the origin of the modern tree. *Annals of Botany* **13**: 367–414.
- Dlouhá J, Alméras T, Beauchêne J, Clair B, Fournier M. 2018.** Biophysical dependences among functional wood traits. *Functional Ecology* **32**: 2652–2665.
- Dombroskie SL, Aarssen LW. 2012.** The leaf size/number trade-off within species and within plants for woody angiosperms. *Plant Ecology and Evolution* **145**: 38–45.
- Donaldson L. 2008.** Microfibril angle: Measurement, variation and relationships - A review. *IAWA Journal* **29**: 345–386.
- Echeverría A, Anfodillo T, Soriano D, Rosell JA, Olson ME. 2019.** Constant theoretical conductance via changes in vessel diameter and number with height growth in *Moringa oleifera*. *Journal of Experimental Botany* **70**: 5765–5772.
- Evert R. 2006.** Parenchyma and collenchyma. In: Esau's Plant Anatomy. Wiley-Blackwell, 175–190.
- Fajardo A, Martínez-Pérez C, Cervantes-Alcayde MA, Olson ME. 2019.** Stem length, not climate, controls vessel diameter in two trees species across a sharp precipitation gradient. *New Phytologist* **n/a**.
- Falster DS, Warton DI, Wright II. 2006.** User's guide to SMATR: Standardised Major Axis Tests & Routines Version 2.0, Copyright 2006. *R instructions*.
- Fan Z-X, Sterck F, Zhang S-B, Fu P-L, Hao G-Y. 2017.** Tradeoff between Stem Hydraulic Efficiency and Mechanical Strength Affects Leaf–Stem Allometry in 28 Ficus Tree Species. *Frontiers in Plant Science* **8**.
- Gere JM, Timoshenko SP. 1997.** *Mechanics of materials*. Boston: PWS Publishing Company.
- Gleason SM, Blackman CJ, Gleason ST, McCulloh KA, Ocheltree TW, Westoby M. 2018.** Vessel scaling in evergreen angiosperm leaves conforms with Murray's law and area-filling assumptions: implications for plant size, leaf size and cold tolerance. *New Phytologist* **218**: 1360–1370.
- Gourlet-Fleury S, Guehl JM, Laroussine O. 2004.** *Ecology and management of a neotropical rainforest : lessons drawn from Paracou, a long-term experimental research site in French Guiana*. Paris: Elsevier.
- Hallé F, Oldeman RAA, Tomlinson PB. 1978.** *Tropical trees and forests - An architectural analysis*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Harvey PH, Pagel MD. 1991.** *The comparative method in evolutionary biology*. Oxford University Press.
- Hérault B, Bachelot B, Poorter L, Rossi V, Bongers F, Chave J, Paine CET, Wagner F, Baraloto C. 2011.** Functional traits shape ontogenetic growth trajectories of rain forest tree species. *Journal of Ecology* **99**: 1431–1440.
- Kleiman D, Aarssen LW. 2007.** The leaf size/number trade-off in trees. *Journal of Ecology* **95**: 376–382.
- 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 Phytologist* **204**: 747–764.

- Lauri P-É. 2019.** Corner's rules as a framework for plant morphology, architecture and functioning – issues and steps forward. *New Phytologist* **221**: 1679–1684.
- Lechthaler S, Colangeli P, Gazzabin M, Anfodillo T. 2019a.** Axial anatomy of the leaf midrib provides new insights into the hydraulic architecture and cavitation patterns of *Acer pseudoplatanus* leaves. *Journal of Experimental Botany*.
- Lechthaler S, Turnbull TL, Gelmini Y, Pirotti F, Anfodillo T, Adams MA, Petit G. 2019b.** A standardization method to disentangle environmental information from axial trends of xylem anatomical traits. *Tree Physiology* **39**: 495–502.
- Liu Z, Cai Y, Li K, Guo J. 2010.** The leaf size–twig size spectrum in evergreen broadleaved forest of subtropical China. *African Journal of Biotechnology* **9**: 3382–3387.
- Mahley JN, Pittermann J, Rowe N, Baer A, Watkins JE, Schuettpeiz E, Wheeler JK, Mehltreter K, Windham M, Testo W, et al. 2018.** Geometry, allometry and biomechanics of fern leaf petioles: their significance for the evolution of functional and ecological diversity within the Pteridaceae. *Frontiers in Plant Science* **9**.
- McCulloh KA, Sperry JS, Adler FR. 2003.** Water transport in plants obeys Murray's law. *Nature* **421**: 939.
- Nicotra AB, Leigh A, Boyce CK, Jones CS, Niklas KJ, Royer DL, Tsukaya H. 2011.** The evolution and functional significance of leaf shape in the angiosperms. *Functional Plant Biology* **38**: 535–552.
- Niinemets Ü, Portsmuth A, Tena D, Tobias M, Matesanz S, Valladares F. 2007.** Do we underestimate the importance of leaf size in plant economics? Disproportional scaling of support costs within the spectrum of leaf physiognomy. *Annals of Botany* **100**: 283.
- Niklas KJ. 1996.** Differences between *Acer saccharum* Leaves from Open and Wind-Protected Sites. *Annals of Botany* **78**: 61–66.
- Niklas KJ. 1999.** A mechanical perspective on foliage leaf form and function. *New Phytologist* **143**: 19–31.
- Normand F, Bissery C, Damour G, Lauri P-É. 2008.** Hydraulic and mechanical stem properties affect leaf–stem allometry in mango cultivars. *New Phytologist* **178**: 590–602.
- Olson ME, Aguirre-Hernández R, Rosell JA. 2009.** Universal foliage-stem scaling across environments and species in dicot trees: plasticity, biomechanics and Corner's Rules. *Ecology Letters* **12**: 210–219.
- Olson ME, Anfodillo T, Rosell JA, Petit G, Crivellaro A, Isnard S, León-Gómez C, Alvarado-Cárdenas LO, Castorena M. 2014.** Universal hydraulics of the flowering plants: vessel diameter scales with stem length across angiosperm lineages, habits and climates. *Ecology Letters* **17**: 988–997.
- Olson ME, Rosell JA. 2013.** Vessel diameter–stem diameter scaling across woody angiosperms and the ecological causes of xylem vessel diameter variation. *New Phytologist* **197**: 1204–1213.
- Olson ME, Rosell JA, Zamora Muñoz S, Castorena M. 2018a.** Carbon limitation, stem growth rate and the biomechanical cause of Corner's rules. *Annals of Botany* **122**: 583–592.
- Olson ME, Soriano D, Rosell JA, Anfodillo T, Donoghue MJ, Edwards EJ, León-Gómez C, Dawson T, Martínez JJC, Castorena M, et al. 2018b.** Plant height and hydraulic vulnerability to drought and cold. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **115**: 7551–7556.
- Osada N, Nabeshima E, Hiura T. 2015.** Geographic variation in shoot traits and branching intensity in relation to leaf size in *Fagus crenata*: A common garden experiment. *American Journal of Botany*.
- Petit G, Anfodillo T, Mencuccini M. 2008.** Tapering of xylem conduits and hydraulic limitations in sycamore (*Acer pseudoplatanus*) trees. *New Phytologist* **177**: 653–664.
- Petit G, DeClerck FAJ, Carrer M, Anfodillo T. 2014.** Axial vessel widening in arborescent monocots. *Tree Physiology* **34**: 137–145.
- Petit G, Pfautsch S, Anfodillo T, Adams MA. 2010.** The challenge of tree height in *Eucalyptus regnans*: when xylem tapering overcomes hydraulic resistance. *The New Phytologist* **187**: 1146–1153.
- Pivovarovoff A, Sack S, Santiago L. 2014.** Coordination of stem and leaf hydraulic conductance in southern California shrubs: a test of the hydraulic segmentation hypothesis. *New Phytologist* **203**: 842–850.
- Poorter L, Bongers L, Bongers F. 2006.** Architecture of 54 Moist-Forest Tree Species: Traits, Trade-Offs, and Functional Groups. *Ecology* **87**: 1289–1301.
- Poorter, Rozendaal DMA. 2008.** Leaf size and leaf display of thirty-eight tropical tree species. *Oecologia* **158**: 35–46.
- Prendin AL, Mayr S, Beikircher B, von Arx G, Petit G. 2018.** Xylem anatomical adjustments prioritize hydraulic efficiency over safety as Norway spruce trees grow taller. *Tree Physiology* **38**: 1088–1097.
- Preston KA, Ackerly DD. 2003.** Hydraulic architecture and the evolution of shoot allometry in contrasting climates. *American Journal of Botany* **90**: 1502–1512.
- Rosell JA, Olson ME, Anfodillo T. 2017.** Scaling of xylem vessel diameter with plant size: causes, predictions, and outstanding questions. *Current Forestry Reports* **3**: 46–59.
- Sinnott EW. 1921.** The Relation between Body Size and Organ Size in Plants. *The American Naturalist* **55**: 385–403.

- Sun S, Jin D, Shi P. 2006.** The Leaf Size–Twig Size Spectrum of Temperate Woody Species Along an Altitudinal Gradient: An Invariant Allometric Scaling Relationship. *Annals of Botany* **97**: 97–107.
- Tyree MT, Ewers FW. 1991.** The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *New Phytologist* **119**: 345–360.
- Tyree, Zimmermann. 2002.** *Xylem Structure and the Ascent of Sap*. Springer.
- Vasseur F, Exposito-Alonso M, Ayala-Garay OJ, Wang G, Enquist BJ, Vile D, Violle C, Weigel D. 2018.** Adaptive diversification of growth allometry in the plant *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **115**: 3416–3421.
- Vasseur F, Violle C, Enquist BJ, Granier C, Vile D. 2012.** A common genetic basis to the origin of the leaf economics spectrum and metabolic scaling allometry. *Ecology Letters* **15**: 1149–1157.
- Vogel S. 2009.** Leaves in the lowest and highest winds: temperature, force and shape. *New Phytologist* **183**: 13–26.
- Warton DI, Wright IJ, Falster DS, Westoby M. 2006.** Bivariate line-fitting methods for allometry. *Biological Reviews* **81**: 259–291.
- West GB, Brown JH, Enquist BJ. 1999.** A general model for the structure and allometry of plant vascular systems. *Nature* **400**: 664–667.
- Westoby M, Falster DS, Moles AT, Vesk PA, Wright IJ. 2002.** Plant ecological strategies: some leading dimensions of variation between species. *Annual Review of Ecology and Systematics* **33**: 125–159.
- Westoby M, Wright IJ. 2003.** The Leaf Size-Twig Size Spectrum and Its Relationship to Other Important Spectra of Variation among Species. *Oecologia* **135**: 621–628.
- White PS. 1983a.** Corner’s Rules in Eastern deciduous trees: allometry and its implications for the adaptive architecture of trees. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* **110**: 203–212.
- White PS. 1983b.** Evidence that temperate east north american evergreen woody plants follow Corner’s rule. *New Phytologist* **95**: 139–145.
- Xiang S, Liu Y, Fang F, Wu N, Sun S. 2009.** Stem Architectural Effect on Leaf Size, Leaf Number, and Leaf Mass Fraction in Plant Twigs of Woody Species. *International Journal of Plant Sciences* **170**: 999–1008.
- Yan E-R, Wang X-H, Chang SX, He F. 2013.** Scaling relationships among twig size, leaf size and leafing intensity in a successional series of subtropical forests. *Tree Physiology* **33**: 609–617.
- Yang D, Li G, Sun S. 2009.** The Effects of Leaf Size, Leaf Habit, and Leaf Form on Leaf/Stem Relationships in Plant Twigs of Temperate Woody Species. *Journal of Vegetation Science* **20**: 359–366.
- Zimmermann MH. 1978.** Hydraulic architecture of some diffuse-porous trees. *Canadian Journal of Botany* **56**: 2286–2295.

SUPPORTING INFORMATION

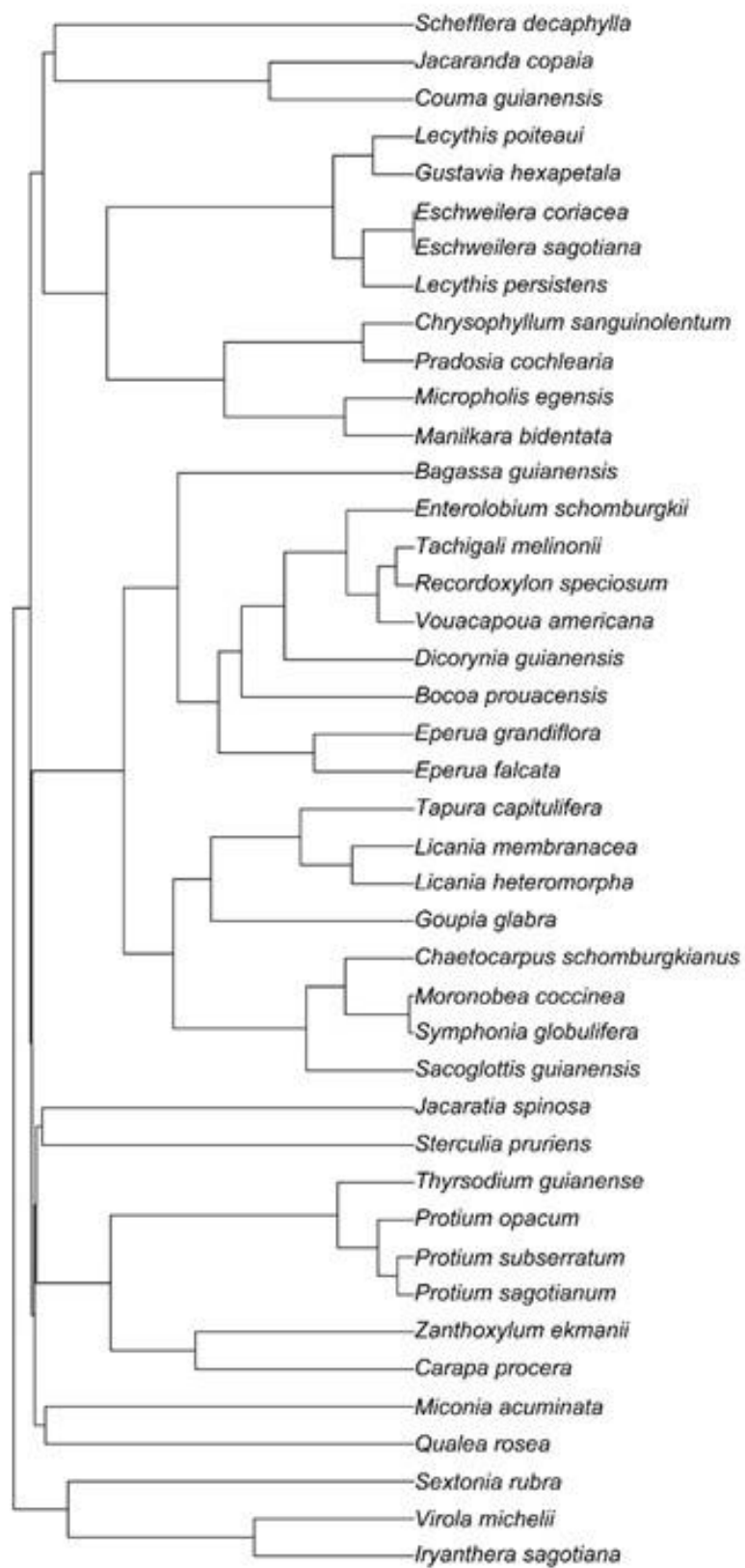


Fig. S1. Phylogenetic tree of the 42 species.

CHAPITRE 3

**Scaling of petiole anatomies, mechanics, and
vasculatures with leaf size in the widespread
Neotropical pioneer tree species *Cecropia obtusa*
Trécul (Urticaceae)**

Chapitre 3

Relations entre l'anatomie, la mécanique, la vascularisation du pétiole et la surface du limbe pour l'arbre pionnier Néotropical *Cecropia obtusa* Trécul (Urticaceae)

RÉSUMÉ

1. Même si le spectre de l'économie foliaire (LES) a approfondi notre compréhension sur les corrélations entre traits foliaires, peu de choses sont connues sur la relation entre les traits foliaires et la surface de la feuille. Nous avons étudié la nature des relations entre les traits morphologiques, anatomiques, et vasculaires avec la surface de la feuille, ainsi que la signification fonctionnelle de ces relations.

2. Pour 38 arbres de *Cecropia obtusa* Trécul (Urticaceae) en Guyane française, nous avons étudié 2800 feuilles pour les traits morphologiques, et 124 feuilles pour les traits anatomiques et hydrauliques. *Cecropia* est un genre Néotropical d'arbres pionniers qui peuvent avoir de grandes feuilles (0.4m² pour *C. obtusa*), et qui montre une grande gamme de variation de la surface de la feuille avec deux ordres de grandeur. Nous avons mesuré (i) la proportion des tissus dans le pétiole et leur contribution géométrique respective dans la rigidité mécanique (ii) l'efficacité hydraulique théorique du xylème des pétioles, et (iii) le facteur d'élargissement des vaisseaux avec la longueur du chemin hydraulique.

3. Des relations disproportionnelles entre les traits morphologiques permettent l'optimisation de l'exposition du limbe pour les grandes feuilles. L'augmentation de la proportion de moelle est un facteur clé permettant d'augmenter l'effet géométrique des tissus de soutien dans la rigidité mécanique, tout en augmentant l'efficacité de l'utilisation du carbone dans la construction de ces tissus. L'augmentation de l'efficacité hydraulique du xylème avec le diamètre des vaisseaux permet un ratio entre la surface de limbe et la surface de xylème plus important, résultat dans de potentielles économies de carbone pour les grandes feuilles. Le rythme d'élargissement des vaisseaux est cohérent avec les modèles d'optimalité hydraulique. L'absence théorique d'un tel mécanisme serait délétère pour l'alimentation en eau du limbe.

4. La variabilité de la surface de la feuille modifie la relation entre les traits foliaires.

Mots-clés: allométrie, conductivité hydraulique théorique, surface foliaire, anatomie du pétiole, élargissement des vaisseaux, xylème.

Chapter 3

Scaling of petiole anatomies, mechanics, and vasculatures with leaf size in the widespread Neotropical pioneer tree species *Cecropia obtusa* Trécul (Urticaceae)

Sébastien Levionnois^{1*}, Sabrina Coste¹, Eric Nicolini², Clément Stahl¹, Hélène Morel¹, Patrick Heuret^{1,2*}

1. UMR EcoFoG, AgroParisTech, CIRAD, CNRS, INRA, UA, UG, 97379 Kourou Cedex France.

2. UMR AMAP, CIRAD, CNRS, INRA, IRD, Université de Montpellier, 34398 Montpellier, France.

Author contributions

P.H. conceived and designed the study; P.H., S.L., E.N., S.C., H.M. and C.S. collected field samples and measured morphological traits; S.L. performed anatomical sections and images analysis; S.L. and P.H performed data analysis; S.L. and P.H. wrote the manuscript; all authors discussed the results and contributed valuable comments on the manuscript.

ABSTRACT

1. Although the leaf economic spectrum has deepened our understanding of leaf trait variability, little is known about how leaf traits scale with leaf area. This uncertainty has resulted in the assumption that leaf traits should vary by keeping the same pace of variation with increases in leaf area across the leaf size range. We evaluated the scaling of morphological, tissue-surface, and vascular traits with overall leaf area, and the functional significance of such scaling.

2. We examined 1271 leaves for morphological traits, and 124 leaves for anatomical, and hydraulic traits, from 38 trees of *Cecropia obtusa* Trécul (Urticaceae) in French Guiana. *Cecropia* is a Neotropical genus of pioneer trees that can exhibit large laminas (0.4 m² for *C. obtusa*), with leaf size ranging by two orders of magnitude. We measured (i) tissue fractions within petioles and their second moment of area, (ii) theoretical xylem hydraulic efficiency of petioles, and (iii) the extent of leaf vessel widening within the hydraulic path.

3. We found that different scaling of morphological trait variability allows for optimisation of lamina display among larger leaves, especially the positive allometric relationship between lamina area and petiole cross-sectional area. Increasing the fraction of pith is a key factor that increases the geometrical effect of supportive tissues on mechanical rigidity and thereby increases carbon-use efficiency. We found that increasing xylem hydraulic efficiency with vessel size results in lower leaf lamina area: xylem ratios, which also results in potential carbon savings for large leaves. We found that the vessel widening is consistent with hydraulic optimisation models.

4. Leaf size variability modifies scaling of leaf traits in this large-leaved species.

Key words: allometry, theoretical hydraulic conductivity, leaf size, petiole anatomy, scaling, vessel widening, xylem.

INTRODUCTION

Leaf traits have received wide attention over recent years because of the major roles they play in the plant carbon economy. A current, widely accepted paradigm exists as part of the global spectrum of leaf economy (LES), which emphasizes the importance of “quick” to “slow” returns on physiological investments (Wright *et al.* 2004). In this framework, coordination between structural, chemical, and physiological traits has been convincingly described within and between species (Poorter and Evans 1998; Reich *et al.* 1998; Hikosaka 2004; Shipley *et al.* 2006; Niinemets 2015; Onoda *et al.* 2017). Some studies have also investigated some of the anatomical and physiological changes underlying the variability of traits underpinning the LES, such as leaf mass per area (LMA; Scoffoni *et al.* 2016, John *et al.* 2017, Onoda *et al.* 2017). Leaf size (i.e. petiole length and diameter, lamina length, and mainly lamina area), on the other hand, has been generally studied as disconnected from the LES, or has been shown to be decoupled from the LES (Baraloto *et al.* 2010), although it is a trait that can vary hugely, encompassing six orders of magnitude across vascular plants (Niinemets *et al.* 2007; Milla and Reich 2007; Wright *et al.* 2017). For instance, leaf size is certainly subject to strong selective pressures such as light interception (Poorter and Rozendaal 2008; Smith *et al.* 2017) or temperature regulation (Gates 1968; Parkhurst and Loucks 1972; Leigh *et al.* 2017). The leaf size – stem size relationship and other related concepts (Corner’s rules; (Corner 1949; White 1983a; b; Ackerly and Donoghue 1998); leaf-stem allometry (Brouat *et al.* 1998; Brouat and McKey 2001; Fan *et al.* 2017), the leaf size-twig size spectrum (Westoby *et al.* 2002) and the leptocaulis-pachycaulis spectrum (Hallé *et al.* 1978)) have been a fruitful framework to tackle the within- and among-species leaf size variability (Westoby *et al.* 2002), but the related studies remain mainly based on morphological traits (i.e. lamina area, stem cross-sectional area, internode length, petiole length...), rather than anatomical or physiological traits (however see Normand *et al.* 2008, Fan *et al.* 2017).

A key aspect of the knowledge gathered from leaf size – stem size relationships, involves crucial questions about how and why leaf size varies across the plant kingdom. The traits expressed in different lamina-petiole functional scaling (i.e. allometric vs isometric) within and between species is likely of significance for these questions. Relationships between two traits x and y can be described as: $y = ax^b$, such as: $\log(y) = \log(a) + b * \log(x)$, where b is the slope (or allometric exponent) and a the intercept (allometric coefficient). An isometric relationship, when $b = 1$, is a linear and proportionality relationship, implying no change of organ or organism form and shape over ontogeny, or across species. An allometric relationship, when $b \neq 1$, is a non-linear and disproportionality relationship, underlying different pace of

variation between two traits, and implying changes of organ or organism form and shape. Discerning allometric vs isometric relationships between organ or organism traits is an important priority, since different functional requirements can be reflected between small vs large organs or organisms, and finally different responses to selective pressures (Harvey and Pagel 1991; Brouat *et al.* 1998). The lamina-petiole relationship, or the relationship between a given leaf trait with leaf size, has been little studied in this scaling perspective. This gives scattered ideas if leaf size affects leaf functional requirements, and further if sampling both small and large leaves make a big difference for mechanical, hydraulic, and photosynthetic quantifications.

First, a set of studies have argued that larger leaves are disproportionately more carbon expensive, based on the fact that the leaf area fails to keep pace with increases in leaf dry mass, at both inter- (Niinemets *et al.* 2006, Niklas *et al.* 2007, Niinemets *et al.* 2007, Niklas and Cobb 2008, Li *et al.* 2008, Niklas *et al.* 2009, Yang *et al.* 2010) and intraspecific levels (Milla and Reich 2007; Sun Jun *et al.* 2017). The main explanation is that support requirements increase disproportionately, as the bending moment of a cantilevered beam –as a petiole- scales with the cube of its length (Gere and Timoshenko 1997; Niinemets *et al.* 2007), in addition to the drag forces applied to the leaf. The leaf mass-leaf area scaling has been relatively little studied at the intraspecific level (Sun Jun *et al.* 2017). Moreover, the leaf area-petiole cross-sectional area scaling has received less attention. Fan *et al.* (2017) report an isometric relationship across 28 *Ficus* species. Price and Enquist (2007)'s empirical data support an isometric leaf area-petiole cross-sectional area relationship for 5 out of 18 species, and an allometric relationship for 13 out of 18 species. Finally, for both leaf mass-leaf area and leaf area-petiole cross-sectional area scalings, we do not know the size-related anatomy underlying these scalings.

Mechanical measurements have been applied in relation to leaf area. Studies of (Niklas 1991, 1992) and (Mahley *et al.* 2018) demonstrated that small vs large leaves are not mechanically equivalent regarding flexural stiffness, both within and across species, with petioles of large leaves being disproportionately stiffer. But the mechanical structure driving the flexural stiffness between small vs large leaves remains poorly described (Niklas 1999). Mechanical stability can be achieved through two properties: the material property and the geometry. Modification of petiole tissue surfaces and fractions across a leaf size range can determine the mechanical contribution through geometry of main supportive tissues such as xylem, collenchyma, and sclerenchyma (Faisal *et al.* 2010; Niklas and Spatz 2012). Pith is largely made of large parenchyma cells, and is a cheap due to weak cell wall lignification and fine cell walls (Evert 2006). As the pith generally occupies the central position within an organ,

modifying pith area and fraction could be an efficient way to generate volume with decreased carbon costs (Olson, Rosell, *et al.* 2018). Moreover, when pith fraction increases, it mechanically shifts external and supportive tissues (xylem, sclerenchyma, collenchyma) centrifugally, increasing the second moment of inertia of these tissues. Second moment of area quantifies the distribution of mass in a cross-section with respect to the centre of inertia of the cross-section, and this describes the important effect of size and geometry of the cross-section in mechanics. The prevalent role of cross-sectional geometry in the stiffness of petioles has been shown by (Mahley *et al.* 2018), but only for ferns, which exhibit a very different anatomy in comparison to flowering plants.

In comparison to the leaf dry mass-area scaling or petiole mechanics, little is currently known on the link between leaf size, leaf hydraulic conductivity and vascular architecture. Understanding size-related changes of leaf hydraulics and vasculature is important to address size-independent variation, as pointed out for stems (Olson *et al.* 2009). The West-Brown-Enquist model (WBE model) assumes that the variation of terminal (i.e. minor veins) conduit size and number is independent of leaf size (West *et al.* 1999; Price and Enquist 2007). Supporting this assumption, Sack *et al.* (2012) have shown that the global vein density across species is independent of leaf size, even if major vein density decreases with leaf size. (Fiorin *et al.* 2016) suggest that the spatial organisation of stomata with veins is uniform across leaves of different species. But it can also be hypothesised that small vs large leaves across and within species have to deal with different selective pressures regarding conductive path length and the water supply per unit leaf area. Indeed, across the leaf size range, plants should maintain constant leaf conductance per unit leaf area (K_{leaf} , $\text{kg MPa}^{-1} \text{s}^{-1} \text{m}^{-2}$), or at least minimise the loss of K_{leaf} , to sustain transpiration and carbon assimilation (Petit *et al.* 2016; Pittermann *et al.* 2018; Echeverría *et al.* 2019).

A longer leaf implies *de facto* a longer conductive path length that would thus increase hydraulic resistance and likely affect K_{leaf} in the absence of appropriate vascular adjustments. Theoretical models and empirical data support that the axial basipetal widening in vessel diameter reduces the increase of hydrodynamic resistance with conductive path length (West *et al.* 1999; Becker *et al.* 2000; Enquist 2003; Anfodillo *et al.* 2013; Olson *et al.* 2014). To our knowledge only two studies measured vessel widening within leaves: Coomes *et al.* (2008) for ten oak species, and (Lechthaler *et al.* 2019) for one species of *Acer*. Yet, these studies suggest higher rates of vessel widening within leaves, in comparison to stems. This is consistent with the fact that leaves concentrate a significant part of the hydraulic resistance of the plant (Sack and Holbrook 2006), owing to different vascular architecture between leaves and stems.

A larger leaf also implies *de facto* a larger lamina area to supply with water, and thus an appropriate and sufficient petiole conductivity is required. Increasing the xylem area to increase the number of vessels, or increasing the vessel diameter are two non-exclusive ways of reducing total resistance, and increase petiole and vein conductivity to achieve a sufficient leaf water supply. However, increasing the number of vessels comes at the cost of increasing carbon cost (Banavar *et al.* 1999; McCulloh *et al.* 2003; Gleason *et al.* 2018). The conductivity of a vessel increases with the fourth power of its diameter as predicted by the Hagen-Poiseuille law (Tyree and Zimmermann 2002). Thus, a small increase in vessel diameter will drive an exponential increase in the vessel conductivity, but potentially at the cost of increasing embolism risk. A positive allometric relationship of vasculature with size should increase the xylem conductive efficiency (namely xylem-specific conductivity, which is the xylem conductivity divided by the xylem surface), and therefore should limit xylem volume and construction cost. Investigating the petiole xylem and vasculature according to leaf size can be readily implemented, and should highlight some hydraulic-related selective pressures correlating with the leaf size variability, at both inter- and intraspecific levels.

We chose to investigate lamina-petiole traits at the intraspecific level as a first step. We focussed this study on the genus *Cecropia*, which is known for its hyperdominant pioneer trees that are pivotal in the initiation of tropical forest successions. We selected *Cecropia obtusa* Trécul (Uticaceae), which is a widespread species from the Guiana shield, capable of deploying large leaves with a large size range (100 – 4000 cm²), appropriate for addressing the lamina-petiole scaling with petiole anatomical and vasculature correlates, at the intraspecific level. We measured leaf morphology, tissue areas of the petiole, petiole vascular and theoretical conductive traits. We built a dataset of 1271 leaves from 38 trees, with anatomical and vascular data for 124 leaves. We aimed to address the following questions:

(i) Is the form of the lamina-petiole scaling isometric or allometric? We hypothesise to find allometric lamina area-petiole cross-sectional area and lamina mass-petiole mass relationships, with petiole mass increasing faster as mechanical requirements disproportionately increase.

(ii) How does petiole anatomy determine petiole mechanics? We hypothesise that pith fraction increases with leaf size, minimising volumetric construction cost, and enhancing mechanical strength through geometry by shifting supportive tissues centrifugally.

(iii) How do longitudinal adjustments of xylem and vasculature variations limit loss of K_{leaf} and construction costs? We hypothesise that K_{leaf} loss limitation for larger leaves is allowed by vessel basipetal widening according to the leaf size and the conductive path length. We

hypothesise to find a higher rate of vessel widening within the leaf in comparison to what is known for the stem, consistent with leaves supporting a large amount of the total hydraulic resistance of plants. We also hypothesise that less construction cost is possible than under the hypothesis of an invariable vessel diameter, thanks to a more efficient xylem due to wider vessels, enabling more lamina area per xylem area.

MATERIALS AND METHODS

Study site

The study was conducted in French Guiana along a forestry road in Counami (N5.41430°, W53.17547°, geodesic system WGS84) where the entrance to the road is located 5 km to the east of Iracoubo municipality. The warm wet tropical climate of French Guiana is highly seasonal due to the north-south movement of the Inter-Tropical Convergence Zone. Mean annual rainfall is 2726 mm year⁻¹ and annual mean air temperature is 25.7 °C (Gourlet-Fleury *et al.* 2004). There is a dry season lasting from mid-August to mid-November, during which rainfall is < 100 mm month⁻¹.

Plant material, sampling and morphological measurements

Tree sizes ranged from 10.8 to 23.1 m in height, and 6.21 to 30.49 cm in diameter at breast height. Trees were evenly felled in time from September 2014 to October 2016. All the leaves in the crown were cut by cutting the petiole as close as possible to its insertion point with the stem and placed immediately in plastic bags within coolers. One to five fully expanded leaves per tree -hereafter called A-leaves - were kept for the anatomical studies.

Cecropia leaves are palmatilobate (Fig. 1b; Fig. S1) and so there is no single midrib but the same number of midribs as there are lobes, i.e. a midrib departs into and supplies each lobe. In the laboratory, all the leaves were processed within 4 hours after felling to keep them as fresh as possible. Petioles were cut as close to the lamina as possible. Two orthogonal diameters (mm) of each petiole, at the middle point of the petiole, were measured because of the tendency of *Cecropia* petioles to exhibit an ellipse shape (Fig. S1; Table 1 for a list of traits and abbreviation). From these two diameters, a cross-sectional area was derived in the shape of an ellipse (A_{pet} , mm²; Fig. S1). For each lamina, the length of the main lobe (i.e. the largest one in the continuation of the petiole; cm) was measured. In the A-leaves, two 1-cm-long petiole segments in the median position was sampled (Fig. S1). The first segment was

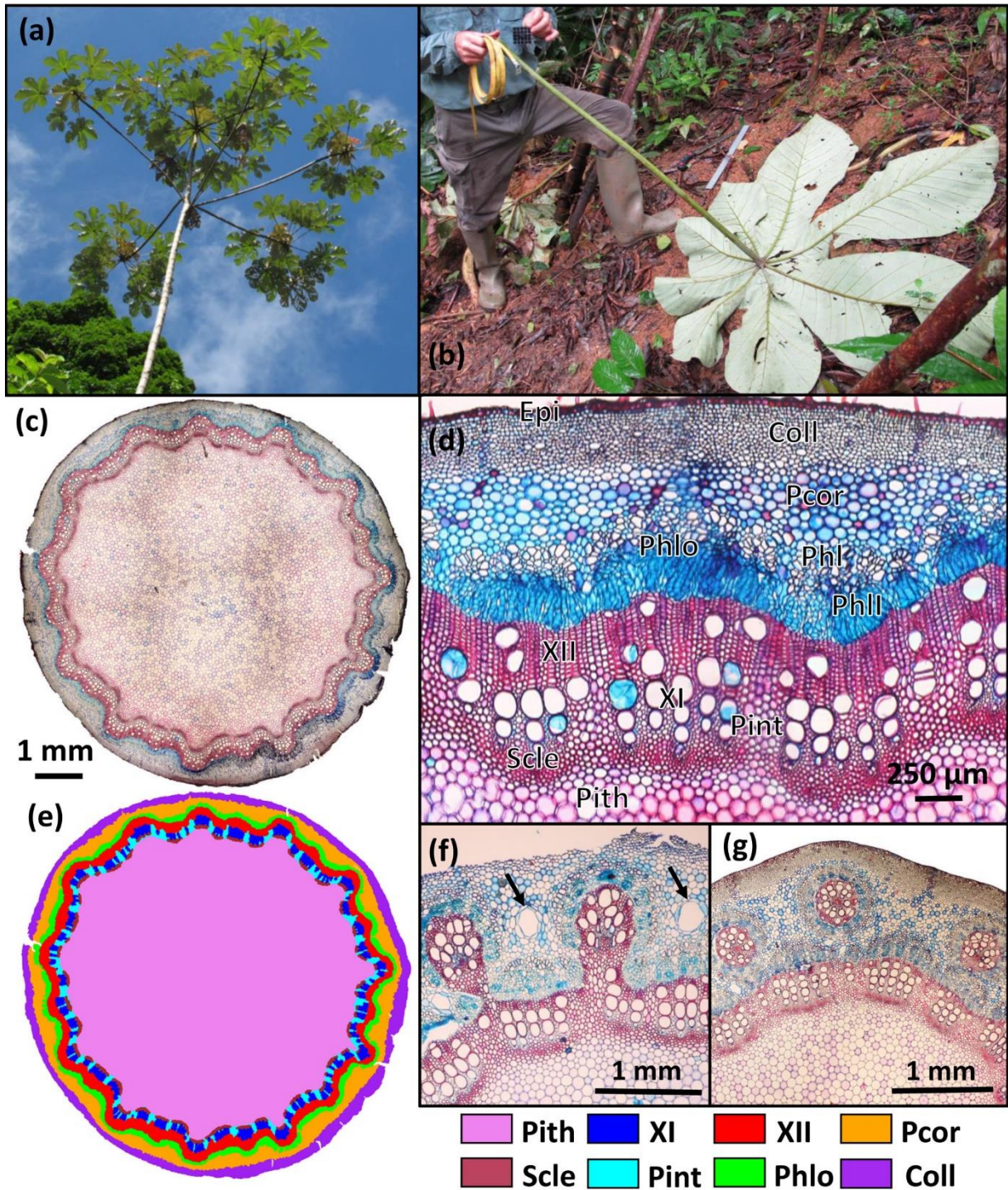


Fig. 1. Habits, morphological and petiole-anatomical aspects of *C. obtusa* (Urticaceae). (a) Habits of *C. obtusa*. (b) Leaf of *C. obtusa*. (c) Petiole cross-sectional anatomy of *C. obtusa* in the middle part of the petiole. (d) Close-up of petiole constitutive tissues: pith (Pith), sclerenchyma (Scle), interfascicular parenchyma (Pint), primary xylem (XI), secondary xylem (XII), total phloem (Phlo), primary phloem (PhI), secondary phloem (PhII), cortical parenchyma (Pcor), collenchyma (Coll) and epidermis (Epi). (e) Tissues and corresponding layer masks studied. (f) “Wavy” cambium with a sub-bicyclic array of vascular bundles. Arrows represent laticiferous canals. (g) Cambial discontinuities, island-like vascular bundles and a bicyclic array of vascular bundles.

Table 1. List of measured traits and abbreviations

Trait	Abbreviation	Unit	Formula
Petiole cross-sectional area	A_{pet}	mm^2	
Petiole dry mass	M_{pet}	g	
Lamina dry mass	M_{lamina}	g	
Leaf dry mass	M_{leaf}	g	$M_{\text{leaf}} = M_{\text{petiole}} + M_{\text{lamina}}$
Lamina area	A_{lamina}	cm^2	
Petiole density	PD	g cm^3	$\text{PD} = M_{\text{dry}} / (M_{\text{fresh}} - M_{\text{immersed}})$
Second moment of area of a ring-like tissue	I	mm^4	$I = \pi/4 * (r_{\text{ext}}^4 - r_{\text{int}}^4)$ with r_{ext} and r_{int} ring external and internal radii respectively
Approximated petiole flexural stiffness		$\text{g mm}^4 \text{ cm}^{-3}$	$I * \text{PD}$
Conductive path length	PL	cm	
Mean hydraulic diameter	D_h	μm	$D_h = (\sum D_v^4 / N)^{1/4}$ $D_v = [32(ab)3/(a^2+b^2)]^{1/4}$
Vessel hydraulic diameter	D_v	μm	a and b major and minor ellipse diameters
Number of vessels	N_{vessel}		
Conductive area	CA	mm^2	$\text{CA} = \pi(D_h/2)^2 * N_{\text{vessel}}$
Theoretical hydraulic conductivity	K_{th}	$\text{kg s}^{-1} \text{ MPa}^{-1} \text{ m}$	$K_{\text{th}} = \sum K_{\text{ellipse}}$
Theoretical leaf conductance	$K_{\text{leaf,null}}$	$\text{kg s}^{-1} \text{ MPa}^{-1} \text{ m}^{-2}$	$K_{\text{leaf}} = (K_{\text{th}} / L_{\text{pet}} / 2) / A_{\text{lamina}}$
Ellipse conductivity	K_{ellipse}	$\text{kg s}^{-1} \text{ MPa}^{-1} \text{ m}$	$K_{\text{ellipse}} = \pi a^3 b^3 / 64 \eta (a^3 + b^3)$ with $\eta = 1.002 * 10^{-9} \text{ MPa s}^{-1}$ at 20°C a and b major and minor ellipse diameters

used to measure their specific density, expressed as the ratio of dry mass to the fresh volume (PD: petiole density; (Williamson and Wiemann 2010); Table 1). The fresh volume of the sample was calculated using an inverse Archimedes principle and a precision balance (CP224S, Sartorius), based on the buoyancy (G) of the sample, i.e. $G = \text{fresh mass in air} - \text{submerged mass}$ (Lehnebach *et al.* 2019). Dry mass was derived after drying at 103°C for three days. PD was computed as the dry mass divided by G. The second segment was preserved in 70% alcohol and used later for anatomical measurements (see the section headed ‘*Anatomical measurements*’). Because we aimed at studying the effects of the fraction and cross-sectional area of petiole tissues, we choose to focus on the mid-point segment of the petiole between the connection to the stem and the leaf lamina. This point was selected so as to avoid swelling

effects at stem and lamina connections. At the base of the petiole, mechanical reinforcement through a wide and triangular base - is further modified by an external covering of trichilia and secretions of Müllerian bodies serving the nutrition of hosted ants. At the distal end of the petiole, at the point of junction between petiole and lamina main veins, the petiole is more flexible in torsion, which allows the lamina to rotate (pers. obs.). The distance between the anatomical sampling point and the tip of the leaf main lobe was measured (conductive path length; PL, cm) and used for the investigation of vessel widening. Since the vessel diameter – conductive path length relationship is a power function, with rapid changes in vessel diameters close to the conductive path tip, and slower nearly constant toward the base, we assume that anatomical measurements at our sampling point are proportional to the petiole base.

Lamina dry mass (M_{lamina} , g) and petiole dry mass (M_{pet} , g) were measured with a scale. The leaf dry mass (M_{leaf} , g) is the sum of M_{lamina} and M_{pet} . Lamina area (A_{lamina} , cm²; Fig. S1) was measured with a planimeter (LiCor 3000A, LiCor Inc., Lincoln, NE, USA).

Data from 1271 mature fully developed leaves (A-leaves and all the other leaves) were used for the characterisation of morphological and structural variability.

Anatomical and vascular measurements

We conducted our study on a subset of 124 A-leaves selected to represent the widest range of petiole diameters (from 2.56 to 15.41 mm). Anatomical cross-sections (Fig. 1c), 20 to 50 μm thick, were sampled from the petiole median segment with a manual microtome (Mikrot L, Schenkung Dapples, Switzerland). All cross-sections were stained in a safranin/astra-blue solution to stain unligified cells blue and lignified cells red. Images of each petiole cross-section were digitised with an optical microscope (Olympus BX60; Olympus Corporation; Tokyo; Japan) with 50x magnification and a Canon camera EOS 500D (lens Olympus U-TVI-X ; F 0.0; ISO 100; speed 1/25). Three or four close up images were taken of each petiole section at different depths of focus and stacked with the Helicon Focus software (v.6.3.2.Pro, <https://www.heliconsoft.com/>). Pictures were assembled in a panorama using Kolor AutoPanoGiga software (v.3.0.0, <http://kolor.com/autopano/>) to obtain a complete picture of the cross-section (Fig. 1c). The digitised cross-sections were processed with CS5 Photoshop software (v.12.0, <http://adobe.com/products/photoshop/html>). We distinguished eight tissue types that comprise the entire petiole anatomy (Fig. 1d, e). We manually delineated the tissues on the photographs and created layer masks (Fig. 1e). The masks of these layers were used to calculate the cross-sectional area of each tissue and the whole petiole cross-sectional area with the ImageJ software (v.1.43u; <http://imagej.nih.gov/ij/>). We distinguished eight component

petiole tissues for further anatomical analysis: (i) the pith, (ii) the sclerenchymatous shield associated with the vascular bundles, (iii) interfascicular parenchyma, (iv) primary xylem, (v) secondary xylem, (vi) phloem (comprising primary and secondary phloem), (vii) cortical parenchyma and (viii) cortical collenchyma (Fig. 1e).

As we knew the cross-sectional area of each petiole tissue, we calculated the second moment of area (I , mm⁴) of the main supportive tissues (Table 1). I quantifies the distribution of mass in a cross-section with respect to the centre of mass of the cross-section, and this describes the important effect of size and geometry of the cross-section in mechanics, since the flexural stiffness ($EI = E \cdot I$, where E is the elastic modulus) is directly proportional to I (Niklas and Spatz 2012). As I is a fourth power function of the two radii delimiting the ring (Table 1), slight increases in the ring diameter and/or cross-sectional area has dramatic consequences for I , and thus its contribution to flexural stiffness. We focused on the sclerenchyma, collenchyma and secondary xylem, since these tissues are well-known to be supportive tissues in a section and exhibit lignified thick cell walls (Leroux 2012). We also estimated the behaviour of the petiole flexural stiffness by calculating I for the total petiole section, and by using the known petiole density as a proxy of E (Table 1). We assumed that this approximation was appropriate, since it had been shown that the elastic modulus exhibits a linear and positive relationship with the density for both wood (Chave *et al.* 2009; Dlouhá *et al.* 2018) and bark (Rosell and Olson 2014).

For the xylem, the cropped part of the image in which the vessels were visible was analysed with the ImageJ software to calculate theoretical xylem hydraulic properties (Abramoff *et al.* 2004). For each vessel, we calculated its cross-sectional area (μm^2) and its elliptical diameters. To study variations in the dimensions of the vessel, we used the mean hydraulic diameter (D_h , μm , Table 1), i.e. the diameter that all vessels, considered as circles, in a given tissue would have to sustain exactly the same tissue hydraulic conductivity (Tyree and Zimmermann 2002). The number of vessels was counted for primary and secondary xylem. We also calculated the conductive area (mm^2) as the sum of the cross-sectional area of all vessels of the surrounding xylem. Knowing the dimensions of each vessel, the number of vessels, and the total petiole xylem area, a theoretical hydraulic conductivity (K_{th} , $\text{m kg MPa}^{-1} \text{ s}^{-1}$) was estimated based on formulas in Table 1. To test the null hypothesis of a decreasing K_{leaf} ($\text{kg MPa}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ m}^{-2}$) across the leaf size range with no vessel widening occurring, we estimated a theoretical leaf conductance ($K_{leaf,null}$) by firstly dividing the K_{th} by the petiole length. We thus obtained a value for petiole conductance ($\text{kg MPa}^{-1} \text{ s}^{-1}$) which we divided by the lamina area and obtaining $K_{leaf,null}$.

Data analysis

Laminas used in anatomical studies were sometimes slightly damaged resulting in somewhat biased lamina area measurements. To correct this, we used a prediction model to calculate an estimated lamina area (A_{lamina} , cm^2), since the relationship between the length of the main lobe and the undamaged lamina area is very informative. We calculated the estimated lamina area as: *Estimated lamina area* = $0.701 * \text{Main lobe length}^{2.180}$ ($R^2 = 0.942$, $P < 0.001$, Fig. S2). This estimation of lamina area was used only to compare tissue cross-sectional area and vasculature traits with leaf area.

All statistical analyses were performed with R software (<https://cran.r-project.org/>). The relationship between each trait pair was determined with an SMA (Standardized major axis regression; (Warton *et al.* 2006)), which allows minimisation of the error on both the x -axis and y -axis (Harvey and Pagel 1991). These correlation relationships are described as: $y = ax^b$, such as: $\log(y) = \log(a) + b * \log(x)$, where b is the slope (or allometric exponent) and a the intercept (allometric coefficient). A 95% confidence interval was used to decide whether it was significantly correlated or not. A slope test was performed to determine if the slope differed from 1 ($H_1: b \neq 1$ for an allometric relationship) or not ($H_0: b = 1$ for an isometric relationship). SMA were carried out with the (S)MATR package (Falster *et al.* 2006). The lamina area prediction from the main lobe length was modelled from a NLS (non-linear least squares) with the STATS package.

RESULTS

Leaf morphological variability

A_{pet} and A_{lamina} were positively and allometrically correlated ($P < 0.001$; $R^2 = 0.779$; Fig. 2a; Table 2, S1). A_{pet} and M_{lamina} were positively, and allometrically correlated ($P < 0.001$; $R^2 = 0.898$; Fig. 2b; Table 2). M_{pet} and M_{lamina} were positively, and allometrically correlated ($P < 0.001$; $R^2 = 0.947$; Fig. 2c; Table 2). A_{lamina} and M_{leaf} were positively, and isometrically correlated ($P < 0.001$; $R^2 = 0.846$; Fig. 2d; Table 2). PD were negatively, and allometrically correlated to A_{pet} ($P < 0.01$) but uncorrelated to A_{lamina} ($P < 0.05$)(Table S1).

Petiole anatomy

Petioles showed pronounced radial symmetry (Fig. 1c). The central parenchymatous pith formed the main part of the cross-section. The numerous bundles (20 to 80) were arranged in the pith periphery, mainly in only one circle, but in a few cases in two circles. The cambium displayed a diversity of arrangement, with respect to the arrangement of the bundles. From a

Table 2. Main log-log linear relationships based on standardised major axis regression.

Y	X	P	R ²	slope	95% CIs (slope)
A _{lamina}	A _{pet}	< 0.001	0.858	1.256	1.229 – 1.283
M _{lamina}	A _{pet}	< 0.001	0.898	1.236	1.213 – 1.259
M _{lamina}	M _{pet}	< 0.001	0.947	0.868	0.857 – 0.881
A _{lamina}	M _{leaf}	< 0.001	0.913	0.995	0.977 – 1.012
D _h	PL	< 0.001	0.469	0.549	0.474 – 0.638
D _h	A _{lamina}	< 0.001	0.502	0.276	0.240 – 0.318
N _{vessel}	A _{lamina}	< 0.001	0.596	0.490	0.456 – 0.524
CA	A _{lamina}	< 0.001	0.635	0.780	0.685 – 0.875
Xylem area	A _{lamina}	< 0.001	0.711	0.860	0.772 – 0.978
Approx. EI	A _{lamina}	< 0.001	0.653	1.720	1.522 – 1.918

Bold values refer to significant correlation ($P < 0.05$). Table 1 for a list of abbreviations. CI: confidence interval.

strictly cyclic structure to a wavy one (Fig. 1f), and at the extremity, we observed isolated bundles with complete cambium discontinuities in a more cortical position (Fig. 1g). Primary and secondary xylem and secondary phloem were easy to identify (Fig. 1d). A sub-continuous sclerenchymatous shield was present at the interface between the vascular bundles and the pith. The vascular bundles were separated by interfascicular parenchyma. Occasional sclerenchyma were present between the secondary phloem and cortical parenchyma. Depending on the extent of secondary growth, the primary phloem was crushed between the secondary phloem and cortical parenchyma. In the most external part, there was a ring of collenchyma, between the epidermis and the cortical parenchyma. Laticiferous canals were frequently visible, mainly in the cortex (Fig. 1f) but also in the pith, but were also sometimes completely absent.

Petiole anatomy and vascular architecture

All tissue areas were significantly and positively correlated with A_{pet} and A_{lamina} ($P < 0.001$; Fig. S3a; Table S2), with most of these relationships being allometric. All tissue fractions relative to A_{pet} were correlated to A_{pet} ($P < 0.001$; Fig. S3b; Table S2). All tissue fractions relative to A_{pet} were correlated to A_{lamina} ($P < 0.001$; Fig. S3b; Table S2), except for the phloem ($P > 0.05$). Pith had the highest fraction (44.78% \pm 1.12) with the highest effect on petiole size (27.02 to 59.41% of the cross-section; Fig. 3a). The lamina area allometrically and positively scaled with the number of vessels ($P < 0.001$; $R^2 = 0.596$; Fig. 3d; Table 2), such that large leaves were associated with disproportionately less vessels. The lamina area allometrically and positively scaled with conductive area ($P < 0.001$; $R^2 = 0.635$; Fig. 3c; Table 2), such that large leaves were associated with disproportionately less conductive area. The lamina area allometrically and positively scaled with xylem area ($P < 0.001$; $R^2 = 0.711$; Fig. 3b; Table 2), such that large leaves were associated with disproportionately less xylem area.

The second moment of area (I) for collenchyma, secondary xylem, and sclerenchyma were significantly and positively related to A_{lamina} ($P < 0.001$; $R^2 = 0.578, 0.712, \text{ and } 0.645$ respectively; Fig. 4a,b,c). The approximated petiole flexural stiffness was positively and allometrically correlated to A_{lamina} with a slope significantly superior to 1 ($P < 0.001$; $R^2 = 0.653$; Fig. 4d; Table 2).

D_h was significantly and positively related to A_{lamina} ($P < 0.001$; $R^2 = 0.502$; Fig. 5a; Table 2). D_h was positively and allometrically related to the conductive path length ($P < 0.001$; $R^2 = 0.469$; Fig. 5b; Table 2). The tapering rate (D_h/PL) was $0.549 \mu\text{m cm}^{-1}$ (Fig. 5b). $K_{\text{leaf,null}}$ was significantly and negatively related to A_{lamina} and the conductive path length ($P < 0.01$; Fig. 5c,d).

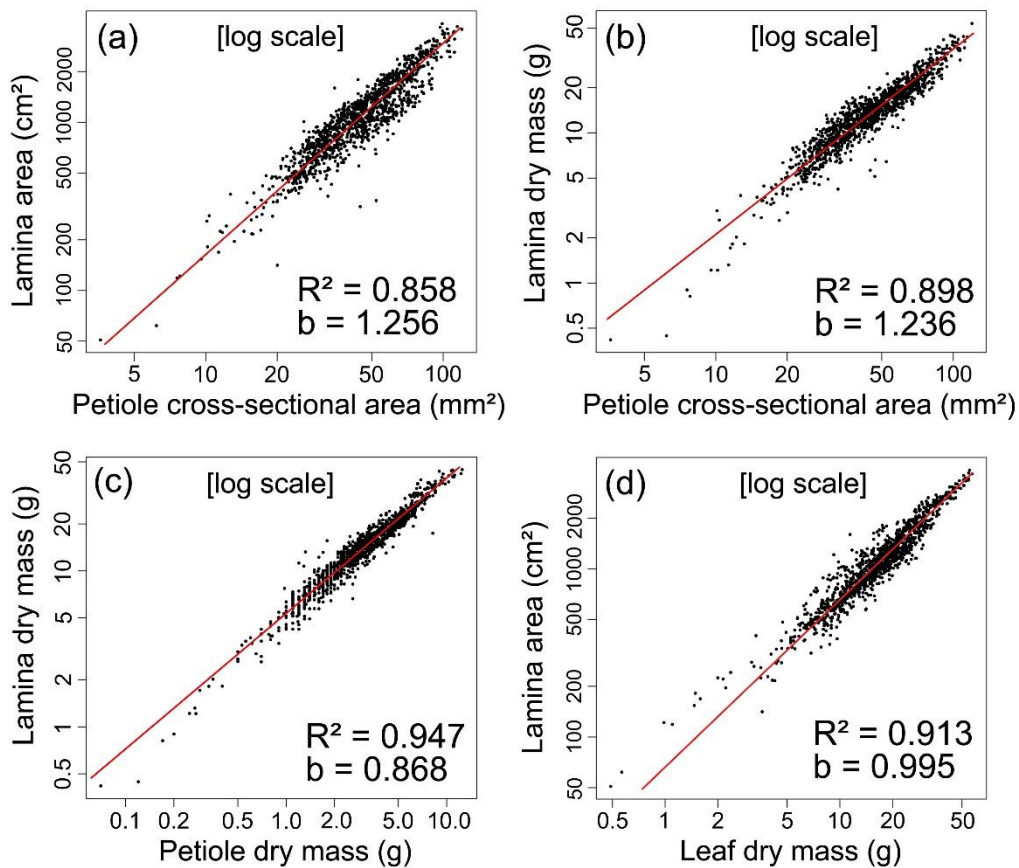


Fig. 2. Scaling of morphological traits with leaf size. (a) Lamina area according to petiole cross-sectional area. (b) Lamina dry mass according to petiole cross-sectional area. (c) Lamina dry mass according to petiole dry mass. (d) Lamina area according to leaf dry mass. All relationships are plotted on a log-scale. b: scaling exponent.

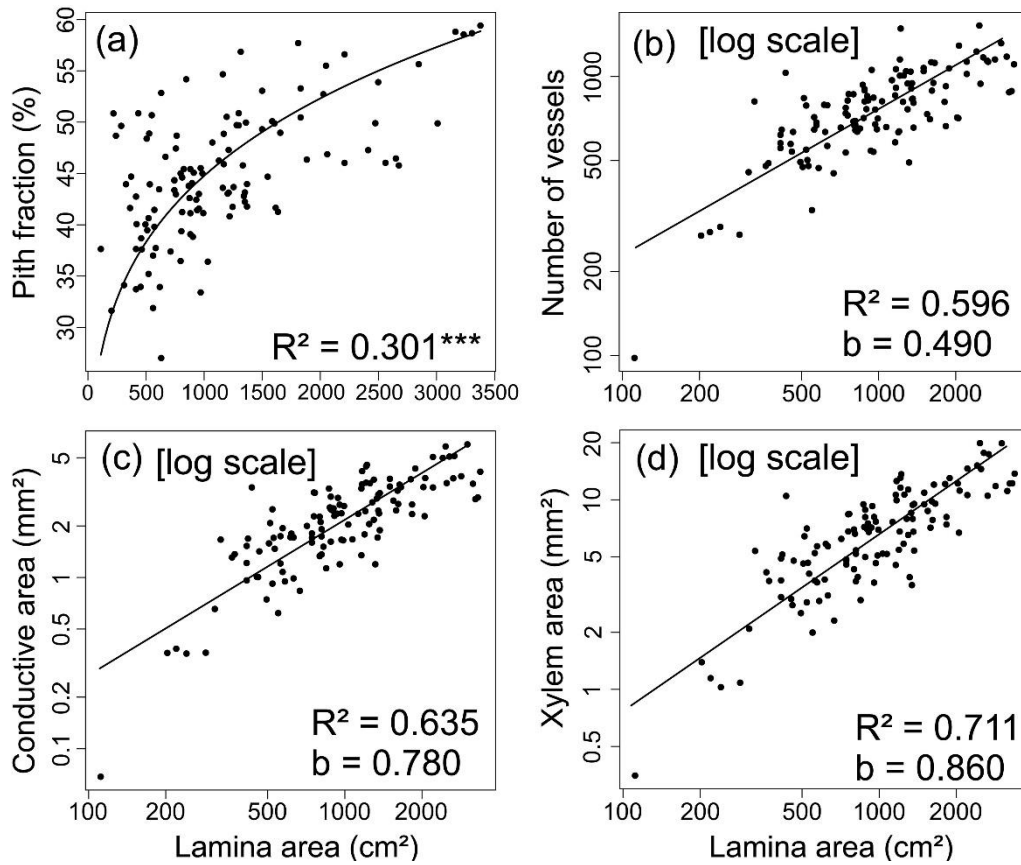


Fig. 3. Scaling of petiole anatomy with leaf size. (a) Pith cross-sectional fraction according to lamina area. (b) Number of vessels according to lamina area plotted on a log-scale. (c) Conductive area according to lamina area, plotted on a log-scale. (d) Xylem area according to lamina area, plotted on a log-scale. b: scaling exponent.

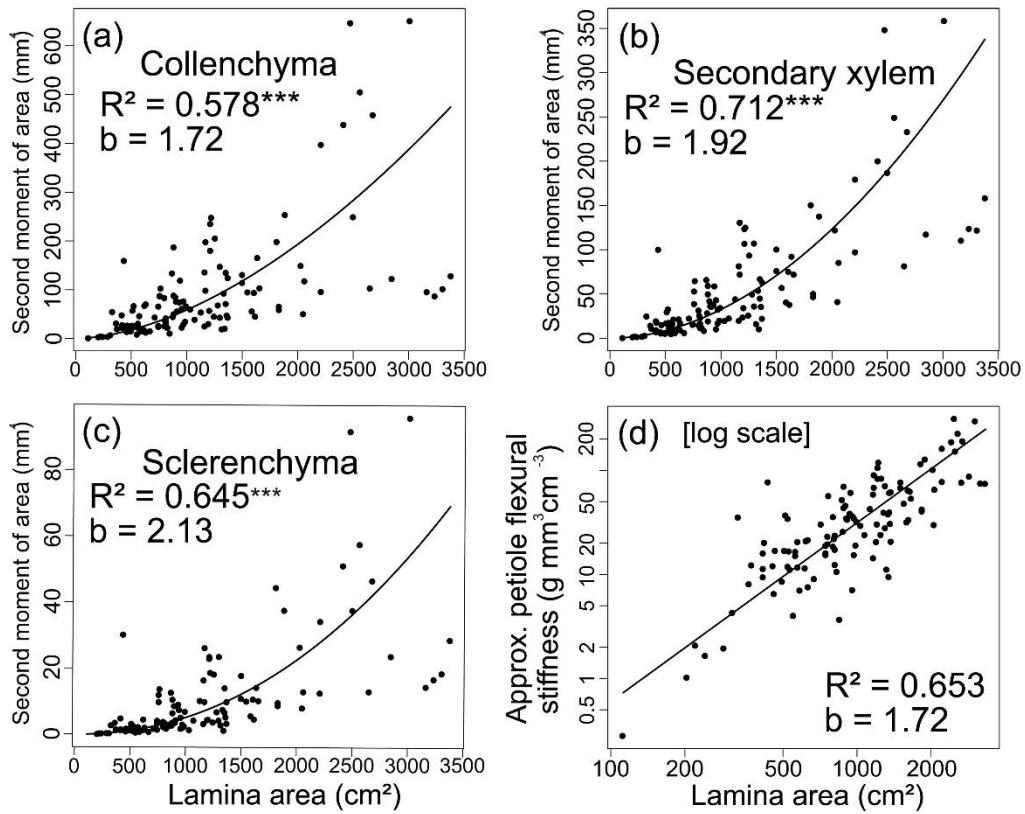


Fig. 4. Scaling of mechanical traits with leaf size. (a) Collenchyma xylem second moment of area according to lamina area. (b) Secondary xylem second moment of area according to lamina area. (c) Sclerenchyma second moment of area according to lamina area. (d) Approximated petiole flexural stiffness (product of petiole second moment of area with petiole density) according to lamina area, plotted on a log-scale. b: scaling exponent.

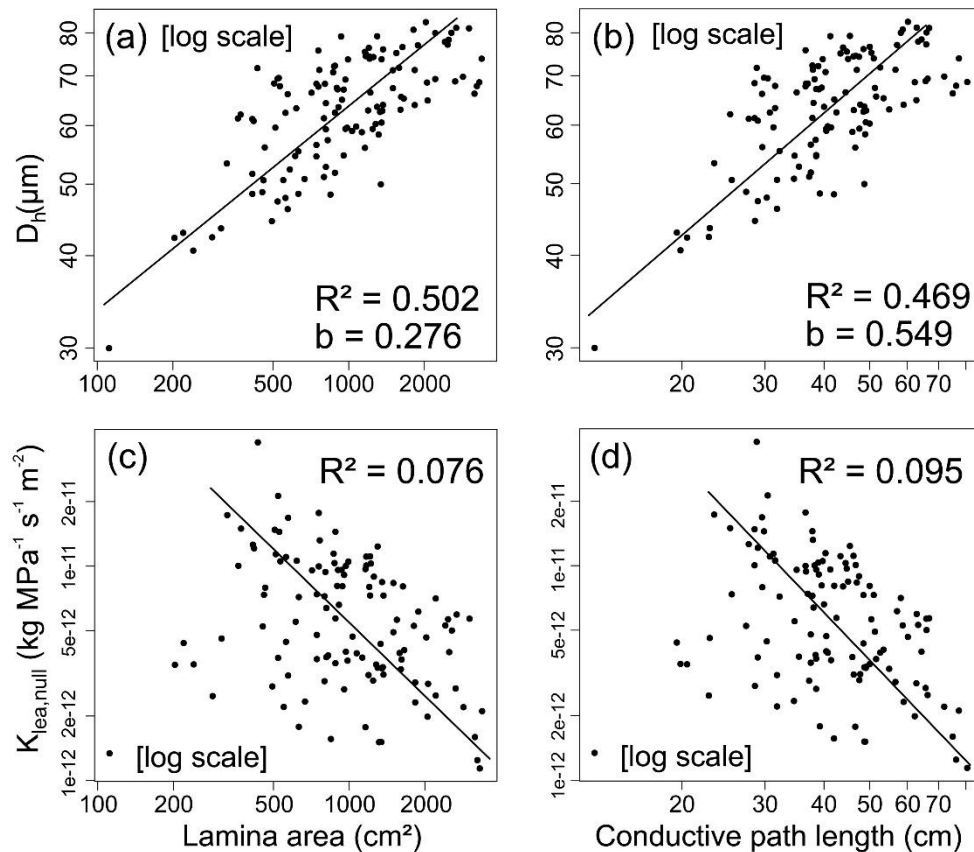


Fig. 5. Scaling of vascular traits with leaf size. (a) Mean hydraulic diameter according to lamina area. (b) Mean hydraulic diameter according to path length. (c) Theoretical leaf conductance under the hypothesis of no vessel widening according to lamina area. (d) Theoretical leaf conductance under the hypothesis of no vessel widening according to path length. All relationships are plotted on a log-scale. b: scaling exponent.

DISCUSSION

Our results provide an understanding of the tissue-level and vascular adjustments characterising lamina-petiole scaling at the intraspecific level for a widespread Neotropical pioneer tree species, *Cecropia obtusa*. The results point out (i) an allometric scaling between lamina size and petiole size, such that larger leaves show a higher lamina area for a given petiole cross-section, (ii) a higher pith fraction, related to higher petiole flexural stiffness through the second moment of area (I) of the mechanically stiff tissues surrounding the pith, (iii) a vessel widening allowing for a reduced effect of increasing path length with leaf size and (iv) a higher lamina area per xylem area for larger leaves, due to relatively less conductive area for larger leaves.

Morphological petiole-lamina scaling

The finding of a positive and allometric relationship between petiole dry mass and lamina dry mass (Fig. 2c), with a disproportionately higher petiole mass for a given lamina mass, is in agreement with what has been previously described (Niinemets et al. 2006, 2007, Li et al. 2008).

This pattern has been explained by the scaling of the bending moment of a cantilevered beam with the cube of its length (Gere and Timoshenko 1997), in addition to drag forces requiring a disproportionate mechanical reinforcement of the petiole with leaf size (Niinemets et al. 2007, Li et al. 2008). However, the isometric scaling of lamina area with the leaf dry mass (Fig. 2d) is not in agreement with the repeatedly shown diminishing return pattern, predicting increasing costs for leaf support with increasing leaf size (Niinemets *et al.* 2006, 2007; Niklas *et al.* 2007, 2009; Milla and Reich 2007; Li *et al.* 2008b; Sun Jun *et al.* 2017). Although the leaf area-leaf mass allometric scaling is significant at the interspecific level, the allometric scaling is not ubiquitous at the intraspecific level, based on this present study for *C. obtusa*, and Milla and Reich (2007) for 11 species.

We found a positive allometric relationship between lamina area and petiole cross-sectional area (Fig. 2a), such that large leaves exhibit a larger lamina area for a given petiole cross-sectional area. This change is in agreement with the allometric relationship between lamina mass and petiole cross-sectional area we found (Fig. 2b), such that large leaves exhibit larger lamina mass for a given petiole size. Larger petioles support a disproportionately larger load. Therefore, we wondered what petiole anatomical and mechanical changes are associated with this morphological pattern.

Petiole tissue partitioning

As pith fraction increases, the distance of a given tissue to the petiole cross-sectional centre of inertia increases, as does the second moment of inertia to a fourth-power function of this distance. The case of collenchyma is of primary importance since it is known to be a supporting tissue, with small cells and relatively thick cell walls compared with other living cells (Leroux 2012). The collenchyma is the most external tissue within the petiole section with a ring-geometry, exhibiting the largest change in the second moment of area (Fig. 4a). In the same line, the secondary xylem is also a well-known supporting tissue, exhibiting a ring-geometry and which fraction increases with leaf size. Its increasing fraction occurs at the same time as the distance to the cross-sectional centre of inertia increases with pith fraction, and determines an overall increase of the second moment of area of the secondary xylem with leaf size (Fig. 4b). This was also the case for the sclerenchyma (Fig. 4c), although sclerenchyma exhibited relatively low values of I (0.05 to 95 mm⁴). The allometric exponents of the supportive tissues according to the lamina area (Fig. 4a,b,c) indicate that I increases faster for the sclerenchyma, followed by the secondary xylem, suggesting that the relative geometrical contribution of these tissues to the petiole flexural stiffness increases across the leaf size range.

Increasing organ size and mass logically increases the mechanical load (Mahley *et al.* 2018). Moreover, we found an allometric relationship between lamina dry mass and petiole cross-sectional area, with disproportionately higher lamina dry mass for leaves (Fig. 2b). This suggests a disproportionately higher mechanical load on petioles of large leaves. This is in agreement with the approximated petiole flexural stiffness allometrically related to the lamina area (Fig. 4d), such that petioles are disproportionately stiffer on large leaves to overcome the mechanical load. This suggestion is in agreement with past studies demonstrating disproportionately higher petiole stiffness with increasing petiole thickness (Niklas 1991, 1992; Mahley *et al.* 2018). Therefore, our results suggest that the effect of geometry through pith fraction determines the overall increase in petiole flexural stiffness, since the decrease of petiole density with leaf size –and thus petiole elastic modulus- is balanced (Fig. 4d), as also shown by Mahley *et al.* (2018) for ferns. However, since the pith is often hollow in large structure, one may not exclude that the pressure of selection is actually on the surrounding tissues.

Changing petiole pith fraction and thus collenchyma, secondary xylem, and sclerenchyma *I* is clearly a cheap mechanism in terms of carbon allocation to balance the self-loading mechanical stress arising with leaf size. Moreover, we found a negative relationship between A_{pet} and PD, and no relationship of PD with A_{lamina} . These results suggest that volumetric construction cost can decrease with A_{pet} , or at least does not increase with leaf size.

Petiole vascular architecture

The estimation of $K_{\text{leaf,null}}$ (Fig 5a,b) confirms that K_{leaf} decreases with leaf size in the case of an absence of vessel widening, as the hydraulic resistance is well-known to be dependent on the path length (Tyree and Zimmermann 2002). Without vessel widening, large leaves cannot be selected since (i) the higher pressure drop that would be associated with such leaves would increase the risk of cavitation (Tyree and Ewers 1991; Cruiziat *et al.* 2002), and (ii) a lower K_{leaf} necessarily drives lower gas exchanges and carbon assimilation (Brodribb 2009; Scoffoni *et al.* 2016), and thus less efficient carbon payback. Therefore, this result suggests that K_{leaf} is constant across leaves and not limiting for carbon assimilation (Echeverría *et al.*, Petit *et al.* 2016, Pittermann *et al.* 2018), even if water flux measurements would be required for confirmation.

Even if such a pattern of vessel widening has been repeatedly shown along the stem of adult trees for several species (Petit *et al.* 2008, 2010; Bettiati *et al.* 2012; Anfodillo *et al.* 2013; Olson *et al.* 2014), leaves have received less attention. The widening rate (0.55) was closely similar to those found by Coomes *et al.* (2008; mean of 0.54; a range of 0.42-0.73) across ten

Quercus L. (Fagaceae) species, and not too far from those found by Lechthaler et al. (2019; slope of 0.45) for one species of *Acer*. A striking feature here is the convergence of widening rates between studies, despite contrasting ecology (i.e. temperate vs tropical) and phylogenetic origins of the investigated species. Such a finding suggests that the hydrodynamic resistance is such a strong selective pressure on hydraulic architecture that it drives a single leaf vascular architecture across vascular plants. Hydraulic optimality models (West *et al.* 1999) predict a minimum and convergent widening rate of 0.2, but only for stems, to totally mitigate the hydrodynamic resistance. Indeed, this convergent widening rate is found across most plants and trees when looking into the stem vasculature (Anfodillo et al. 2006, 2013, Petit et al. 2014, Olson et al. 2014, 2018). The vessel widening rate is not constant through the total path length (Bettiati *et al.* 2012), with a scaling ~ 2 to 3 times higher in leaves (this study; Coomes et al. 2008, Lechthaler et al. 2019). This participates at concentrating much of the hydraulic resistance in leaves –up to 50%– (Sack and Holbrook 2006), whereas leaves represent a small fraction of the total conductive path length, i.e. few centimetres of few tens of centimetres for leaves against tens of meters for the entire tree. The hydraulic segmentation hypothesis (Tyree and Zimmermann 2002; Pivovarovoff *et al.* 2014) assumes that leaves should be hydraulically more resistant than stems, as “bottlenecks”, to always preserve far lower water potentials in leaves, and promote drought-induced embolism containment in easy-to-renew organs. These issues deserve more investigations, to link vessel widening rates in leaves with the relative contribution of leaves in the hydraulic resistance of plants.

The allometric relationship between the number of vessels and the supplied lamina area suggests an increase in the number of vessels per leaf area, from the leaf base towards the leaf tip (Fig. 3d). This therefore suggests vessel furcation. This contradicts the WBE model (West *et al.* 1999; Rosell *et al.* 2017) which predicts an absence of furcation, even if the WBE model does not initially integrate predictions for leaves. However, this result is in agreement with the empirical test of (Lechthaler *et al.* 2019), who also support the existence of conduit furcation towards terminal parts within *Acer* leaves.

For *C. obtusa* leaves, vessel tapering and furcation towards the leaf tip leads to a conductive area-decreasing architecture towards the leaf base, as supported by the allometric relationship between the conductive area and the supplied lamina area (Fig. 3c). This supports the prediction of the WBE model (West *et al.* 1999; Rosell *et al.* 2017). However, our result is not in agreement with Lechthaler et al. (2019), who support a conductive area-preserving architecture for *Acer* leaves. This discrepancy may come from the fact that Lechthaler et al. (2019) analysed the vascular architecture across both the petiole and the midrib, whereas in our

study we only focused on the petiole. In the lamina, the strong furcation of the vein system may lead to more numerous vessel furcations in comparison with the petiole. Therefore, less vessel furcations within the petiole may allow for wider vessels, therefore reducing the required conductive area, according to the Hagen-Poiseuille law.

The conductive area-decreasing architecture allows for a reduction of the xylem area supplying the lamina for large leaves, as supported by the allometric relationship between xylem area and lamina area (Fig. 3b). According to the Hagen-Poiseuille's law, a given conductive area can determine different conductivities, from numerous but small conduits to few but wide conduits. However, according to the packing rule, the building of numerous small conduits would require more xylem area and volume. Therefore, this implies that selection favours an even water supply to all parts of the leaf independently of leaf size, with minimal carbon investment (Banavar *et al.* 1999).

Finally, disproportionately less xylem area for large leaves explains the allometric relationship between the petiole cross-sectional area and the lamina area, with disproportionately less petiole cross-sectional area for large leaves.

CONCLUSION

The different functional attributes linking flexural stiffness (elastic modulus vs I , and allometric scaling of flexural stiffness), carbon cost (leaf mass and density), and vasculature (vessel widening, xylem area, and conductive area) between large and small leaves, suggest that these three functional dimension –mechanics, carbon allocation, and hydraulics respectively- are selected for precise combinations, and further determine leaf size variation possibilities. Environmental factors are known to shape leaf size diversity (e.g. annual rainfall, temperature, solar radiation, soil nutrients...), but some other selective pressures are intrinsically linked to the possibility of developing large leaves or not (i.e. return on invested biomass, self-loading, conductive path length...). The contrasting mechanics, carbon allocation, and vasculatures between large and small leaves shed light on these selective pressures in our study. Indeed, we showed that large leaves exhibited (i) disproportionately higher lamina area for a given petiole cross-sectional area, (ii) higher pith fraction with disproportionately stiffer petioles, and (iii) disproportionately less xylem area for a given lamina area, associated with a decreasing-area vascular architecture toward the leaf base. But these selective pressures are currently not fully understood. Our study calls for more studies on these selective pressures to better characterise and understand to what extent they are independent or not. We argue that a better comprehension of these selective pressures should extend the knowledge of drivers shaping leaf

size variability, and, furthermore, permit us to understand how and why leaf size seems disconnected from LES.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Julie Bossu, Coffi Belmys Cakpo, Henri Caron, Jocelyn Cazal, Saint-Omer Cazal, Aurélie Cuvelier, Bruno Clair, Aurélie Dourdain, Jean-Yves Goret, Marie Hartwig, Ariane Mirabel, Audin Patient, Pascal Petronelli, Laurent Risser, Dylan Taxile, Valérie Troispoux, Niklas Tysklind and Lore Verryckt for their assistance with field work and measurement of leaf traits. We thank Jacques Beauchêne, Christine Heinz and Nick Rowe for preliminary discussions around the project and first results. We thank Hervé Cochard for fruitful discussions for data analysis. We thank Tancrède Alméras, Camilo Zalamea and Nick Rowe for critical and valuable comments on successive version of the manuscript.

FUNDING

S.L. was supported by a doctoral fellowship from CEBA (ref. ANR-10-LABX-0025). This study benefited from an *Investissement d'Avenir* grant managed by the *Agence Nationale de la Recherche* (CEBA, ref. ANR-10-LABX-0025).

LITERATURE CITED

- Abramoff MD, Magalhães PJ, Ram SJ. 2004.** Image processing with ImageJ. *Biophotonics International* **11**: 36–42.
- Ackerly D, Donoghue MJ. 1998.** Leaf size, sapling allometry, and Corner's rules: phylogeny and correlated evolution in maples (*Acer*). *The American Naturalist* **152**: 767–791.
- Anfodillo T, Carraro V, Carrer M, Fior C, Rossi S. 2006.** Convergent tapering of xylem conduits in different woody species. *New Phytologist* **169**: 279–290.
- Anfodillo T, Petit G, Crivellaro A. 2013.** Axial conduit widening in woody species: a still neglected anatomical pattern. *IAWA Journal* **34**: 352–364.
- Banavar JR, Maritan A, Rinaldo A. 1999.** Size and form in efficient transportation networks. *Nature* **399**: 130.
- Baraloto C, Timothy Paine CE, Poorter L, et al. 2010.** Decoupled leaf and stem economics in rain forest trees. *Ecology Letters* **13**: 1338–1347.
- Becker P, Gribben RJ, Lim CM. 2000.** Tapered conduits can buffer hydraulic conductance from path-length effects. *Tree Physiology* **20**: 965–967.
- Bettiati D, Petit G, Anfodillo T. 2012.** Testing the equi-resistance principle of the xylem transport system in a small ash tree: empirical support from anatomical analyses. *Tree Physiology* **32**: 171–177.
- Brodribb TJ. 2009.** Xylem hydraulic physiology: The functional backbone of terrestrial plant productivity. *Plant Science* **177**: 245–251.
- Brouat C, Gibernau M, Amsellem L, McKey D. 1998.** Corner's Rules Revisited: Ontogenetic and Interspecific Patterns in Leaf-Stem Allometry. *The New Phytologist* **139**: 459–470.
- Brouat C, McKey D. 2001.** Leaf-stem allometry, hollow stems, and the evolution of caulinary domatia in myrmecophytes. *New Phytologist* **151**: 391–406.
- Chave J, Coomes D, Jansen S, Lewis SL, Swenson NG, Zanne AE. 2009.** Towards a worldwide wood economics spectrum. *Ecology Letters* **12**: 351–366.
- Coomes DA, Heathcote S, Godfrey ER, Shepherd JJ, Sack L. 2008a.** Scaling of xylem vessels and veins within the leaves of oak species., Scaling of xylem vessels and veins within the leaves of oak species. *Biology letters, Biology Letters* **4, 4**: 302, 302–306.
- Coomes DA, Heathcote S, Godfrey ER, Shepherd JJ, Sack L. 2008b.** Scaling of xylem vessels and veins within the leaves of oak species., Scaling of xylem vessels and veins within the leaves of oak species. *Biology letters, Biology Letters* **4, 4**: 302, 302–306.
- Corner E. 1949.** The Durian Theory or the Origin of the Modern Tree. *Annals of Botany* **13**: 367–414.
- Cruiziat P, Cochard H, Améglio T. 2002.** Hydraulic architecture of trees: main concepts and results. *Annals of Forest Science* **59**: 723–752.
- Dlouhá J, Alméras T, Beauchêne J, Clair B, Fournier M. 2018.** Biophysical dependences among functional wood traits. *Functional Ecology* **32**: 2652–2665.
- Echeverría A, Anfodillo T, Soriano D, Rosell JA, Olson ME. 2019.** Constant theoretical conductance via changes in vessel diameter and number with height growth in *Moringa oleifera*. *Journal of Experimental Botany* **70**: 5765–5772.
- Enquist B. 2003.** Cope's Rule and the evolution of long-distance transport in vascular plants: allometric scaling, biomass partitioning and optimization. *Plant, Cell & Environment* **26**: 151–161.
- Evert R. 2006.** Parenchyma and Collenchyma In: *Esau's Plant Anatomy*. Wiley-Blackwell, 175–190.
- Faisal TR, Khalil Abad EM, Hristozov N, Pasini D. 2010.** The impact of tissue morphology, cross-section and turgor pressure on the mechanical properties of the leaf petiole in plants. *Journal of Bionic Engineering* **7**: S11–S23.
- Falster DS, Warton DI, Wright II. 2006.** User's guide to SMATR: Standardised Major Axis Tests & Routines Version 2.0, Copyright 2006. *R instructions*.
- Fan Z-X, Sterck F, Zhang S-B, Fu P-L, Hao G-Y. 2017.** Tradeoff between stem hydraulic efficiency and mechanical strength affects leaf–stem allometry in 28 *Ficus* tree species. *Frontiers in Plant Science* **8**.
- Fiorin L, Brodribb TJ, Anfodillo T. 2016.** Transport efficiency through uniformity: organization of veins and stomata in angiosperm leaves. *New Phytologist* **209**: 216–227.
- Gates DM. 1968.** Transpiration and Leaf Temperature. *Annual Review of Plant Physiology* **19**: 211–238.
- Gere JM, Timoshenko SP. 1997.** *Mechanics of materials*. Boston: PWS Publishing Company.
- Gleason SM, Blackman CJ, Gleason ST, McCulloh KA, Ocheltree TW, Westoby M. 2018.** Vessel scaling in evergreen angiosperm leaves conforms with Murray's law and area-filling assumptions: implications for plant size, leaf size and cold tolerance. *New Phytologist* **218**: 1360–1370.
- Gourlet-Fleury S, Guehl JM, Laroussine O. 2004.** *Ecology and management of a neotropical rainforest : lessons drawn from Paracou, a long-term experimental research site in French Guiana*. Paris: Elsevier.
- Hallé F, Oldeman RAA, Tomlinson PB. 1978.** *Tropical Trees and Forests - An Architectural Analysis*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Harvey PH, Pagel MD. 1991.** *The comparative method in evolutionary biology*. Oxford University Press.

- Hikosaka K. 2004.** Interspecific difference in the photosynthesis–nitrogen relationship: patterns, physiological causes, and ecological importance. *Journal of Plant Research* **117**: 481–494.
- John GP, Scoffoni C, Buckley TN, Villar R, Poorter H, Sack L. 2017.** The anatomical and compositional basis of leaf mass per area. *Ecology Letters* **20**: 412–425.
- Lechthaler S, Colangeli P, Gazzabin M, Anfodillo T. 2019.** Axial anatomy of the leaf midrib provides new insights into the hydraulic architecture and cavitation patterns of *Acer pseudoplatanus* leaves. *Journal of Experimental Botany*.
- Lehnebach R, Bossu J, Va S, et al. 2019.** Wood Density Variations of Legume Trees in French Guiana along the Shade Tolerance Continuum: Heartwood Effects on Radial Patterns and Gradients. *Forests* **10**: 80.
- Leigh A, Sevanto S, Close JD, Nicotra AB. 2017.** The influence of leaf size and shape on leaf thermal dynamics: does theory hold up under natural conditions? *Plant, Cell & Environment* **40**: 237–248.
- Leroux O. 2012.** Collenchyma: a versatile mechanical tissue with dynamic cell walls. *Annals of Botany* **110**: 1083–1098.
- Li G, Yang D, Sun S. 2008a.** Allometric relationships between lamina area, lamina mass and petiole mass of 93 temperate woody species vary with leaf habit, leaf form and altitude. *Functional Ecology* **22**: 557–564.
- Li G, Yang D, Sun S. 2008b.** Allometric relationships between lamina area, lamina mass and petiole mass of 93 temperate woody species vary with leaf habit, leaf form and altitude. *Functional Ecology* **22**: 557–564.
- Mahley JN, Pittermann J, Rowe N, et al. 2018.** Geometry, allometry and biomechanics of fern leaf petioles: their significance for the evolution of functional and ecological diversity within the Pteridaceae. *Frontiers in Plant Science* **9**.
- McCulloh KA, Sperry JS, Adler FR. 2003.** Water transport in plants obeys Murray’s law. *Nature* **421**: 939.
- Milla R, Reich PB. 2007.** The scaling of leaf area and mass: the cost of light interception increases with leaf size. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* **274**: 2109–2115.
- Niinemets Ü. 2015.** Is there a species spectrum within the world-wide leaf economics spectrum? Major variations in leaf functional traits in the Mediterranean sclerophyll *Quercus ilex*. *New Phytologist* **205**: 79–96.
- Niinemets Ü, Portsmuth A, Tena D, Tobias M, Matesanz S, Valladares F. 2007.** Do we Underestimate the Importance of Leaf Size in Plant Economics? Disproportional Scaling of Support Costs Within the Spectrum of Leaf Physiognomy. *Annals of Botany* **100**: 283.
- Niinemets Ü, Portsmuth A, Tobias M. 2006.** Leaf size modifies support biomass distribution among stems, petioles and mid-ribs in temperate plants. *New Phytologist* **171**: 91–104.
- Niklas KJ. 1991.** Flexural stiffness allometries of angiosperm and fern petioles and rachises: evidence for biomechanical convergence. *Evolution* **45**: 734–750.
- Niklas KJ. 1992.** Petiole mechanics, light interception by Lamina, and “Economy in Design.” *Oecologia* **90**: 518–526.
- Niklas KJ. 1999.** A mechanical perspective on foliage leaf form and function. *New Phytologist* **143**: 19–31.
- Niklas KJ, Cobb ED. 2008.** Evidence for “diminishing returns” from the scaling of stem diameter and specific leaf area. *American Journal of Botany* **95**: 549–557.
- Niklas KJ, Cobb ED, Niinemets Ü, et al. 2007.** “Diminishing returns” in the scaling of functional leaf traits across and within species groups. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **104**: 8891–8896.
- Niklas KJ, Cobb ED, Spatz H-C. 2009.** Predicting the allometry of leaf surface area and dry mass. *American Journal of Botany* **96**: 531–536.
- Niklas K, Spatz H-C. 2012.** *Plant Physics*.
- Normand F, Bissery C, Damour G, Lauri P-É. 2008.** Hydraulic and mechanical stem properties affect leaf–stem allometry in mango cultivars. *New Phytologist* **178**: 590–602.
- Olson ME, Aguirre-Hernández R, Rosell JA. 2009.** Universal foliage-stem scaling across environments and species in dicot trees: plasticity, biomechanics and Corner’s Rules. *Ecology Letters* **12**: 210–219.
- Olson ME, Anfodillo T, Rosell JA, et al. 2014.** Universal hydraulics of the flowering plants: vessel diameter scales with stem length across angiosperm lineages, habits and climates. *Ecology Letters* **17**: 988–997.
- Olson ME, Rosell JA, Zamora Muñoz S, Castorena M. 2018.** Carbon limitation, stem growth rate and the biomechanical cause of Corner’s rules. *Annals of Botany* **122**: 583–592.
- Olson ME, Soriano D, Rosell JA, et al. 2018.** Plant height and hydraulic vulnerability to drought and cold. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **115**: 7551–7556.
- Onoda Y, Wright IJ, Evans JR, et al. 2017.** Physiological and structural tradeoffs underlying the leaf economics spectrum. *New Phytologist* **214**: 1447–1463.
- Parkhurst DF, Loucks OL. 1972.** Optimal Leaf Size in Relation to Environment. *Journal of Ecology* **60**: 505–537.
- Petit G, Anfodillo T, Mencuccini M. 2008.** Tapering of xylem conduits and hydraulic limitations in sycamore (*Acer pseudoplatanus*) trees. *New Phytologist* **177**: 653–664.

- Petit G, DeClerck FAJ, Carrer M, Anfodillo T. 2014.** Axial vessel widening in arborescent monocots. *Tree Physiology* **34**: 137–145.
- Petit G, Pfautsch S, Anfodillo T, Adams MA. 2010.** The challenge of tree height in *Eucalyptus regnans*: when xylem tapering overcomes hydraulic resistance. *The New Phytologist* **187**: 1146–1153.
- Petit G, Savi T, Consolini M, Anfodillo T, Nardini A. 2016.** Interplay of growth rate and xylem plasticity for optimal coordination of carbon and hydraulic economies in *Fraxinus ornus* trees. *Tree Physiology* **36**: 1310–1319.
- Pittermann J, Olson ME, Way D. 2018.** Transport efficiency and cavitation resistance in developing shoots: a risk worth taking. *Tree Physiology* **38**: 1085–1087.
- Pivovarov A, Sack S, Santiago L. 2014.** Coordination of stem and leaf hydraulic conductance in southern California shrubs: a test of the hydraulic segmentation hypothesis. *New Phytologist* **203**: 842–850.
- Poorter H, Evans JR. 1998.** Photosynthetic nitrogen-use efficiency of species that differ inherently in specific leaf area. *Oecologia* **116**: 26–37.
- Poorter, Rozendaal DMA. 2008.** Leaf size and leaf display of thirty-eight tropical tree species. *Oecologia* **158**: 35–46.
- Price CA, Enquist BJ. 2007.** Scaling mass and morphology in leaves: an extension of the WBE model. *Ecology* **88**: 1132–1141.
- Reich PB, Ellsworth DS, Walters MB. 1998.** Leaf structure (specific leaf area) modulates photosynthesis–nitrogen relations: evidence from within and across species and functional groups. *Functional Ecology* **12**: 948–958.
- Rosell JA, Olson ME. 2014.** The evolution of bark mechanics and storage across habitats in a clade of tropical trees. *American Journal of Botany* **101**: 764–777.
- Rosell JA, Olson ME, Anfodillo T. 2017.** Scaling of xylem vessel diameter with plant size: causes, predictions, and outstanding questions. *Current Forestry Reports* **3**: 46–59.
- Sack L, Holbrook NM. 2006.** Leaf hydraulics. *Annual Review of Plant Biology* **57**: 361–381.
- Sack L, Scoffoni C, McKown AD, et al. 2012.** Developmentally based scaling of leaf venation architecture explains global ecological patterns. *Nature Communications* **3**: 837.
- Scoffoni C, Chatelet DS, Pasquet-kok J, et al. 2016.** Hydraulic basis for the evolution of photosynthetic productivity. *Nature Plants* **2**: 16072.
- Shipley B, Lechowicz MJ, Wright I, Reich PB. 2006.** Fundamental trade-offs generating the worldwide leaf economics spectrum. *Ecology* **87**: 535–541.
- Smith DD, Sperry JS, Adler FR. 2017.** Convergence in leaf size versus twig leaf area scaling: do plants optimize leaf area partitioning? *Annals of Botany* **119**: 447–456.
- Sun Jun, Fan Ruirui, Niklas Karl J., et al. 2017.** “Diminishing returns” in the scaling of leaf area vs. dry mass in Wuyi Mountain bamboos, Southeast China. *American Journal of Botany* **104**: 993–998.
- Tyree MT, Ewers FW. 1991.** The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *New Phytologist* **119**: 345–360.
- Tyree MT, Zimmermann MH. 2002.** *Xylem structure and the ascent of sap*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- Warton DI, Wright IJ, Falster DS, Westoby M. 2006.** Bivariate line-fitting methods for allometry. *Biological Reviews* **81**: 259–291.
- West GB, Brown JH, Enquist BJ. 1999.** A general model for the structure and allometry of plant vascular systems. *Nature* **400**: 664–667.
- Westoby M, Daniel S, Falster DS, Angela T, Moles, Peter A, Vesk, Wright and IJ. 2002.** Plant Ecological Strategies: Some Leading Dimensions of Variation Between Species. *Annual Review of Ecology and Systematics* **33**: 125–159.
- White PS. 1983a.** Corner’s Rules in Eastern Deciduous Trees: Allometry and Its Implications for the Adaptive Architecture of Trees. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* **110**: 203–212.
- White PS. 1983b.** Evidence that temperate east north american evergreen woody plants follow Corner’s rule. *New Phytologist* **95**: 139–145.
- Williamson GB, Wiemann MC. 2010.** Measuring wood specific gravity...Correctly. *American Journal of Botany* **97**: 519–524.
- Wright IJ, Dong N, Maire V, et al. 2017.** Global climatic drivers of leaf size. *Science* **357**: 917–921.
- Wright IJ, Reich PB, Westoby M, et al. 2004.** The worldwide leaf economics spectrum. *Nature* **428**: 821–827.
- Yang D, Niklas KJ, Xiang S, Sun S. 2010.** Size-dependent leaf area ratio in plant twigs: implication for leaf size optimization. *Annals of Botany* **105**: 71.

SUPPORTING INFORMATION

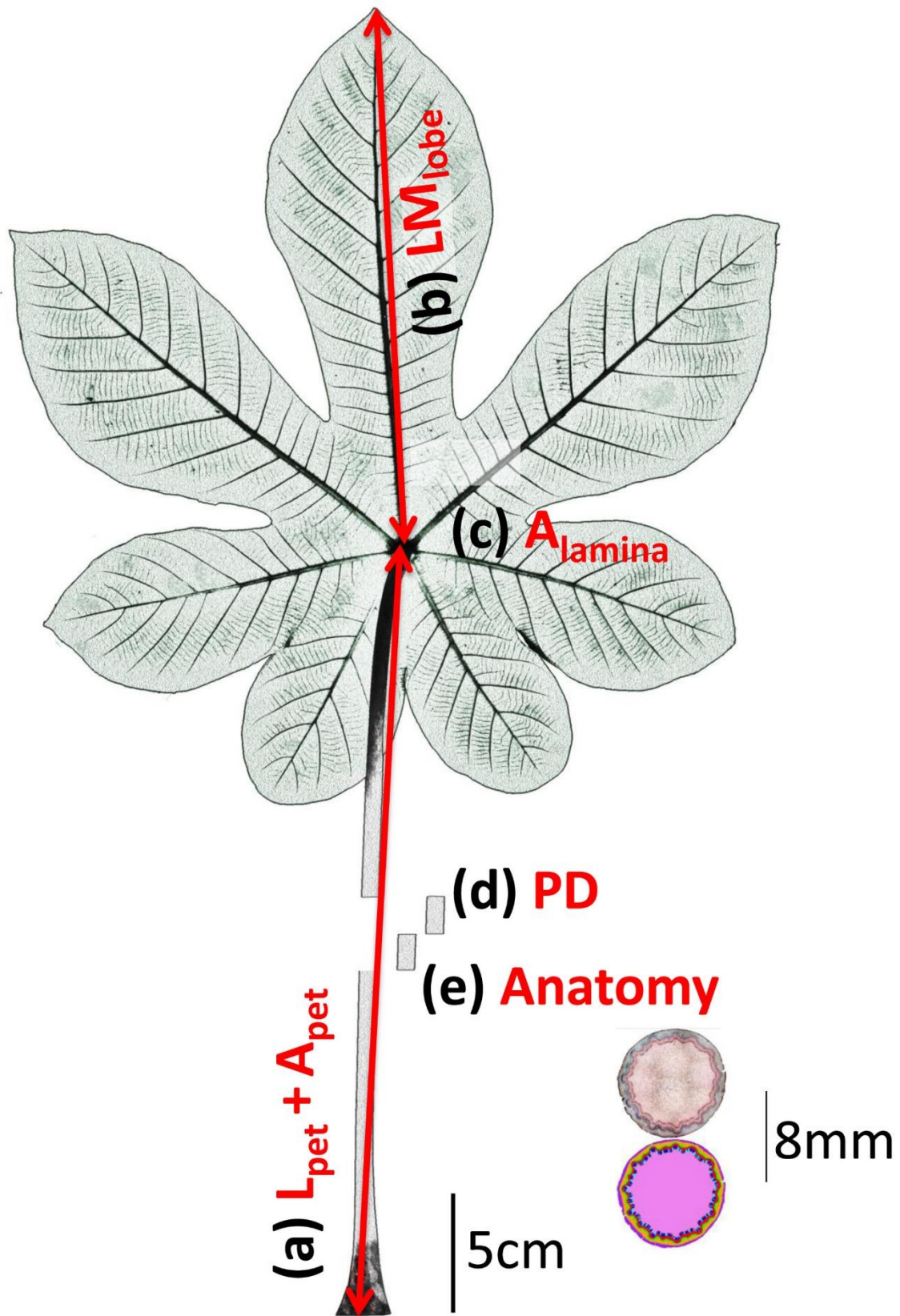


Fig. S1. Leaf sampling and measurement design. (a) petiole length and cross-sectional area (L_{pet} and A_{pet}); (b) the length of the main lobe (LM_{lobe}); (c) the lamina surface area (A_{lamina}); (d) in the P-leaves, one segment is used to measure the petiole specific gravity (PD); (e) in the P-leaves, one segment is used for the anatomical study from which is notably derived the petiole cross-sectional area.

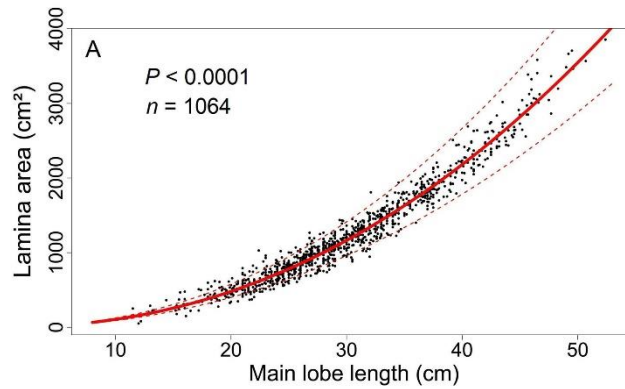


Fig. S2. Relationship between the undamaged lamina area (cm²) and the length of the main lobe (cm) based on a non-linear least square regression ($P < 0.001$; $n = 1064$). An estimated lamina area can be derived from the length of the main lobe ($y = 0.90672 * x^{2.10950}$). Dashed lines represent the confidence interval at 95%. Curves are derived from the SMA regression on a log-log scale.

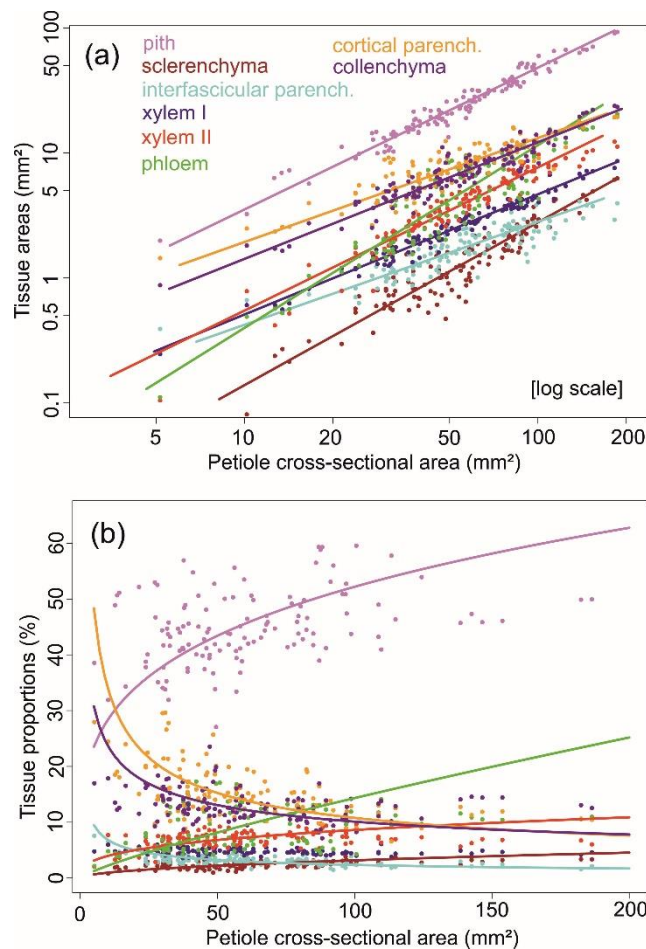


Fig. S3. Anatomical tissue areas and fractions according to petiole size. (a) Tissue areas in log-log scale. (b) Tissue fractions. Pink: pith; brown: sclerenchyma; cyan: interfascicular parenchyma; blue: primary xylem; red: secondary xylem; green: phloem; orange: cortical parenchyma; purple: collenchyma.

Table S1. Log-log linear relationships for morphological traits based on standardised major axis regression.

Y	X	P	R²	slope	95% Cis (slope)
A _{lamina}	A _{pet}	< 0.001	0.858	1.256	1.229 – 1.283
M _{pet}		< 0.001	0.906	1.407	1.382 – 1.431
M _{lamina}		< 0.001	0.898	1.236	1.213 – 1.259
M _{leaf}		< 0.001	0.907	1.261	1.238 – 1.285
PD		< 0.01	0.071		
A _{lamina}	M _{pet}	< 0.001	0.888	0.884	0.867 – 0.903
M _{lamina}		< 0.001	0.947	0.867	0.857 – 0.881
M _{leaf}		< 0.001	0.965	0.888	0.879 – 0.898
PD		0.347	0.012		
M _{leaf}	M _{lamina}	< 0.001	0.998	1.023	1.020 – 1.025
PD		0.187	0.015		
PD	M _{leaf}	0.611	0.004		
PD	A _{lamina}	0.074	0.028		

Bold values refer to significant correlation ($P < 0.05$). Table 1 for a list of abbreviations. CI: confidence interval.

Table S2. Tissue areas and fractions across petiole anatomical cross-sections and estimated lamina areas based on standardised major axis regression for log-log relationships.

	Proportion mean (%) Proportion range (%)		Petiole cross-section (x-axis)			Lamina area (x-axis)		
			Surface slope	Surface slope 95% CIs	Fraction slope	Surface slope	Surface slope 95% CIs	Fraction slope
Pith	44.78 ± 1.12	27.02 – 59.41	1.135***	1.088 – 1.187	***	1.003***	0.906 – 1.110	***
Sclerenchyma	2.40 ± 0.12	0.79 – 4.30	1.303***	1.217 – 1.398		1.161***	1.023 – 1.318	***
Interfascicular parenchyma	3.26 ± 0.16	1.45 – 7.40	0.825***	0.755 – 0.902	***	0.713***	0.623 – 0.815	***
Xylem I	4.79 ± 0.10	3.49 – 6.27	0.962***	0.926 – 1.001	*	0.867***	0.763 – 0.986	***
Xylem II	6.99 ± 0.24	1.99 – 9.72	1.146***	1.085 – 1.206	***	0.988***	0.884 – 1.104	***
Phloem	9.36 ± 0.67	2.10 – 17.85	1.462***	1.336 – 1.603	***	1.314***	1.115 – 1.549	
Cortical parenchyma	15.27 ± 0.80	6.56 – 29.56	0.833***	0.755 – 0.924	***	0.746***	0.643 – 0.866	***
Collenchyma	13.00 ± 0.80	7.05 – 26.11	0.934***	0.829 – 1.008	***	0.846***	0.724 – 0.989	***

a: significant allometric scaling; i: significant isometric scaling.
 Bold values are for significant correlations ($P < 0.05$) with *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$
 CI: confidence interval.

CHAPITRE 4

**Ontogenetic, seasonality, and leaf senescence effects
on leaf water-relation and gas-exchange traits for a
Neotropical rainforest pioneer tree**

Chapitre 4

Effets de l'ontogénie, de la saisonnalité, et de la sénescence des feuilles sur les traits foliaires hydraulique et d'échange de gaz chez un arbre pionnier de forêt tropicale humide.

RÉSUMÉ

1. La variabilité intraspécifique des traits fonctionnels a été montrée comme étant potentiellement forte, et jouant un rôle significatif dans les processus écologiques tel que le filtrage environnemental. Cependant, nous avons une compréhension limitée de comment la variabilité intraspécifique est structurée par différents facteurs tels que l'ontogénie, la saisonnalité, ou la sénescence foliaire. Nous évaluons l'impact de ces facteurs sur la variation des traits foliaires pour l'arbre pionnier Néotropical *Cecropia obtusa* Trécul (Urticaceae).

2. Nous avons étudié 39 arbres provenant d'un seul site en Guyane française. Nous avons utilisé les marqueurs de croissance pour estimer (i) le stade ontogénétique de l'arbre (ii) la date d'allongement de chaque feuille (la croissance est continue), et (iii) l'âge de la feuille. Nous avons mesuré les traits morphologiques foliaires, d'échange gazeux (conductance stomatique et assimilation photosynthétique), et des traits anatomiques et de conductivité théorique du pétiole.

3. Les feuilles d'arbres adultes sont plus petites, mais plus conductrices (c.-à-d. une alimentation en eau plus importante par unité de surface foliaire), alors que les traits d'échange de gaz ne sont pas affectés par l'ontogénie. Les feuilles mises en place en saison sèche sont plus petites et moins conductrices, et assimilent moins de carbone à la fois par unité de surface et de masse. Les traits d'échange de gaz sont négativement affectés par la sénescence foliaire, et les pétioles de feuilles âgées cumulent plus de thyloses.

4. Notre étude suggère que les traits morphologiques et hydrauliques théoriques sont d'abord affectés par l'ontogénie, alors que les traits d'échange de gaz sont d'abord affectés par la saisonnalité et la sénescence foliaire. De fortes variations des traits induites par l'ontogénie ou la saisonnalité peuvent avoir un rôle au regard des processus écologiques tels que le filtrage environnemental et la différenciation de niche. L'allongement et l'intensification des saisons sèches avec le changement climatique devraient impliquer que la variabilité des traits et la plasticité phénotypique liées à la saisonnalité peuvent être des mécanismes cruciaux pour la survie des arbres.

Mots-clés: hydraulique, variabilité intraspécifique, sénescence foliaire, traits foliaires, ontogénie, photosynthèse, saisonnalité, arbres tropicaux.

Chapter 4

Ontogenetic, seasonality, and leaf senescence effects on leaf water-relation and gas-exchange traits for a Neotropical rainforest pioneer tree

ABSTRACT

1. Intraspecific variability of functional traits has been shown to be potentially strong, and to play a significant role in ecological processes such as environmental filtering. However, we have a limited understanding of how intraspecific variability is shaped by different factors such as ontogeny, seasonality, and leaf senescence. Here, we evaluated the impact of these three factors on leaf trait variation for the Neotropical pioneer tree *Cecropia obtusa* Trécul (Urticaceae).

2. We investigated 39 trees from a unique site in French Guiana. We used growth markers to estimate (i) ontogeny as the number of trunk internodes (ii) seasonality as the calendar date of leaf formation, and (iii) leaf age. We measured leaf morphological traits, leaf gas-exchange traits, and petiole anatomical and theoretical-conductivity traits.

3. Adult tree leaves were smaller but more conductive (i.e. more water supplied per leaf area), whereas gas-exchange traits were not affected by ontogeny. Dry-season leaves were smaller and less conductive, and assimilated less carbon per unit of leaf area or mass. Gas-exchange traits were affected by leaf senescence, and petioles of old leaves accumulated more tyloses.

4. Our study suggests that morphological and theoretical hydraulic traits are firstly affected by ontogeny, whereas gas-exchange traits are firstly affected by seasonality and senescence. Strong ontogenetic- and season-induced trait variation could have a role regarding ecological processes such as environmental filtering and niche differentiation. Lengthening and strengthening of drought seasons with climate change should lead season-related trait variability and phenotypic plasticity to be a crucial mechanism for the survival of trees. More studies are needed on this direction.

Keywords: hydraulics, intraspecific variability, leaf senescence, leaf traits, ontogeny, photosynthesis, season, tropical trees.

INTRODUCTION

Trait-based community ecology seeks to predict the processes of assemblage and maintenance of plant communities, over time and space (McGill *et al.* 2006). At the beginning of 2010's, a major plea for intraspecific variability of functional traits (ITV) has emerged for better integrating it in community ecology (Albert *et al.* 2010, 2011; Violle *et al.* 2012). Therefore, understanding the role of ITV in ecological processes, and identifying the scale when ITV should be taken into account, is now a major issue in the discipline (Shipley *et al.* 2016). Recent findings have confirmed that ITV plays a significant role in ecological processes such as environmental filtering and niche differentiation (Fridley and Grime 2010; Jung *et al.* 2010, 2014; Lepš *et al.* 2011; Kraft *et al.* 2014). Plus, studies have demonstrated that incorporating ITV increases the predictive power of models for species interactions, trait-environment relationships, and ecosystem productivity (Jung *et al.* 2010; Paine *et al.* 2011).

In comparison to the interspecific level, the primary drivers of phenotypic ITV can be of different nature, in addition to spatial environmental gradients traditionally investigated in ecology (e.g. latitude, altitude, topography, nutrient and water availability...). First of all, the genetic variation within a species can be responsible for a strong phenotypic variation, especially in case of local adaptation (Lamy *et al.* 2012; Brousseau *et al.* 2013; Sáenz-Romero *et al.* 2013). Second, an individual plant faces strong ontogenetic changes, either because of changes in local environment such as light, either because of changes in mechanical and hydraulic constraints with self-support and long-transport distance (Ryan *et al.* 2006; Niklas 2007; Bettiati *et al.* 2012; Rungwattana Kanin *et al.* 2017; Prendin *et al.* 2018), or either because of morphogenetic determinisms (Jones 1999; Barthélémy and Caraglio 2007; Zotz *et al.* 2011). Then, 2-to-3-fold variation in leaf functional traits has been demonstrated because of ontogeny in several study cases (Roggy *et al.* 2005; Coste *et al.* 2009; Dang-Le *et al.* 2013). In addition to ontogeny, other time-related processes can affect trait variation such as leaf senescence and seasonality. It is well-known that leaf ageing affects the leaf functioning (McKown *et al.* 2013; Fajardo and Siefert 2016), such that old leaves are less carbon assimilative (Kitajima *et al.* 2002; Coste *et al.* 2011) or are more embolism vulnerable (Hochberg *et al.* 2017). Finally, seasonality have been shown to affect leaf trait variation (Kitajima *et al.* 1997b; Zalamea *et al.* 2013).

Interests in quantifying ITV also arise with the climate change issue. Trees are essential for structuring ecosystems such as forests, especially in tropical rainforests where trees are the dominant growth form. But trees are perennial structure, with long generations, and living potentially hundreds years. It is highly probable that most of individual trees will face climate

change during their lifespan. Therefore, the phenotypic plasticity, i.e. the capacity of a given genotype to express several phenotypes in relation to the environment, will probably be a crucial process in the perspective of climate change (Nicotra *et al.* 2010; Moczek *et al.* 2011; Fonti and Jansen 2012). Moreover, in many regions worldwide as tropical rainforest, climate change currently and will materialise as strengthening and lengthening dry season (Duffy *et al.* 2015; Aleixo *et al.* 2019). Thus, the season-related “plastic reservoir” of plants is a particular issue. But seasonal effects generally required mid-term monitoring to be captured. Seasonal effects on leaf traits have been investigated for tropical dry forests, and generally by comparing deciduous species with evergreen species (Kitajima *et al.* 1997b; Ishida *et al.* 2006, 2010; Fu *et al.* 2012). But to our knowledge seasonal effects on leaf traits for tropical rainforest are under-investigated, with one study investigating such seasonal effects (Zalamea *et al.* 2013).

The ITV quantified for a given species, particularly for leaves, is the result of the superposition of several effects: genetic, spatial environment, ontogeny, leaf senescence, and seasonality. But the particular role of each component of ITV in ecological processes has never been investigated. For instance, even if the ontogenetic effect can be strong on trait variation (Roggy *et al.* 2005), the incidence of such effect is unknown on community assemblage. Before to be able to conduct such experiment, to our knowledge there is no study integrating several components other than spatial environment and genetic. Moreover, time-related processes (i.e. ontogeny, seasonality, leaf senescence) remain under-investigated in comparison to genetic and environmental components of ITV. Finally, to our knowledge, no study has investigated anatomical or hydraulic traits in this perspective, whereas water availability should be an issue for trees facing extreme drought events.

Here, we investigated changes in leaf morphological, vascular and theoretical-hydraulic, and gas-exchange traits with ontogeny, seasonality, and leaf senescence. We studied the Amazon rainforest genus *Cecropia*, composed of hyperdominant pioneer tree species, critical in the recovery of Amazon forests. We focus on *Cecropia obtusa* Trécul (Urticaceae), a widespread Guiana shield species. *Cecropia obtusa* displays perennial growth marks, which allow for an analysis of time-related processes –ontogeny, seasonality, senescence- based on retrospective architecture analysis through time (Heuret *et al.* 2002; Levionnois *et al.* 2018), allowing to overcome time-consuming plant monitoring, and making *C. obtusa* a “tree model” species (Letort *et al.* 2012). Moreover, *Cecropia obtusa* displays a continual growth (i.e. no cessation of growth in the course of the year), with the emission of leaves even during the dry season (Zalamea *et al.* 2013). By taking advantage of *C. obtusa* properties, our study design aimed at properly separate the different effects on trait variation. We aim to answer the

following question: do ontogeny, seasonality, and leaf senescence affect leaf trait variation? The results are discussed especially in the perspective of water availability. We hypothesise to find ontogenetic effects, such that old-tree leaves would be smaller, less conductive, and would exchange lesser quantities of gas because of the longer conductive path and hydrodynamic resistance. We hypothesise to find seasonal effects, such that dry-season leaves would be smaller, less conductive, and would exchange lesser quantities of gas because of lower water availability and the higher vapour pressure deficit during the dry season. Finally, we hypothesise to find senescence effects, such old-leaves would exchange lesser quantities of gas because of the degradation of tissues or the accumulation of epiphylls and herbivory.

MATERIALS AND METHODS

Study species: Why C. obtusa is an appropriate tree model species?

C. obtusa has several characteristics that allow the study of temporal processes: ontogeny, season, leaf senescence. The growth of *C. obtusa* is continuous (no cessation of elongation) and monopodial (no death of meristem), the tree is made of a set of axes, where each one is composed of an ordered, linear, and repetitive succession of phytomers (i.e. the set of a node, an internode, a leaf, and its axillary buds; Fig. S1). Leaves are stipulated, with an enveloping stipule named calyptra which has a protective function (Fig. S1). At the leaf establishment, the calyptra sheds, leaving a characteristic ring scar delimiting the associated internode, and usable as a permanent growth marker. The 10-day stable phyllochron (i.e. rhythm of leaf production) associated with such permanent growth marker allows for the retrospective analysis of tree growth and development, covering the tree's lifespan (Heuret *et al.* 2002; Levionnois *et al.* 2018). Moreover, the fact that leaves are still produced during the dry season makes *Cecropia obtusa* an appropriate model for investigating seasonal effects on leaves produced during the dry season.

Study site

This study was conducted in French Guiana along a forestry road in Counami (N5.41430°, W53.17547°, geodesic system WGS84) where the entrance to the road is located 5 km to the east of Iracoubo municipality. The warm wet tropical climate of French Guiana is highly seasonal due to the north-south movement of the Inter-Tropical Convergence Zone. Annual rainfall is 3041 mm year⁻¹ and annual mean air temperature is 25.7 °C at Paracou experimental station (Gourlet-Fleury *et al.* 2004). There is one long dry season lasting from mid-August to mid-November, during which rainfall is < 100 mm month⁻¹.

Plant material and study design

We studied 33 adult trees and 6 juvenile trees on one given site. By this, we tried to sample a unique *C. obtusa* population, and tried to minimise any genetic effect on trait variation. Juvenile trees were less than 2.2 m in height. By counting the number of nodes along the trunk (Heuret *et al.* 2002; Zalamea *et al.* 2012), their age was estimated at between 8 and 13 months. The dimensions of adult trees ranged from 10.8 to 23.1 m in height, 6.21 to 30.49 cm in diameter at breast height, and the trees were from 7 to 21 years old. Juvenile trees were studied in September 2014. Adult trees were felled regularly from September 2014 to October 2016, between 08:00 am and 10:30 am. The study design and the sampled trees are the same of Levionnois *et al.* (2018), where authors have investigated the effects of the soil type (white sand soils vs ferralitic soils) for leaf functional traits.

After felling, all the nodes of the trunk were tagged and counted from the apex. As the phyllochron is constant across the lifespan of the tree (Heuret *et al.* 2002; Levionnois *et al.* 2018), the number of nodes of the trunk is the descriptor for the ontogenetic age. All the leaves of all branches were tagged according to their rank from the apex of the axis they belong. Three to 12 leaves per tree were measured, depending on the number of branching order of the tree, with three leaves per branch, and for fully expanded leaves. Each terminal shoot of each branch generally exhibits between 10 and 15 leaves. For each branch we measured (1) the 3rd or the 4th leaf from the apex, (2) the last or before the last leaf, and (3) and in the middle of the shoot, generally at 5th-8th rank. A total of 142 leaves were measured.

The study was designed to isolate each studied effect separately: the ontogenetic effect, the seasonal effect, and the leaf senescence effect. The ontogenetic effect was studied by considering only leaves of the trunk, in order to avoid potential branching-order effect (Heuret *et al.*, *results and data not shown*). We also removed the oldest measured leaf of the shoot, of the trunk apex, in order to avoid to mix the leaf senescence effect, finally totalising 47 leaves. By approximately knowing the age of each leaf, we could know the date of leaf formation for each leaf. The seasonal effect was studied by comparing leaves formed during the wet season (from the 1st of February to the 30th of June) with leaves formed during the dry season (from the 15th of July to the 31th of October), totalising 97 leaves. We used the delineation of seasons of Nicolini *et al.* (2012) to define our dry vs. wet season. Dry and wet seasons were defined based on daily rainfall data for the Counami site. The leaf senescence effect was studied by considering all the leaves ($n = 142$), and by using the node rank from the apex as the leaf aging descriptor.

Leaf trait measurements

Physiological gas-exchange traits were measured on the field for all leaves ($n = 142$), just after the tree was felled, and between 08:30 am and 11:00 am. Leaf stomatal conductance (g_s , $\text{mmol s}^{-1} \text{m}^{-2}$) and area-based photosynthetic assimilation ($A_{\text{sat,area}}$, $\mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$) was measured with a portable gas exchange system (CIRAS-1, PP-system, Hitchin, U.K.) equipped with a Parkinson leaf chamber (2.5 cm^2). We estimated $A_{\text{sat,area}}$ as the light-saturated net assimilation rate measured at the CO_2 concentration close to $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$. Mass-based photosynthetic assimilation ($A_{\text{sat,mass}}$, $\mu\text{mol g}^{-1} \text{s}^{-1}$) was estimated from the ratio of $A_{\text{sat,area}}$ with leaf mass area (**LMA**; see below for LMA measurement). Water use efficiency (**WUE**, $\mu\text{mol mol}^{-1}$) was calculated as the ratio of $A_{\text{sat,area}}$ with g_s .

In the laboratory, all the leaves were processed at the same time of day to keep them as fresh as possible. The petioles were cut as close to the lamina as possible. The length of the petiole (L_{pet} ; cm) was measured with a ruler. A 1-cm petiole segment was sampled in the exact middle of the petiole, and was preserved in 70° alcohol and later used for anatomical measurements. Exactly 2.851-cm^2 of lamina in the form of three tablets were sampled with a circular iron punch (diameter = 1.1 cm) taking care to avoid main nerves. Then, the tablets were dried in a hoven at 70°C during three days and weighted for the dry mass. The tablets dry mass and surface area were used to calculate **LMA** (g m^{-2}). Lamina area (A_{lamina} ; cm^2) was measured with a planimeter (LiCor 3000A, LiCor Inc., Lincoln, NE, USA).

Anatomical transversal cross-sections, 20 to $50 \mu\text{m}$ thick, were sampled from the petiole median segment with a manual microtome (*Mikrot L, Schenkung Dapples*, Switzerland). All cross-sections were stained in a safranin/astra-blue solution to colour unligified cells blue and lignified cells red. Each cross-section corresponding to a given petiole was digitised with an optical microscope (Olympus BX60; Olympus Corporation; Tokyo; Japan) with x50 magnification and a Canon camera EOS 500D (lens Olympus U-TVI-X ; F 0.0; ISO 100; speed 1/25). Three or four close ups of a petiole part were taken at different depths of focus and stacked with the Helicon Focus software (v.6.3.2.Pro, <https://www.heliconsoft.com/>). Output pictures were assembled in a panorama using Kolor AutoPanoGiga software (v.3.0.0, <http://kolor.com/autopano/>) to obtain a complete picture of the cross-section. The digitised cross-sections were processed with CS5 Photoshop software (v.12.0, <http://adobe.com/products/photoshop/html>). In this study we studied pith, total xylem, and the total section. We manually delineated the tissues on the photographs and created layer masks. The masks of these layers were used to calculate the surface area of pith and xylem, and the

whole petiole area (A_{pith} , A_{xylem} , A_{pet} respectively; mm^2) with the ImageJ software (v.1.43u; <http://imagej.nih.gov/ij/>). For the xylem, the cropped part of the image in which the vessels were visible was also analysed with the ImageJ software to calculate theoretical xylem hydraulic properties (Abramoff *et al.* 2004). For each vessel, we calculated its surface area (μm^2) and its elliptical diameters. These data were used to derive all the anatomical and theoretical hydraulic traits. To study variations in the dimensions of the vessel, we used the mean hydraulic diameter ($D_{\text{h}} = (\Sigma(D^4/n))^{1/4}$, where D is the hydraulic diameter of a given vessel determined from the Hagen-Poiseuille equation; μm), i.e. the diameter that all vessels, considered as circles, in a given tissue would have to sustain exactly the same tissue hydraulic conductivity (Tyree and Zimmermann 2002). The number of vessel (n_{vessel}) was counted and the vessel density (d_{vessel} ; n mm^{-2}) calculated by dividing this number by the surface area of the related xylem. The conductive area (CA ; mm^2) was calculated as the sum of each vessel cross-sectional area. The theoretical hydraulic conductivity was determined from the Hagen-Poiseuille equation (K_{th} ; $\text{kg m s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$). Then, we calculated the theoretical xylem-specific hydraulic conductivity ($K_{\text{s}} = K_{\text{th}}/A_{\text{xylem}}$; $\text{kg m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$).

As leaf size strongly varies for *Cecropia obtusa*, as vascular and hydraulic traits are tightly linked to leaf size variation (**Chapitre 2**), and as leaf size responds to the studied effects –ontogeny, seasonality, leaf senescence–, we standardised the following traits by the lamina area: A_{pet} , A_{pith} , A_{xylem} , D_{h} , n_{vessel} , K_{th} . d_{vessel} and K_{s} were not standardised as they are already related to A_{xylem} .

For a subset of 57 leaves, tyloses were identified. We calculated n_{vessel} and K_{th} by taking into account or not tyloses. Then, we calculated a percentage loss of n_{vessel} and K_{th} due to tyloses. The percentage loss of n_{vessel} or K_{th} were studied against the leaf senescence effect only.

Data analysis

All statistical analyses were performed with R software (<http://CRAN-R-project.org>). To test for ontogenetic and leaf senescence effects, we used linear and non-linear regression models in order to test the link between potential effects (*x-axis*) and leaf traits (*y-axis*). Non-linear regression models were based on log10-transformation. To test for seasonal effect, comparison tests were conducted with Student's, Welch's, or Mann-Whitney-Wilcoxon's test, depending on the parameters of the samples (effectives, normality of distribution, variance).

RESULTS

Ontogenetic effects

Most of measured traits were related to the ontogeny (Table 1). Lamina area, petiole length, and petiole cross-sectional area were negatively related ($P < 0.05$; Table 1), such that old trees exhibited smaller leaves than young ones. LMA was also positively affected ($P < 0.001$; Table 1). Petiole, pith, and xylem cross-sectional area per leaf area were all positively related to ontogeny ($P < 0.05$; Fig. 1a; Table 1). In other words, during ontogeny, there is an increase in the calculated ratio between the total cross-section of the petiole as well as the pith and the xylem on the one hand, and the surface of the lamina on the other hand. The number of vessels per leaf area, and vessel density were positively related to ontogeny ($P < 0.05$; Fig. 1; Table 1). The conductive area per leaf area was positively related to ontogeny ($P < 0.001$; Table 1), whereas the vessel hydraulic diameter per leaf area was not related to ontogeny ($P > 0.05$; Fig. 1b; Table 1). However, as there is a strong variation in $D_h A_{lamina}^{-1}$ among juvenile trees (< 200 nodes; Fig. 1b), we also tested the relationship of this trait with the number of nodes by removing juvenile trees, and there was a positive relationship ($P < 0.05$; $R^2 = 0.116$). The theoretical hydraulic conductivity per leaf area and the xylem-specific conductivity increased significantly during ontogeny ($P < 0.001$; Fig. 1c,d; Table 1), such that old-tree leaves were more conductive. Area-based and mass-based photosynthetic assimilation were both not related to ontogeny ($P > 0.05$; Fig. 2a,b; Table 1), as also the stomatal conductance ($P = 0.390$; Fig. 2c; Table 1). The water use efficiency was positively related to ontogeny ($P < 0.05$; Fig. 2d. Table 1).

Table 1. Effects of the ontogeny (the number of nodes of the trunk) on all the measured traits based on linear models.

Trait	Unit	p-value	R ²	Range
A_{lamina}	cm ²	< 0.001	-0.302	327.7 – 3377.8
L_{pet}	cm	< 0.01	-0.228	14.2 – 56.6
A_{pet}	mm ²	< 0.05	-0.141	22.0 – 186.5
LMA	g m ⁻²	< 0.001	0.328	65.24 – 160.4
$A_{pet} A_{leaf}^{-1}$	mm ²	< 0.01	0.228	
$A_{pith} A_{leaf}^{-1}$	mm ²	< 0.05	0.123	1.90 -93.05
$A_{xylem} A_{leaf}^{-1}$	mm ²	< 0.001	0.395	0.35 – 24.18
$CA A_{leaf}^{-1}$	mm ²	< 0.001	0.277	0.069 – 19.27
$D_h A_{leaf}^{-1}$	μm	0.141		29.98 – 81.19
$n_{vessel} A_{leaf}^{-1}$		< 0.05	0.133	98 - 5552
d_{vessel}	n mm ⁻²	< 0.001	0.229	66.3 – 279.2
$K_h A_{leaf}^{-1}$	kg m s ⁻¹ MPa ⁻¹	< 0.001	0.575	1.94 10 ⁻⁹ – 1.40 10 ⁻⁶
K_s	kg m ⁻¹ s ⁻¹ MPa ⁻¹	< 0.001	0.363	0.553 10 ⁻² – 8.039 10 ⁻²
$A_{sat,area}$	μmol m ⁻² s ⁻¹	0.180		6.97 – 31.73
$A_{sat,mass}$	μmol g ⁻¹ s ⁻¹	0.152		0.078 – 0.391
g_s	mmol m ⁻² s ⁻¹	0.390		71.8 – 718.7
WUE	μmol mmol	< 0.05	0.125	2.24 10 ⁻² – 29.8 10 ⁻²

Bold p-values represent significant relationships ($P < 0.05$).

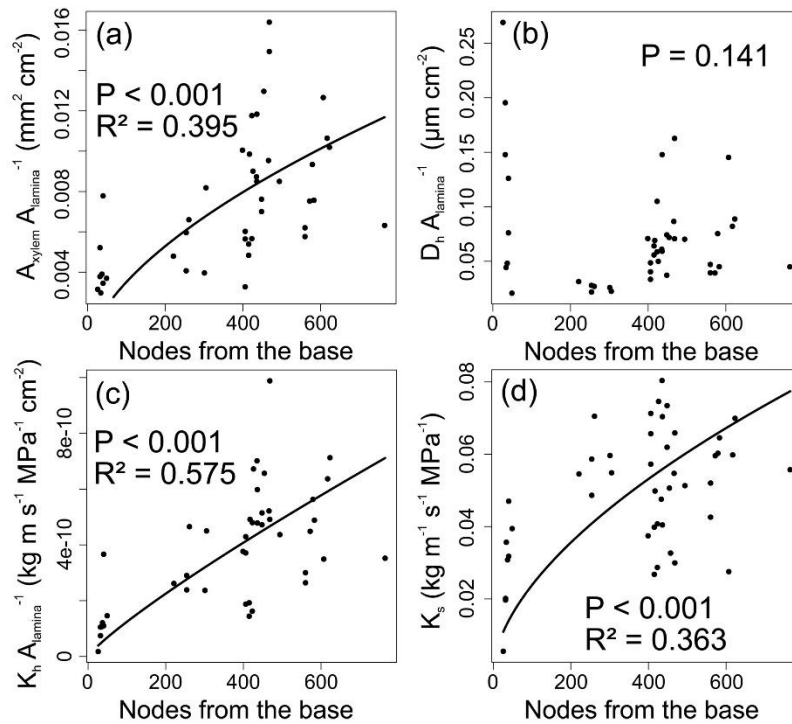


Fig. 1. Effects of the ontogeny on petiole vascular and hydraulic traits. (a) Petiole xylem cross-sectional area per lamina area according to the number of nodes from the base of the tree. (b) Petiole vessel mean hydraulic diameter per lamina area according to the number of nodes from the base of the tree. (c) Petiole xylem theoretical conductivity per leaf area according to the number of nodes from the base of the tree. (d) Petiole xylem-specific conductivity according to the number of nodes from the base of the tree.

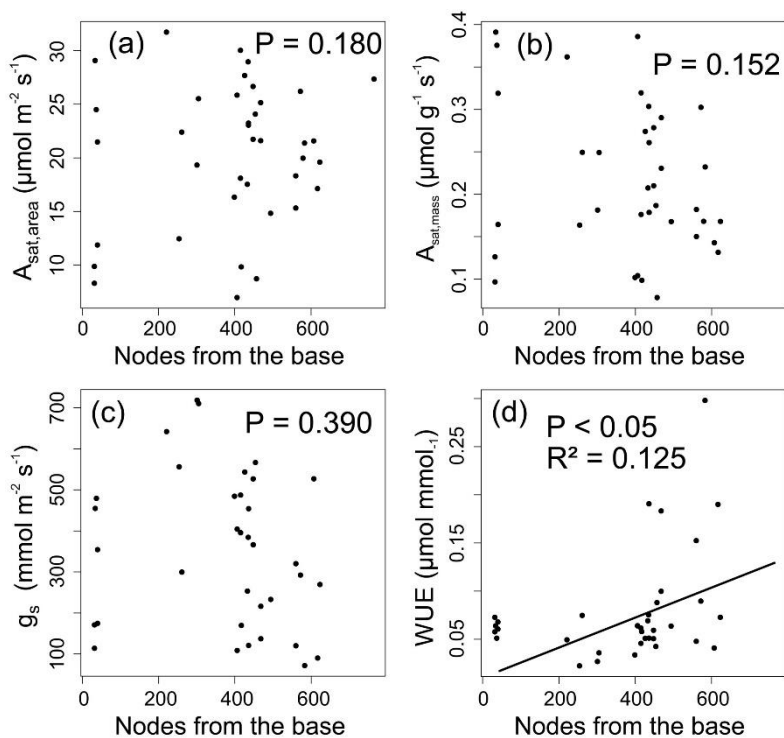


Fig. 2. Effects of the ontogeny on leaf gas-exchange traits. (a) Area-based maximum photosynthetic assimilation according to the number of nodes from the base of the tree. (b) Mass-based maximum photosynthetic assimilation according to the number of nodes from the base of the tree. (c) Stomatal conductance according to the number of nodes from the base of the tree. (d) Water-use efficiency ($A_{\text{sat,area}}/g_s$) according to the number of nodes from the base of the tree.

Seasonal effects

Most of measured traits were affected by seasonality (Table 2). All morphological traits (A_{lamina} , L_{pet} , A_{pet} , LMA) were affected by seasonality ($P < 0.05$; Table 2), such that dry-season leaves were smaller and exhibited a higher LMA. Petiole cross-sectional area per leaf was not affected by seasonality ($P = 0.272$), whereas pith and xylem areas per leaf area were both affected by seasonality ($P < 0.05$; Fig. 3a; Table 1), such that dry-season leaves exhibited less petiole tissue area per leaf area. The vessel hydraulic diameter and the number of vessels were not affected by seasonality ($P > 0.05$; Fig. 3b; Table 2), whereas the vessel density was significantly higher for dry-season leaves ($P < 0.001$; Table 2). The conductive area per leaf area was affected by seasonality ($P < 0.001$; Table 2), such that dry-season leaves displayed less conductive area in comparison to wet-season leaves. The theoretical hydraulic conductivity per leaf area and the xylem-specific conductivity were both highly affected by seasonality ($P < 0.001$; Fig. 3c,d; Table 2), such that dry-season leaves were less conductive. Area-based and mass-based photosynthetic assimilation were both affected by seasonality ($P < 0.01$; Fig. 4c,d; Table 2), such that dry-season leaves were less assimilative. The stomatal conductance and the water-use efficiency were both not affected by seasonality ($P > 0.05$; Fig. 4c,d; Table 2).

Table 2. Effects of the seasonality (dry vs. wet season) on all measured traits based on mean comparisons.

Trait	Unit	p-value	Dry	Wet	Range
A_{lamina}	cm ²	< 0.01	867.5	1296.5	327.7 – 3009.2
L_{pet}	cm	< 0.05	25.67	30.55	12.8 – 48.0
A_{pet}	mm ²	< 0.01	58.63	82.44	21.95 – 186.5
LMA	g m ⁻²	< 0.01	106.4	95.8	67.0 – 160.4
$A_{\text{pet}} A_{\text{leaf}}^{-1}$	mm ²	0.272			
$A_{\text{pith}} A_{\text{leaf}}^{-1}$	mm ²	< 0.05	24.95	38.01	8.50 - 93.05
$A_{\text{xylem}} A_{\text{leaf}}^{-1}$	mm ²	< 0.05	6.96	9.89	2.52 – 24.18
$CA A_{\text{leaf}}^{-1}$	mm ²	< 0.01	2.998	4.579	0.769 – 19.27
$D_h A_{\text{leaf}}^{-1}$	µm	0.483	61.96	71.74	44.53 – 82.77
$n_{\text{vessel}} A_{\text{leaf}}^{-1}$		0.835	923.8	1127.9	470 - 5552
d_{vessel}	n mm ⁻²	< 0.001	130.8	96.9	58.46 – 255.4
$K_h A_{\text{leaf}}^{-1}$	kg m s ⁻¹ MPa ⁻¹	< 0.001	3.555 10 ⁻⁷	6.312 10 ⁻⁷	4.760 10 ⁻⁸ – 1.400 10 ⁻⁶
K_s	kg m ⁻¹ s ⁻¹ MPa ⁻¹	< 0.001	4.591 10 ⁻²	6.167 10 ⁻²	1.741 10 ⁻² – 8.039 10 ⁻²
$A_{\text{sat,area}}$	µmol m ⁻² s ⁻¹	< 0.01	17.88	21.27	6.75 – 29.08
$A_{\text{sat,mass}}$	µmol g ⁻¹ s ⁻¹	< 0.01	0.170	0.231	0.065 – 0.386
g_s	mmol m ⁻² s ⁻¹	0.574	333.0	332.3	90.17 – 739.2
WUE	µmol mmol ⁻¹	0.358	7.881 10 ⁻²	9.043 10 ⁻²	2.408 10 ⁻² – 34.01 10 ⁻²

Bold p-values represent significant differences between means. The mean values for each trait and season are displayed. For all the trait expressed per unit of leaf area, the raw value is however expressed and the dry and wet columns.

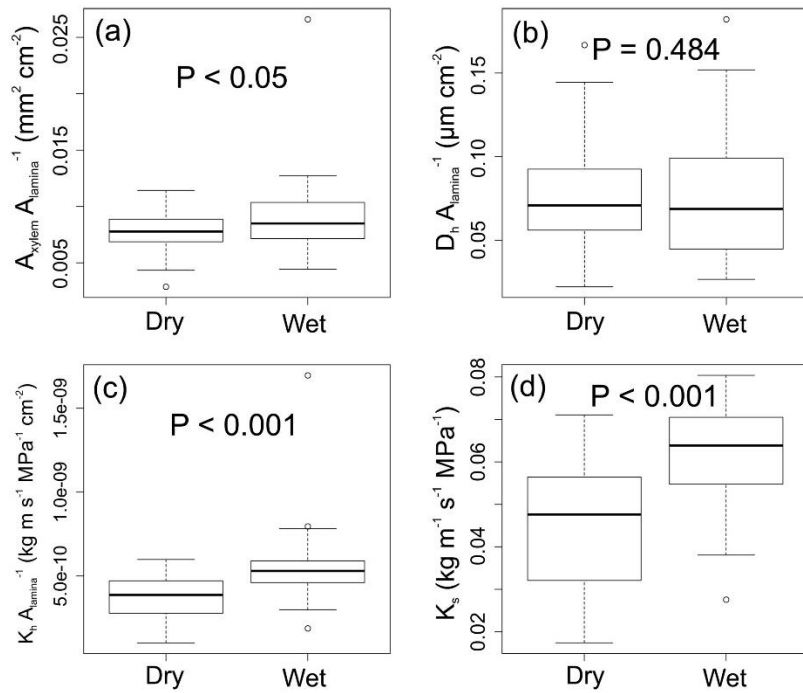


Fig. 3. Effects of the seasonality on petiole vascular and hydraulic traits. (a) Comparison of the petiole xylem cross-sectional area per lamina area for leaves produced during the dry vs. wet season. (b) Comparison of the petiole vessel mean hydraulic diameter per lamina area for leaves produced during the dry vs. wet season. (c) Comparison of the petiole xylem theoretical conductivity per lamina area for leaves produced during the dry vs. wet season. (d) Comparison of the petiole xylem-specific conductivity for leaves produced during the dry vs. wet season.

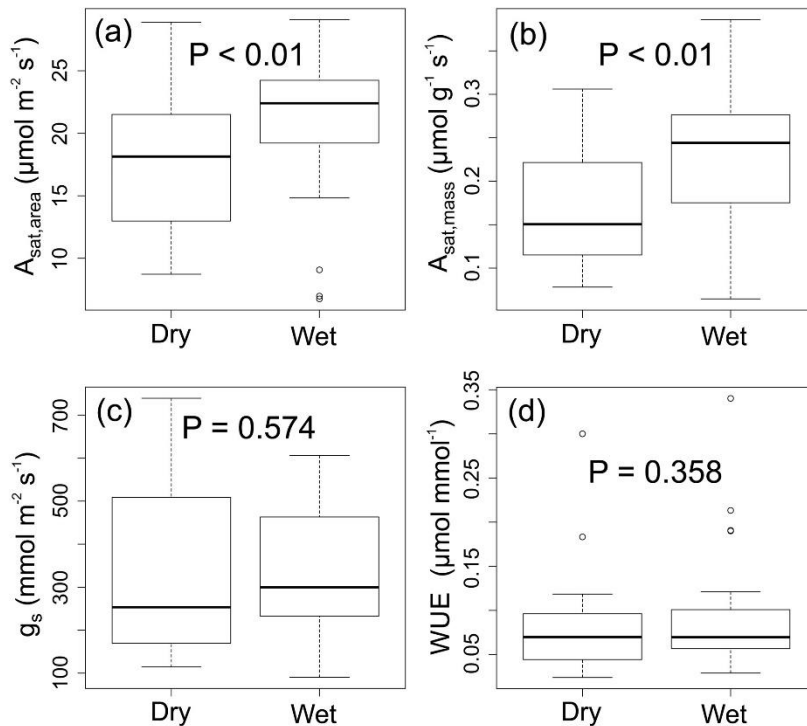


Fig. 4. Effects of the seasonality on leaf gas-exchange traits. (a) Comparison of the area-based maximum photosynthetic assimilation for leaves produced during the dry vs. wet season. (b) Comparison of the mass-based maximum photosynthetic assimilation for leaves produced during the dry vs. wet season. (c) Comparison of the stomatal conductance for leaves produced during the dry vs. wet season. (d) Comparison of the water-use efficiency ($A_{\text{sat,area}}/g_s$) for leaves produced during the dry vs. wet season.

Leaf senescence effects

Most of measured traits were affected by leaf senescence (Table 3). Area-based and mass-based photosynthetic assimilation were both affected by leaf senescence ($P < 0.01$; Table 3), such that old leaves were less carbon assimilative. The stomatal conductance was not affected by leaf senescence ($P = 0.082$; Table 3). Water-use efficiency was affected by leaf senescence ($P < 0.05$; Table 3), such that old leaves used more water per unit of assimilated carbon. The percentage loss of vessel due to tyloses, and thus the percentage loss of theoretical hydraulic conductivity were both affected by leaf senescence ($P < 0.001$), such that leaf ageing led to the accumulation of tyloses.

Table 3. Effect of leaf senescence (leaf age) on the measured traits based on linear models.

Trait	Unit	p-value	R ²	Range
A _{sat,area}	μmol m ⁻² s ⁻¹	< 0.01	-0.085	6.46 – 31.73
A _{sat,mass}	μmol g ⁻¹ s ⁻¹	< 0.001	-0.125	0.065 – 0.386
g _s	mmol m ⁻² s ⁻¹	0.082		71.80 – 878.2
WUE	μmol mmol	< 0.05	-0.040	1.620 10 ⁻² – 34.01 10 ⁻²
% _{tyl,vessel}	%	< 0.001	0.219	0.38 – 13.33
% _{tyl,Kth}	%	< 0.001	0.204	0.01 – 12.61

Bold p-values represent significant relationships ($P < 0.05$).

DISCUSSION

Ontogenetic effects

Overall, we find ontogenetic effects on leaf morphological, vascular, and theoretical-hydraulic traits. We consistently find a ~3-fold variation among these traits suggesting strong ontogenetic effects. Levionnois *et al.* (2018) have investigated abiotic effects, through soil physical and chemical gradients, partly on the same *Cecropia* trees, and on the same morphological traits. After taking into account ontogenetic effects, these authors found weak or null soil effects, suggesting here that ontogenetic effects are stronger than soil effects. Our result also confirms past studies demonstrating strong ontogenetic effects on leaf traits (Roggy *et al.* 2005; Coste *et al.* 2009; Dang-Le *et al.* 2013). As predicted, old trees display smaller leaves, but contrary to our hypothesis old-tree leaves are more water-conductive, and gas-exchanges per unit of leaf area are poorly affected. Finding smaller leaves for older trees is in agreement with Oldham *et al.* (2010) who found increasing LMA and decreasing leaf size with height for *Sequoia sempervirens* (Cupressaceae). As demonstrated and discussed by Oldham *et al.* (2010), this phenomenon is mainly due to the increasing gravitational component of leaf water potential. This is also due to the increasing hydrodynamic resistance with path length, i.e. the required

energy for moving a certain amount of water increases with path length and accumulated friction forces. Thus, the leaf turgor pressure driving leaf expansion and determining leaf size is negatively affected.

As the decreasing leaf size with ontogeny is a hydraulic-driven process, other processes tightly link to water transport such as gas exchanges (Brodribb *et al.* 2002, 2005, 2007; Brodribb 2009) should be affected. This has been clearly demonstrated, with ontogeny negatively affecting photosynthetic assimilation (Roggy *et al.* 2005; Coste *et al.* 2009), and tree height negatively affecting photosynthetic assimilation and stomatal conductance (Ryan *et al.* 2006; Oldham *et al.* 2010). Our results contradict these studies since we found no effect of ontogeny on photosynthetic assimilation and stomatal conductance. However, this discrepancy is probably explained by the fact that *C. obtusa* trees remain relatively small trees at adult stages in comparison to other tree models (Roggy *et al.* 2005; Ryan *et al.* 2006; Oldham *et al.* 2010), reaching maximum values of ~20 m in height. Such small heights should not drive hydrodynamic resistance strong enough for affecting gas exchanges. Moreover, our study demonstrates strong leaf hydraulic adjustments with ontogeny. As the tree get older, our results suggest a hydraulic conduction more efficient for leaves, as the hydraulic conductivity per leaf area increases, and as the petiole xylem-specific hydraulic conductivity also increases. This change in conduction is mainly driven by larger xylem area per leaf area, more numerous vessels per leaf area associated to a larger vessel cumulated area per leaf area, rather than changes in vessel diameter. Therefore, the resistance at the leaf-level should be alleviated, and this should have an incidence on the total tree resistance, as leaves represent 30-to-80% of total tree resistance (Sack and Holbrook 2006). Our result is also in strong agreement with Bettiati *et al.* (2012). Indeed, they demonstrated within a single ash crown that the hydraulic resistance of different apices decreases with path length, in order to favour an equi-resistance principle among the different hydraulic paths within the tree.

Seasonal effects

We consistently find seasonal effects on leaf morphological, anatomical, and gas-exchange traits. However, our results suggest that seasonal effects are relatively weak, in comparison to ontogenetic effects for instance, as we consistently find less than a 2-fold variation among affected traits. All leaf morphological traits were affected by seasonality, with dry-season leaves being smaller and with a higher LMA, confirming our initial hypothesis of small leaves associated to the dry season. To our knowledge, our study is the first to report a leaf size change with seasonality for tropical forests. Small leaves are generally associated to xeric or dry

environments, with low annual mean temperatures and/or precipitations (Halloy and Mark 1996; Ackerly *et al.* 2002; Peppe *et al.* 2011; Moles *et al.* 2014). This is mainly explained by the higher exposure of large leaves to heat, due to a larger boundary layer (Leigh *et al.* 2017). Large leaves generally need higher transpiration rates for cooling, explaining why they cannot be selected in too dry environments. Then, small-leaved trees would control for leaf temperature, and thus for the integrity of the photosynthetic apparatus, at lower costs of water expenditure while the soil undergoes water shortages. This results is consistent with Zalamea *et al.* (2013) who reported lower leaf lifespan for *Cecropia sciadophylla* leaves during the dry season, leading to reduced shoot leaf area during the dry season.

We also find reduced photosynthetic assimilation for dry-season leaves confirming our hypothesis, whereas the stomatal conductance and the water-use efficiency are not affected. This is consistent with Kitajima *et al.* (1997b), who also found seasonality effects on photosynthetic assimilation among 6 tropical dry forest species. Reduced photosynthetic assimilation for dry-season leaves is consistent with the fact that photosynthetic assimilation is tightly linked to water transport and leaf conductance (Brodribb *et al.* 2002, 2007; Brodribb 2009; Scoffoni *et al.* 2016), and thus finally to water availability. Linking to that, we find vascular and theoretical-hydraulic adjustments. In our study, dry-season leaves are suggested to be less conductive, as the hydraulic conductivity per leaf area is lower, and as the petiole xylem-specific hydraulic conductivity is also lower. These leaf hydraulic seasonal adjustments are driven by smaller xylem area and conductive area per leaf area, rather than changes in vessel diameter and vessel number. Hydraulic conductivity per leaf area and xylem-specific hydraulic conductivity reflect the water transport capacity of the leaf and the petiole respectively, which is suggested to be lower for dry-season leaves, and coherent with findings of lower photosynthetic assimilation. But despite we find a positive relationship between stomatal conductance and area-based photosynthetic assimilation ($P < 0.001$; *results not shown*), the season-unaffected stomatal conductance remains quiet inconsistent.

Leaf senescence effects

Our results suggest leaf senescence effects on measured traits. Photosynthetic assimilation declines with leaf age, with a ~2-fold variation, confirming our hypothesis and past studies also integrating a *Cecropia* species (Kitajima *et al.* 2002; Coste *et al.* 2011). Declining photosynthetic assimilation with leaf aging has been intensively studied by the past (Field and Mooney 1983; Evans 1983; Hikosaka *et al.* 1994; Zotz and Winter 1994; Kitajima *et al.* 1997a, 2002) and is integrated in leaf cost-benefit model analyses (Ackerly 1999; Coste *et al.* 2011).

We also find an increasing occurrence of vessel tyloses with leaf aging, further decreasing the petiole conductivity with leaf aging. A recent review of the literature on tyloses suggest tyloses to be tightly linked to embolism formation, the later even acting as a trigger (De Micco *et al.* 2016). After embolism formation, tyloses would isolate embolised vessels, further avoiding catastrophic spread of embolism. Indeed, larger the leaf lifespan, higher are the chance to encounter water stress, potentially leading to embolism formation. Thus, tyloses would act as “gatekeepers” of the leaf hydraulic integrity. This suggestion is in agreement with current cost-benefit analysis models, integrating the decline of photosynthetic assimilation with leaf aging in the calculate of the payback time, and demonstrating that leaves are not shed before assimilation become null (Coste *et al.* 2011), or at least very low (Reich *et al.* 2009). In other words, leaf lifespan is strongly determined by the leaf age at which photosynthesis rates approach null values. Such mechanism would also be important for leaves of a light-demanding species as *Cecropia obtusa*, with a very high photosynthetic assimilation but very short leaf lifespan (Coste *et al.* 2005; Zalamea *et al.* 2013), as a couple of days of leaf functioning should have a significant role in the metamer and plant carbon balance.

CONCLUSION

Here we clearly demonstrate the superposition of several temporal effects on leaf trait variation: ontogeny, seasonality, and leaf senescence. The measured traits illustrate that important dimensions of plant functioning are affected: (i) gas-exchange trait, driving the plant carbon economy, are affected by all the effects, and (ii) vascular and hydraulic traits, driving plant water relations, are affected at least by ontogeny and seasonality. Flow measurements are required to properly test for senescence effects. But tyloses with leaf aging, and the recent work of Hochberg *et al.* (2017) showing a greater embolism vulnerability for old vine leaves, demonstrate that leaf hydraulic properties are affected by leaf aging. The findings in this study have two major implications. First, in the perspective of community assemblage, strong ontogenetic- and season-induced trait variation could have a role regarding ecological processes such as environmental filtering and niche differentiation. For instance, seasonal growth constraint tree growth and distribution (Wagner *et al.* 2016; Esquivel-Muelbert *et al.* 2017), whereas competition for light, and other component of forest dynamics (gap and disturbances, succession...), implicate that most trees face strong vertical micro-environmental gradients across their different developmental stages (Roggy *et al.* 2005). Moreover, the seasonal component of trait variation should deserve more investigations, as climate change will materialise in strengthening and lengthening of dry seasons in many tropical regions. Second,

the findings confirm that trait variation has several components, inviting for efforts in standardisation when sampling in trait-based ecology. This is especially true in an interspecific perspective at local scale, if we aim at investigating species or environmental effects (Albert *et al.* 2011; Violle *et al.* 2012; Pérez-Harguindeguy *et al.* 2013).

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Julie Bossu, Coffi Belmys Cakpo, Henri Caron, Jocelyn Cazal, Saint-Omer Cazal, Aurélie Cuvelier, Bruno Clair, Aurélie Dourdain, Marie Hartwig, Ariane Mirabel, Audin Patient, Pascal Petronelli, Laurent Risser, Dylan Taxile, Valérie Troispoux, Niklas Tyskland and Lore Verryckt for their assistance with field work and measurement of leaf traits. We thank Maryline Harroué and Julien Ruelle the XyloScience platform (Silva Laboratory, INRA, Nancy) for assistance for petiole anatomical cuts.

S.L. was supported by a doctoral fellowship from CEBA (ref. ANR-10-LABX-0025). This study benefited from an *Investissement d'Avenir* grant managed by the *Agence Nationale de la Recherche* (CEBA, ref. ANR-10-LABX-0025).

LITERATURE CITED

- Abramoff MD, Magalhães PJ, Ram SJ. 2004.** Image processing with ImageJ. *Biophotonics International* **11**: 36–42.
- Ackerly D. 1999.** Self-shading, carbon gain and leaf dynamics: a test of alternative optimality models. *Oecologia* **119**: 300–310.
- Ackerly D, Knight C, Weiss S, Barton K, Starmer K. 2002.** Leaf size, specific leaf area and microhabitat distribution of chaparral woody plants: contrasting patterns in species level and community level analyses. *Oecologia* **130**: 449–457.
- Albert CH, Grassein F, Schurr FM, Vieilledent G, Violle C. 2011.** When and how should intraspecific variability be considered in trait-based plant ecology? *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **13**: 217–225.
- Albert C, Thuiller W, Yoccoz G, Douzet R, Aubert S, Lavorel S. 2010.** A multi-trait approach reveals the structure and the relative importance of intra- vs. interspecific variability in plant traits. *Functional Ecology* **24**: 1192–1201.
- Aleixo I, Norris D, Hemerik L, et al. 2019.** Amazonian rainforest tree mortality driven by climate and functional traits. *Nature Climate Change* **9**: 384.
- Barthélémy D, Caraglio Y. 2007.** Plant architecture: a dynamic, multilevel and comprehensive approach to plant form, structure and ontogeny. *Annals of Botany* **99**: 375–407.
- Bettiati D, Petit G, Anfodillo T. 2012.** Testing the equi-resistance principle of the xylem transport system in a small ash tree: empirical support from anatomical analyses. *Tree Physiology* **32**: 171–177.
- Brodribb TJ. 2009.** Xylem hydraulic physiology: The functional backbone of terrestrial plant productivity. *Plant Science* **177**: 245–251.
- Brodribb TJ, Feild TS, Jordan GJ. 2007.** Leaf Maximum Photosynthetic Rate and Venation Are Linked by Hydraulics. *Plant Physiology* **144**: 1890–1898.
- Brodribb TJ, Holbrook NM, Gutiérrez MV. 2002.** Hydraulic and photosynthetic co-ordination in seasonally dry tropical forest trees. *Plant, Cell & Environment* **25**: 1435–1444.
- Brodribb TJ, Holbrook NM, Zwieniecki MA, Palma B. 2005.** Leaf hydraulic capacity in ferns, conifers and angiosperms: impacts on photosynthetic maxima. *New Phytologist* **165**: 839–846.
- Brousseau L, Bonal D, Cigna J, Scotti I. 2013.** Highly local environmental variability promotes intrapopulation divergence of quantitative traits: an example from tropical rain forest trees. *Annals of Botany* **112**: 1169–1179.
- Coste S, Roggy J-C, Garraud L, Heuret P, Nicolini E, Dreyer E. 2009.** Does ontogeny modulate irradiance-elicited plasticity of leaf traits in saplings of rain-forest tree species? A test with *Dicorynia guianensis* and *Tachigali melinonii* (Fabaceae, Caesalpinioideae). *Annals of Forest Science* **66**: 709–709.
- Coste S, Roggy J-C, Imbert P, Born C, Bonal D, Dreyer E. 2005.** Leaf photosynthetic traits of 14 tropical rain forest species in relation to leaf nitrogen concentration and shade tolerance. *Tree Physiology* **25**: 1127–1137.
- Coste S, Roggy J-C, Schimann H, Epron D, Dreyer E. 2011.** A cost-benefit analysis of acclimation to low irradiance in tropical rainforest tree seedlings: leaf life span and payback time for leaf deployment. *Journal of Experimental Botany* **62**: 3941–3955.
- Dang-Le AT, Edelin C, Le-Cong K. 2013.** Ontogenetic variations in leaf morphology of the tropical rain forest species *Dipterocarpus alatus* Roxb. ex G. Don. *Trees* **27**: 773–786.
- De Micco VD, Balzano A, Wheeler EA, Baas P. 2016.** Tyloses and gums: A review of structure, function and occurrence of vessel occlusions. *IAWA Journal* **37**: 186–205.
- Duffy PB, Brando P, Asner GP, Field CB. 2015.** Projections of future meteorological drought and wet periods in the Amazon. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **112**: 13172–13177.
- Esquivel-Muelbert A, Baker TR, Dexter KG, et al. 2017.** Seasonal drought limits tree species across the Neotropics. *Ecography* **40**: 618–629.
- Evans JR. 1983.** Nitrogen and Photosynthesis in the Flag Leaf of Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Physiology* **72**: 297–302.
- Fajardo A, Siefert A. 2016.** Phenological variation of leaf functional traits within species. *Oecologia* **180**: 951–959.
- Field C, Mooney HA. 1983.** Leaf age and seasonal effects on light, water, and nitrogen use efficiency in a California shrub. *Oecologia* **56**: 348–355.
- Fonti P, Jansen S. 2012.** Xylem plasticity in response to climate. *New Phytologist* **195**: 734–736.
- Fridley JD, Grime JP. 2010.** Community and ecosystem effects of intraspecific genetic diversity in grassland microcosms of varying species diversity. *Ecology* **91**: 2272–2283.
- Fu P-L, Jiang Y-J, Wang A-Y, et al. 2012.** Stem hydraulic traits and leaf water-stress tolerance are co-ordinated with the leaf phenology of angiosperm trees in an Asian tropical dry karst forest. *Annals of Botany* **110**: 189–199.

- Gourlet-Fleury S, Guehl JM, Laroussine O. 2004.** *Ecology and management of a neotropical rainforest : lessons drawn from Paracou, a long-term experimental research site in French Guiana.* Paris: Elsevier.
- Halloy SRP, Mark AF. 1996.** Comparative leaf morphology spectra of plant communities in New Zealand, the Andes and the European Alps. *Journal of the Royal Society of New Zealand* **26**: 41–78.
- Heuret P, Barthélémy D, Guédon Y, Coulmier X, Tancre J. 2002.** Synchronization of growth, branching and flowering processes in the South American tropical tree *Cecropia obtusa* (Cecropiaceae). *American Journal of Botany* **89**: 1180–1187.
- Hikosaka K, Terashima I, Katoh S. 1994.** Effects of leaf age, nitrogen nutrition and photon flux density on the distribution of nitrogen among leaves of a vine (*Ipomoea tricolor* Cav.) grown horizontally to avoid mutual shading of leaves. *Oecologia* **97**: 451–457.
- Hochberg U, Windt CW, Ponomarenko A, et al. 2017.** Stomatal Closure, Basal Leaf Embolism, and Shedding Protect the Hydraulic Integrity of Grape Stems. *Plant Physiology* **174**: 764–775.
- Ishida A, Diloksumpun S, Ladpala P, et al. 2006.** Contrasting seasonal leaf habits of canopy trees between tropical dry-deciduous and evergreen forests in Thailand. *Tree Physiology* **26**: 643–656.
- Ishida A, Harayama H, Yazaki K, et al. 2010.** Seasonal variations of gas exchange and water relations in deciduous and evergreen trees in monsoonal dry forests of Thailand. *Tree Physiology* **30**: 935–945.
- Jones CS. 1999.** An Essay on Juvenility, Phase Change, and Heteroblasty in Seed Plants. *International Journal of Plant Sciences* **160**: S105–S111.
- Jung V, Albert CH, Violle C, Kunstler G, Loucougaray G, Spiegelberger T. 2014.** Intraspecific trait variability mediates the response of subalpine grassland communities to extreme drought events. *Journal of Ecology* **102**: 45–53.
- Jung V, Violle C, Mondy C, Hoffmann L, Muller S. 2010.** Intraspecific variability and trait-based community assembly. *Journal of Ecology* **98**: 1134–1140.
- Kitajima K, Mulkey SS, Samaniego M, Wright SJ. 2002.** Decline of photosynthetic capacity with leaf age and position in two tropical pioneer tree species. *American Journal of Botany* **89**: 1925–1932.
- Kitajima K, Mulkey SS, Wright SJ. 1997a.** Decline of photosynthetic capacity with leaf age in relation to leaf longevities for five tropical canopy tree species. *American Journal of Botany* **84**: 702–708.
- Kitajima K, Mulkey SS, Wright SJ. 1997b.** Seasonal leaf phenotypes in the canopy of a tropical dry forest: photosynthetic characteristics and associated traits. *Oecologia* **109**: 490–498.
- Kraft NJB, Crutsinger GM, Forrester EJ, Emery NC. 2014.** Functional trait differences and the outcome of community assembly: an experimental test with vernal pool annual plants. *Oikos* **123**: 1391–1399.
- Lamy J-B, Lagane F, Plomion C, Cochard H, Delzon S. 2012.** Micro-evolutionary patterns of juvenile wood density in a pine species. *Plant Ecology* **213**: 1781–1792.
- Leigh A, Sevanto S, Close JD, Nicotra AB. 2017.** The influence of leaf size and shape on leaf thermal dynamics: does theory hold up under natural conditions? *Plant, Cell & Environment* **40**: 237–248.
- Lepš J, Bello F de, Šmilauer P, Doležal J. 2011.** Community trait response to environment: disentangling species turnover vs intraspecific trait variability effects. *Ecography* **34**: 856–863.
- Letort V, Heuret P, Zalamea P-C, Reffye PD, Nicolini E. 2012.** Analysing the effects of local environment on the source-sink balance of *Cecropia sciadophylla*: a methodological approach based on model inversion. *Annals of Forest Science* **69**: 167–180.
- Levionnois S, Tysklind N, Nicolini E, et al. 2018.** Low functional but large soil-related variations in growth trajectories characterise the widespread Neotropical tree *Cecropia obtusa* Trécul (Urticaceae). *bioRxiv*: 351197.
- McGill BJ, Enquist BJ, Weiher E, Westoby M. 2006.** Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology & Evolution* **21**: 178–185.
- McKown AD, Guy RD, Azam MS, Drewes EC, Quamme LK. 2013.** Seasonality and phenology alter functional leaf traits. *Oecologia* **172**: 653–665.
- Moczek AP, Sultan S, Foster S, et al. 2011.** The role of developmental plasticity in evolutionary innovation. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*: rspb20110971.
- Moles AT, Perkins SE, Laffan SW, et al. 2014.** Which is a better predictor of plant traits: temperature or precipitation? *Journal of Vegetation Science* **25**: 1167–1180.
- Nicolini E, Beauchêne J, Vallée BL de la, Ruelle J, Mangenet T, Heuret P. 2012.** Dating branch growth units in a tropical tree using morphological and anatomical markers: the case of *Parkia velutina* Benoist (Mimosoideae). *Annals of Forest Science* **69**: 543–555.
- Nicotra AB, Atkin OK, Bonser SP, et al. 2010.** Plant phenotypic plasticity in a changing climate. *Trends in Plant Science* **15**: 684–692.
- Niklas KJ. 2007.** Maximum plant height and the biophysical factors that limit it. *Tree Physiology* **27**: 433–440.
- Oldham AR, Sillett SC, Tomescu AMF, Koch GW. 2010.** The hydrostatic gradient, not light availability, drives height-related variation in *Sequoia sempervirens* (Cupressaceae) leaf anatomy. *American Journal of Botany* **97**: 1087–1097.

- Paine CET, Baraloto C, Chave J, Hérault B. 2011.** Functional traits of individual trees reveal ecological constraints on community assembly in tropical rain forests. *Oikos* **120**: 720–727.
- Peppe DJ, Royer DL, Cariglino B, et al. 2011.** Sensitivity of leaf size and shape to climate: global patterns and paleoclimatic applications. *New Phytologist* **190**: 724–739.
- Pérez-Harguindeguy N, Díaz S, Garnier E, et al. 2013.** New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide.
- Prendin AL, Mayr S, Beikircher B, von Arx G, Petit G. 2018.** Xylem anatomical adjustments prioritize hydraulic efficiency over safety as Norway spruce trees grow taller. *Tree Physiology* **38**: 1088–1097.
- Reich PB, Falster DS, Ellsworth DS, et al. 2009.** Controls on declining carbon balance with leaf age among 10 woody species in Australian woodland: do leaves have zero daily net carbon balances when they die? *New Phytologist* **183**: 153–166.
- Roggy J-C, Nicolini É, Imbert P, Caraglio Y, Bosc A, Heuret P. 2005.** Links between tree structure and functional leaf traits in the tropical forest tree *Dicorynia guianensis* Amshoff (Caesalpinaceae).
- Rungwattana Kanin, Hietz Peter, Larjavaara Markku. 2017.** Radial variation of wood functional traits reflect size-related adaptations of tree mechanics and hydraulics. *Functional Ecology* **32**: 260–272.
- Ryan MG, Phillips N, Bond BJ. 2006.** The hydraulic limitation hypothesis revisited. *Plant, Cell & Environment* **29**: 367–381.
- Sack L, Holbrook NM. 2006.** Leaf Hydraulics. *Annual Review of Plant Biology* **57**: 361–381.
- Sáenz-Romero C, Lamy J-B, Loya-Rebollar E, et al. 2013.** Genetic variation of drought-induced cavitation resistance among *Pinus hartwegii* populations from an altitudinal gradient. *Acta Physiologiae Plantarum* **35**: 2905–2913.
- Scoffoni C, Chatelet DS, Pasquet-kok J, et al. 2016.** Hydraulic basis for the evolution of photosynthetic productivity. *Nature Plants* **2**: 16072.
- ShIPLEY B, Bello FD, Cornelissen JHC, Laliberté E, Laughlin DC, Reich PB. 2016.** Reinforcing loose foundation stones in trait-based plant ecology. *Oecologia* **180**: 923–931.
- Tyree, Zimmermann. 2002.** *Xylem Structure and the Ascent of Sap*. Springer.
- Violle C, Enquist BJ, McGill BJ, et al. 2012.** The return of the variance: intraspecific variability in community ecology. *Trends in Ecology & Evolution* **27**: 244–252.
- Wagner FH, Hérault B, Bonal D, et al. 2016.** Climate seasonality limits leaf carbon assimilation and wood productivity in tropical forests. *Biogeosciences* **13**: 2537–2562.
- Zalamea P-C, Heuret P, Sarmiento C, et al. 2012.** The Genus *Cecropia*: A Biological Clock to Estimate the Age of Recently Disturbed Areas in the Neotropics. *PLoS ONE* **7**: e42643.
- Zalamea P-C, Sarmiento C, Stevenson PR, Rodríguez M, Nicolini E, Heuret P. 2013.** Effect of rainfall seasonality on the growth of *Cecropia sciadophylla*: intra-annual variation in leaf production and node length. *Journal of Tropical Ecology* **29**: 361–365.
- Zotz G, Wilhelm K, Becker A. 2011.** Heteroblasty—A Review. *The Botanical Review* **77**: 109–151.
- Zotz G, Winter K. 1994.** Photosynthesis of a tropical canopy tree, *Ceiba pentandra*, in a lowland forest in Panama. *Tree Physiology* **14**: 1291–1301.

SUPPORTING INFORMATION

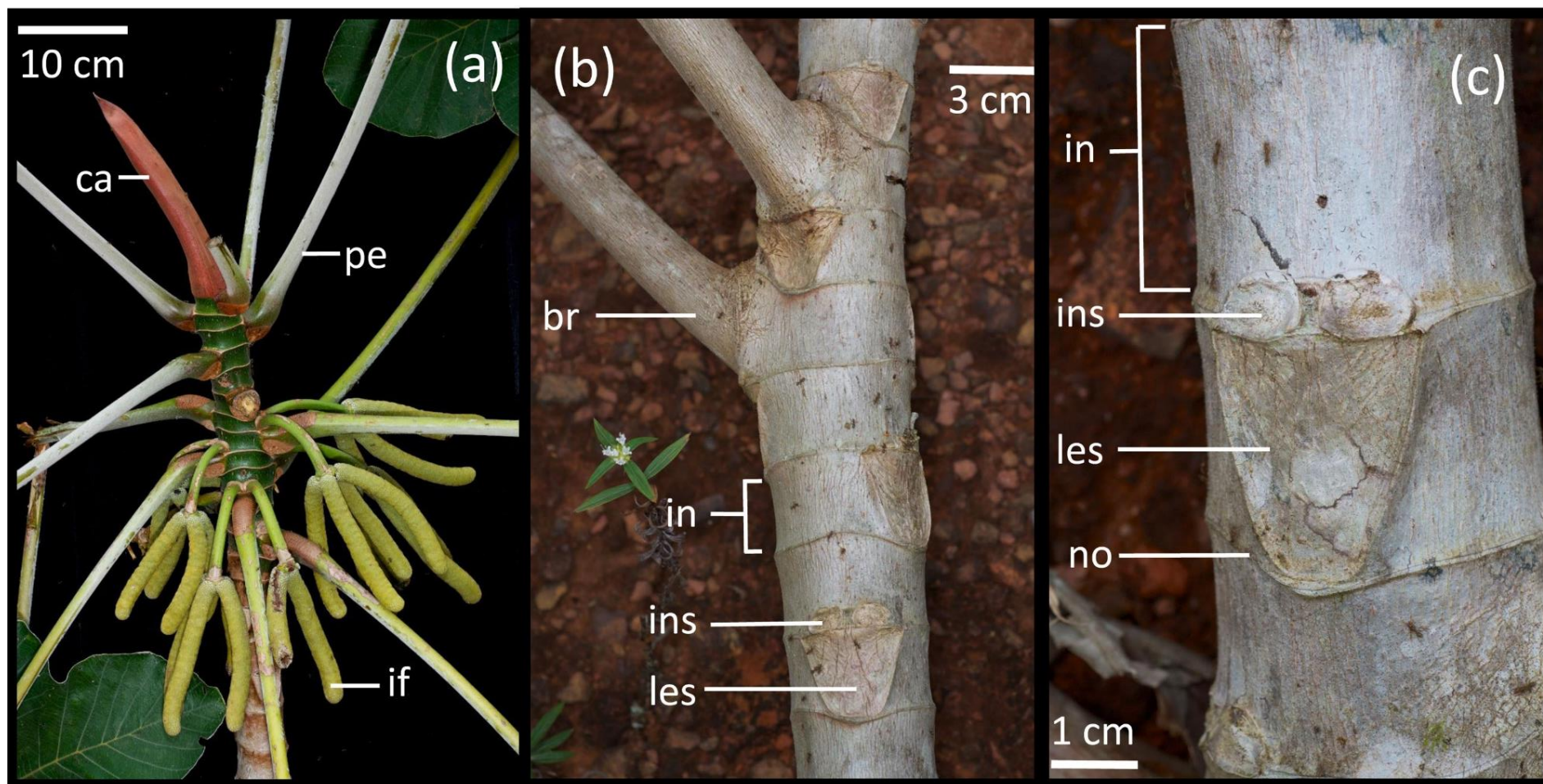


Fig. S1. Morphological features of *Cecropia obtusa* Trécul (Urticaceae). (a) Focus on an apex, ca: calyptra; pe: petiole; if: inflorescence. (b) Focus on a branch tier, br: branch; in: internode, axis as the trunk are made of a linear succession of internodes; ins: inflorescence scars, these are twice just above the axillary leaf; les: leaf scar. (c) Focus on an internode, in: internode; ins: inflorescence scars; les: leaf scar; no: a node marled by the calyptra scar, allowing for the delineation of internodes along an axis as the trunk.

CHAPITRE 5

Linking drought-induced embolism resistance in stem xylem tissue to multi-scale wood anatomical traits of Neotropical trees

Chapitre 5

Déterminants anatomiques de la résistance à l'embolie par sécheresse du xylème des tiges pour les arbres Néotropicaux.

RÉSUMÉ

1. Il existe aujourd'hui plusieurs hypothèses distinctes pour expliquer comment des traits relatifs à l'anatomie du xylème permettent une résistance plus ou moins forte à l'embolie induite par sécheresse. Cependant, l'interaction et la contribution relative de ces différents mécanismes reste mal connue et les espèces des forêts tropicales humides jamais abordées.

2. Nous avons testé les hypothèses du rôle du diamètre des vaisseaux, de leur connectivité, et de l'ultrastructure de la membrane des ponctuations dans la résistance à l'embolie pour 25 espèces d'arbres de canopée de forêt tropicale humide des principaux clades (magnolidées, rosidées, astéridées). La résistance à l'embolie a été mesurée avec la technique de centrifugation.

3. Le diamètre des vaisseaux, la connectivité des vaisseaux, et l'ultrastructure de la membrane des ponctuations sont tous prédictifs de la résistance à l'embolie du xylème, mais avec un faible pouvoir prédictif. La surface moyenne de la membrane des ponctuations est le trait le plus prédictif. Cependant, prendre en compte l'interaction entre les traits permet d'avoir une bien plus grande prédictibilité. Le ratio entre la surface et l'épaisseur de la membrane des ponctuations suggère une forte importance de la résistance à la déflexion de la membrane.

4. Même si nos résultats suggèrent que l'ultrastructure de la membrane des ponctuations est le déterminant majeur de la résistance à l'embolie, renforçant ainsi l'idée qu'il s'agit avant tout du mécanisme du germe d'air, prendre en compte l'interaction multi-échelle entre les traits apporte potentiellement une compréhension plus profonde des déterminants anatomiques de la résistance à l'embolie.

Mots-clés : arbres tropicaux, résistance à l'embolie induite par sécheresse, microscopie électronique à transmission, membrane de ponctuation, groupement des vaisseaux, anatomie du xylème.

Chapter 5

Linking xylem resistance to drought-induced embolism to multi-scale wood anatomical traits in Neotropical trees

Sébastien Levionnois¹, Steven Jansen², Ruth Tchana Wandji³, Jacques Beauchêne¹, Camille Ziegler^{1,4}, Sabrina Coste¹, Clément Stahl¹, Sylvain Delzon⁵, Patrick Heuret^{1,6}

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

²Ulm University, Institute of Systematic Botany and Ecology, D-89081 Ulm, Germany.

³Université de Montpellier, AgroParisTech, 34000 Montpellier, France.

⁴Université de Lorraine, AgroParisTech, INRA, UMR Silva, F-54000 Nancy, France

⁵Université de Bordeaux, INRA, UMR BIOGECO 33615, Pessac, France.

⁶UMR AMAP, CIRAD, CNRS, INRA, IRD, Université de Montpellier, 34000 Montpellier, France.

Author contributions

P.H., J.B. and S.L. conceived and designed the study; S.L., C.Z., S.C., C.S. and P.H. collected field samples; S.L., S.J. and R.T.W. performed anatomical sections; S.L., P.H. and R.T.W. performed image analyses; S.D. managed embolism resistance measurements; S.L. and P.H. performed data analysis; S.L., S.J. and P.H. wrote the manuscript; all authors discussed the results and contributed valuable comments on the manuscript.

ABSTRACT

1. Drought-induced xylem embolism is considered to be one of the main factors driving mortality in woody plants worldwide. Although several structure-functional mechanisms have been tested to understand the anatomical determinants of embolism formation and spread, no studies have investigated them by integrating both in-depth anatomical observations and a broad interspecific level. Moreover, no study have investigated the interaction and relative contribution of these mechanisms.

2. We combined optical, laser, and transmission electron microscopy to investigate the role of vessel diameter, vessel grouping, and pit membrane ultrastructure in embolism resistance across 25 tropical rainforest tree species across three major clades (magnoliids, rosiids, and asteriids). Embolism resistance was measured with the flow-centrifugation technique equipped with a large rotor designed to measure long-vesselled species.

3. Vessel diameter, vessel grouping, and pit membrane ultrastructure were all predictive of xylem embolism resistance, but with weak predictive power. While mean pit membrane area was the best predictive trait, a multiple trait approach was more predictive. The pit membrane area to thickness ratio suggests a strong importance of the deflection resistance of the pit membrane.

4. Our results indicate that intervessel pit membranes represent the leading structure associated with embolism resistance, reinforcing the functional significance of air-seeding.

Keywords: tropical trees, drought-induced embolism resistance, transmission electron microscopy, pit membrane, vessel grouping, xylem anatomy.

INTRODUCTION

Increasing frequency of extreme drought events and drought-related tree mortality urge a better understanding of drought resistance of trees (Allen *et al.* 2010, 2015). Over the past two decades, important efforts were made by the plant hydraulics community to identify traits related to drought resistance (Choat *et al.* 2018). As a result, various traits have been recognised as determinants of drought resistance, such as xylem embolism resistance (Urli *et al.* 2013), leaf resistance to turgor loss (Bartlett *et al.* 2012), stomatal regulation (Martin-StPaul *et al.* 2017), control of residual water loss (Duursma *et al.* 2019), hydraulic capacitance (Martinez-Vilalta *et al.* 2019), rooting depth (Brum *et al.* 2017), leaf-to-xylem allocation (Lehnebach *et al.* 2018), and leaf phenology (Wolfe *et al.* 2016). Drought resistance appeared as a syndrome of traits, and can be achieved through different trait associations across species, habitats, and biomes (Pivovarov *et al.* 2016). Recent findings suggest that stem embolism resistance represents one of the primary drivers of drought resistance. Stem embolism resistance predicts species growth and survival (Eller *et al.* 2018), ecological distribution (Oliveira *et al.* 2019), and both macro- and micro-evolutionary patterns (López *et al.* 2013; Larter *et al.* 2017). Also, stem embolism resistance is an important predictor of recent drought-related tree mortality (Anderegg *et al.* 2016; Adams *et al.* 2017). However, despite the ecological significance of this trait, we still lack a clear mechanistic understanding and modelling of its anatomical determinants.

Several structure-functional hypotheses have been defined and tested to link xylem anatomy to stem embolism resistance. Certainly the most famous and the oldest one is related to vessel diameter, which we here call the “vessel size” hypothesis. This hypothesis emerged from the association of two ideas: (i) It is a long-standing knowledge that vessel diameter directly drives water conduction, and therefore also drives xylem efficiency, i.e. xylem-specific hydraulic conductivity (K_s) (Zimmermann 1983; Sperry *et al.* 2008); (ii) There should be a trade-off between xylem safety (embolism resistance) and xylem efficiency, the so-called safety-efficiency trade-off, otherwise all the woody plants would exhibit both high safety and high efficiency. However, the safety-efficiency trade-off is very weak at a broad interspecific level within angiosperms (Gleason *et al.* 2016), such that many plants with low safety do not show high hydraulic efficiency. Moreover, even if relationships between embolism resistance and vessel diameter have already been suggested (Wheeler *et al.* 2005; Hacke *et al.* 2006, 2016; Sperry *et al.* 2006, 2008), there is presently (i) no consensus about a potential link between drought-induced embolism and vessel diameter, as also (ii) no clear mechanism for such link leading this relationship to rather be non-causal.

The second is the “vessel network” hypothesis, suggesting that the three-dimensional topology of vessels, the degree of vessel grouping, or the frequency of connection among vessels, should have a hydraulic functional significance. Carlquist (1984) has been the first to postulate that xeric species, with vessels embedded in a non-conductive background tissue (i.e. parenchyma, fibres), should have more grouped vessels, such that “grouping of vessels is regarded as a way of providing alternate ways” in case of embolism. While there is some evidence for this vessel network hypothesis within *Acer* (Lens *et al.* 2011), no support was found for species within the genus *Prunus* (Scholz *et al.* 2013). Based on a theoretical modelling approach, Loepfe *et al.* (2007) and Martínez-Vilalta *et al.* (2012) suggested that high vessel grouping is linked to low safety, by increasing the probability of the embolism spreading. However, the vessel network hypothesis remains poorly studied, and has never been tested experimentally for a phylogenetically diverse set of species.

The third is the “pit ultrastructure” hypothesis, certainly the most corroborated one, and well supported. Water transport between two adjacent vessels is allowed by bordered pits, with pit membranes representing a meshwork of cellulose microfibril aggregates (Choat *et al.* 2008). Pit membranes are permeable to water, and represent ca. 50% resistance of the total plant hydraulic resistance (Sperry *et al.* 2006). Pit membranes also determine the entry of gas-water menisci from an embolised vessel into the adjacent water-filled vessel, according to the air-seeding mechanism (Zimmermann 1983; Tyree and Sperry 1989; Choat *et al.* 2008; Mayr *et al.* 2014). While our mechanistic understanding of air-seeding is very poor, and largely based on an oversimplified two-dimensional view of pit membranes, one of the best predictors of embolism resistance is pit membrane thickness, both at an interspecific and intraspecific level (Lens *et al.* 2011; Scholz *et al.* 2013; Schuldt *et al.* 2016; Li *et al.* 2016). Species that show high embolism resistance typically show thicker pit membranes than species that are more vulnerable to embolism. It is assumed that this functional relationship is caused by the length of the porous pathway, with pores having more pore constrictions in thick than in thin pit membranes. Earlier work on embolism resistance and pit membrane thickness are limited to temperate and Mediterranean species, and the pit ultrastructure hypothesis has not been tested yet for a large set of tropical tree species (but see Trueba *et al.* 2019, which integrate pit ultrastructure for 12 tropical species but two trees species). Recent findings also demonstrate strong relationships between pit membrane area and embolism resistance (Lens *et al.* 2011; Scholz *et al.* 2013).

These different hypotheses, linking to different potential mechanisms, suggest multiple determinants shaping embolism resistance. In this view, embolism resistance results from the

association of several anatomical traits. Integrative studies combining physiological and anatomical approaches, with several microscopy methods for multi-scale observations, and investigating several structure-functional hypotheses, have already been conducted. However, such studies remain scarce and limited to the intrageneric level (Lens *et al.* 2011; Scholz *et al.* 2013). On the other hand, studies incorporating a broad taxonomic group of species do exist, but fail to incorporate in-depth anatomical observations (Sperry *et al.* 2006) or several structure-functional hypotheses (Li *et al.* 2016). Moreover, we lack a picture of the relative contribution of the different mechanisms shaping xylem embolism resistance. Finally, such integrative studies are lacking for tropical tree species, for which the understanding of drought resistance is a dramatic issue regarding the role of tropical rainforests in biodiversity and carbon cycles (Bonan 2008; Bonal *et al.* 2016).

Among the different hypothesised anatomical determinants of embolism resistance, it is sometimes assumed that wood density represents a valid proxy, such that high wood density is associated with high embolism resistance (Baas *et al.* 2004; Lachenbruch and McCulloh 2014; Beeckman 2016). Such statements can lead some community and functional ecologists to discuss wood density as a proxy of drought-related embolism resistance. However, such relationship may largely depend on the geographical or phylogenetic scales. Plants from arid regions may have on average high resistance to embolism, with also high wood density and slow growth contributing to survival, while the opposite is true for wet regions (Chave *et al.* 2009). Then, an apparent relationship between wood density and embolism resistance would be found, but it does not necessarily work at a more local scale. A correlation between wood density and embolism resistance may be relatively strong for gymnosperms ((Rosner 2017), however see Lamy *et al.* 2012). However, there is a weaker support for angiosperms, most likely because vessel lumen fractions can be largely independent of wood density (Ziemińska *et al.* 2013, 2015).

Here, we aim to apply a multi-scale approach to test three of the major hypotheses related to the anatomy-embolism relationship, for a large phylogenetic diversity across 25 tropical rainforest tree species. Moreover, we want to quantify the relative contribution of the traits investigated with respect to embolism resistance. We measured wood tissue-level, vessel-level, and pit-level traits, relying on light, laser, and transmission electron microscopy, while we produced vulnerability curves (VC) to quantify embolism resistance with the flow-centrifugation technique. We specifically addressed the following questions:

- Which of the three main hypotheses that link xylem anatomy to stem embolism resistance stand for tropical rainforest trees? We also tested if wood density is a good proxy of embolism resistance for Neotropical tree species.
- What are the relative contributions of the underlying wood anatomical traits to embolism resistance? We hypothesise to find pit-related traits to have the largest contribution, in agreement with the air-seeding mechanism.

MATERIALS AND METHODS

Study site and species

The experiment was conducted in French Guiana, at the Paracou experimental station (<https://paracou.cirad.fr/website>; 5°16'26''N, 52°55'26''W), in a lowland tropical rainforest (Gourlet-Fleury *et al.* 2004). The warm and wet tropical climate of French Guiana is highly seasonal due to the north-south movement of the Inter-Tropical Convergence Zone. mean (\pm SE) annual air temperature of 25.7 °C \pm 0.1°C and a mean precipitation of 3102 mm \pm 70 mm (from 2004 to 2014; Aguilos *et al.* 2019). There is a dry season lasting from mid-August to mid-November, during which rainfall is < 100 mm month⁻¹.

Only dominant canopy trees were sampled on *terra firme*. A total of 25 tree species and 64 trees were sampled, with 3 trees per species for 18 species, and one or two branches for the other 7 species. The species covered a large phylogenetic diversity such that the main clades of the flowering plants are represented, i.e. magnoliids, rosids, and asterids (see the phylogenetic tree in Fig. S1). Embolism resistance and anatomical measurements were both made for one branch per tree, and we took samples from the same branch to avoid potential intra-crown variation. The field sampling procedure was held between January 2017 and July 2017, avoiding the dry season and thus potential native embolism, i.e. embolism that would already be present prior to sampling.

Embolism resistance measurement

The embolism resistance data were retrieved from Ziegler *et al.* (*accepted for AFS*). Briefly, after cutting from the tree canopy, the branches for embolism resistance were defoliated and wrapped in wet tissues. Samples for anatomical investigation and wood density were taken at the most distal part of the branches that were also used to measure embolism resistance. Wood samples were conserved in water and in a fridge at 5°C to avoid wood and pit membrane shrinkage and deterioration (Jansen *et al.* 2018), and were kept there for the duration up to one year. Branches were sent from Kourou to the University of Bordeaux by priority transport, and

arrived at Bordeaux under in less than one week. Vulnerability curves were measured with the flow-centrifugation technique, with the *CAVI1000* technology (DGMeca, BIOGECO lab, Gradignan, France). P_{12} , P_{50} , and P_{88} (MPa) values were extracted from vulnerability curves, such that P_x corresponds to the water potential at which there is x% loss of maximum hydraulic conductance. We obtained 3 vulnerability curves based on 3 individual trees for 18 species, but we could obtain only one or two vulnerability curves for the remaining 7 species.

Anatomical traits

Tissue- and vessel-level traits were measured with optical microscopy, based on an episcopic method. Branch samples, of ~2cm length and ~1cm diameter, were sanded and cut with a razor blade to obtain a smooth cross-section. The episcopic method allowed us to cover complete radii in order to capture radial-related variation in vessel features (Illustration in Fig. S2). For each sample, we covered two opposite radii, while avoiding tension wood. Images of each cross-section were digitised with an optical microscope (Olympus BX60; Olympus Corporation; Tokyo; Japan) with a 5x MPlanFL Olympus objective, a UV-light cube (Olympus U-MNU2) for contrasting lignified cell walls from cell lumina, and a Canon camera EOS 500D (lens Olympus U-TVI-X ; F 0.0; ISO 100; speed 1/25). Pictures were assembled in a panorama using Kolor AutoPanoGiga software (v.3.0.0, <http://kolor.com/autopano/>) to obtain a complete picture of the cross-sectional radii (Fig. S2). We measured the arithmetic mean vessel area (A_v , mm²) and vessel frequency (d_v , n mm⁻²). We preferred to use the arithmetic mean vessel area rather than the hydraulic mean diameter since the hydraulic diameter strongly depends on the few large vessels (Rosell and Olson 2014). Moreover, if pit quantity is related to embolism resistance, potentially driving a vessel size-embolism resistance relationship, the arithmetic mean vessel area will be a better proxy of the total vessel wall surface area than the hydraulic diameter. We measured the vessel grouping index (**GI**), which was defined as the total number of vessels divided by the total number of vessel groups, with vessel groups including both solitary vessels and groups of vessels with true wall-by-wall contact. We assumed GI to be related to other more sophisticated metrics of conduit spatial distribution such as uniformity or aggregation indices (Mencuccini *et al.* 2010).

Transverse anatomical cuts of 8µm thickness were used to measure the intervessel double-wall thickness (T_w , µm). Wood samples were embedded in paraffin and the cuts were realised with a rotary microtome (Microm, HM 355 S). Anatomical sections were coloured with a FASGA (safranin + alcian blue) staining (Tolivia and Tolivia 1987). Images of each cross-section were digitised with an optical microscope (Olympus BX60; Olympus Corporation;

Tokyo; Japan) at a 100x UPlansApo Olympus objective using a Canon camera EOS 500D (lens Olympus U-TVI-X; F 0.0; ISO 100; speed 1/25). We measured about 15 double vessel walls per sample, avoiding cell wall corners.

We used a laser microscope (VK-9710K Color 3D Laser Microscope) with a 100x CFPlan Nikon objective to measure mean intervessel pit membrane area (A_{pm} , μm^2 ; Fig. 1a,b), pit frequency (f_{pit} , $\text{n } \mu\text{m}^{-2}$; Fig. 1a,b), and pit fraction on intervessel vessel walls (F_{pit} , %; Fig. 1a,b). Wood samples that were prepared for episcopic microscopy were split longitudinally with a knife, in a tangential direction. The fissure generally expended between the weakest parts of intervessel walls, with pit membranes becoming exposed and largely intact on one of the samples (Fig. 1a,b). For A_{pm} , f_{pit} , and F_{pit} measurements, we used 3-4 vessels per sample, by measuring about 30 intervessel pits per vessel.

We measured pit membrane thickness (T_{pm} , nm; Fig. 1c,d), intervessel primary wall thickness (T_{pw} , nm), and pit membrane electron density (d_{pm} ; Fig. 1e,f) based on transmission electron microscopy. The intervessel primary wall was not sufficiently visible to be measured with light microscopy. Transmission electron microscopy techniques on samples were applied at the Electron Microscopy Centre of Ulm University according to a standard preparation protocol (Li *et al.* 2016; Zhang *et al.* 2017). Wood samples were sent from Kourou to Ulm in May 2018, nearly one year after the sampling procedure for most samples. Therefore, wood samples were kept for a long time in water at 5°C, contrary to some other studies (Lens *et al.* 2011; Scholz *et al.* 2013; Li *et al.* 2016). Although long-term storage of samples in water could result in ultrastructural changes of the pit membrane, it is unclear if this caused any artificial shrinkage of the pit membrane. An additional problem with T_{pm} measurements was the quality of ultra-thin sections because some samples were very difficult to section due to their high wood density and/or presence of mineral inclusions in the wood.

Wood samples were cut into $\sim 1 \text{ mm}^3$ and fixed in a standard fixative (2.5% glutaraldehyde, 0.1mol phosphate, 1% sucrose and pH 7.3) overnight at room temperature. Samples were washed in a 0.2M phosphate buffer and postfixed with 2% buffered osmium tetroxide for 2h at room temperature. After washing with a buffer solution, the samples were dehydrated with a gradual ethanol series (30%, 50%, 70%, 90% and 100%). Samples were block stained with a saturated solution of uranyl acetate in ethanol for 30min at 37°C. The ethanol was gradually replaced with Epon resin (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) at room temperature, and the resin was polymerized at 60°C for 48 h. After trimming, embedded

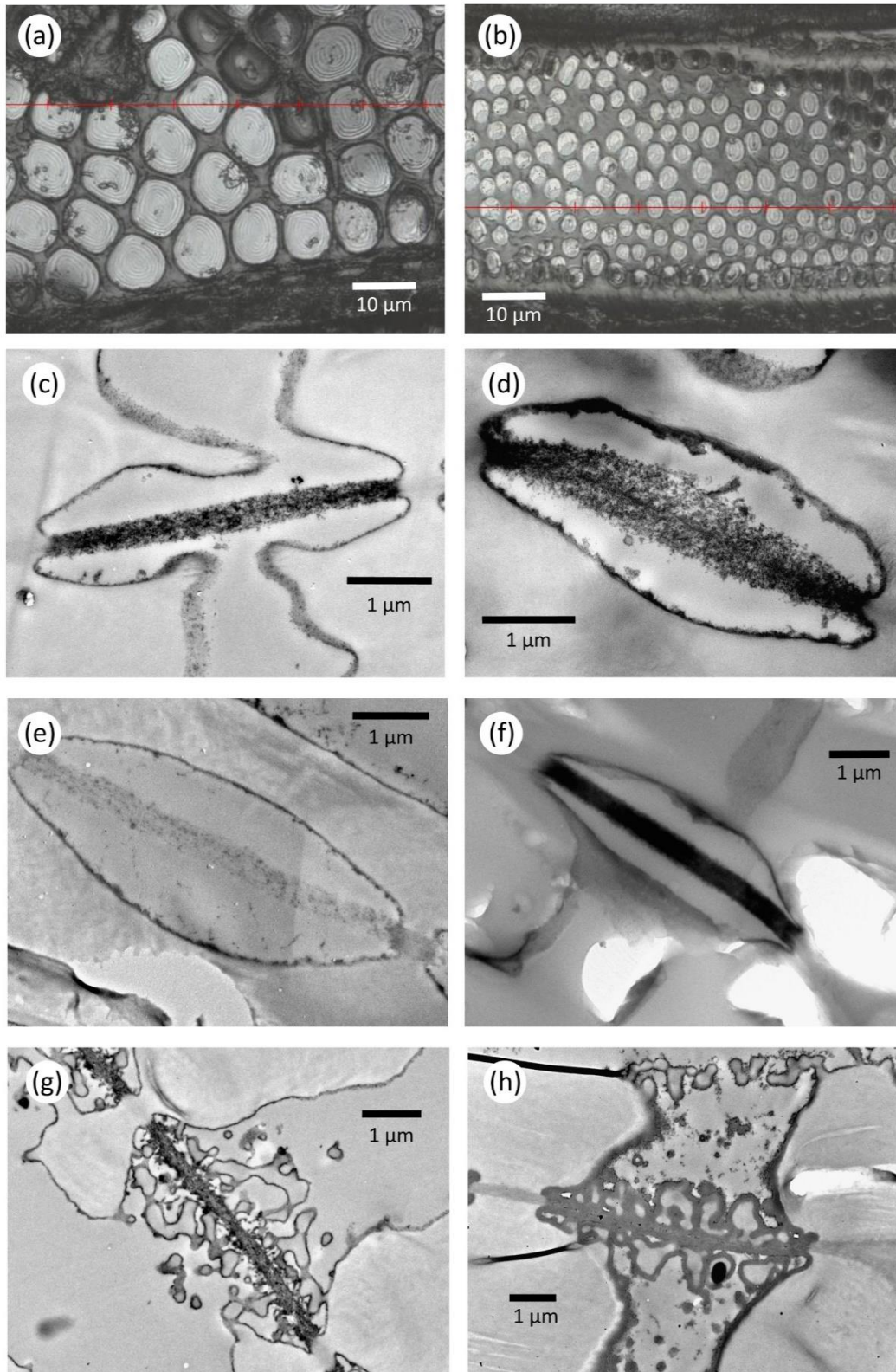


Fig. 1. Tangential laser microscopy sections (a,b) and transverse transmission electron microscopy sections of secondary xylem from rainforest tree species (c,d,e,f). (a) Large pit membrane into an intervessel wall in the embolism vulnerable *Chaetocarpus schomburgkianus*. (b) Small pit membrane into an intervessel wall in the embolism resistant *Gustavia hexapetala*. (c) Thin pit membranes in the embolism vulnerable *Lecythis persistens*. (d) Thick pit membrane in the embolism resistant *Pradosia cochlearia*. (e) Pit membrane with a low electron density in *Symphonia globulifera*. (f) Pit membrane with a high electron density in the embolism resistant *Manilkara bidentata*. (g) Vestured pit membrane in *Eperua grandiflora*. (h) Vestured pit in *Qualea rosea*.

samples were sectioned on an ultra-microtome (Ultracut E, Reichert-Jung, Austria). Transverse, semi-thin (~500nm thick) sections were cut from the embedded samples with a glass knife, heat-fixed to glass slides, stained with 0.5% toluidine blue in 0.1M phosphate buffer and mounted on slides with DPX (Agar Scientific, Stansted, UK). Transverse, ultra-thin (60 to 90 nm) sections were cut with a diamond knife and attached to 300 mesh per inch hexagonal copper grids (Agar Scientific, Stansted, UK). Observations were conducted with a JEOL 1400 TEM (JEOL, Tokyo, Japan) at 120 kV accelerating voltage, and TEM images were taken with a digital camera (Soft Imaging System, Münster, Germany). About 15 bordered pits were measured per tree, using 1-3 cuts per sample. While most pits were intervessel pits, it is likely that some vessel-tracheid pits were also included, as it was impossible to distinguish tracheids from narrow vessels under TEM. In case of pit membrane shrinkage, aspiration, or deformation, T_{pm} measurements were discarded (*C. schomburgkianus*, *I. sagotiana*, *L. poiteauii*, *M. coccinea*, *P. opacum*, *P. sagotianum*, *P. subserratum*, *S. sp1*).

We tested the T_{pm} -embolism resistance relationship in two ways: (i) based on a mean per species ($n = 17$), (ii) and based on all the T_{pm} measurements of all samples ($n = 424$). We suspected the presence or absence of vestures on pit membranes (Jansen *et al.* 2003; Choat *et al.* 2008) to affect the T_{pm} -embolism resistance relationship. Thus, we observed the presence/absence of vested pits.

All image analyses and measurements were conducted with ImageJ software (v.1.43u; <http://imagej.nih.gov/ij/>). Pit membrane electron density d_{pm} was measured as a quantification of a grey value on a 8-bit greyscale. It was assumed that d_{pm} was related to the presence of xylem sap surfactants (Schenk *et al.* 2017, Jansen *et al.* 2018), pit membrane pore volume fraction, and/or pit membrane shrinkage (see discussion). For a standardisation across images, d_{pm} was measured as the difference in grey value between the primary wall adjacent to a pit membrane and the pit membrane in itself (Gortan *et al.* 2011).

A_v and d_v were associated to the vessel size hypothesis. GI was associated to the vessel network hypothesis. T_{pm} , A_{pm} , d_{pit} were associated to the pit ultrastructure hypothesis. T_{pw} and T_w were measured to test if they can serve as proxy for T_{pm} . A complete list of traits with their abbreviations and associated hypothesis, is given in Table 1.

Another wood sample (~1.5cm in length; ~1cm in diameter) was used to measure the specific density, expressed as the ratio of dry mass to the fresh volume (WSG; $g\ cm^{-3}$: Wood Specific Gravity; Williamson and Wiemann 2010; Table 1). The fresh volume of the sample was calculated using an inverse Archimedes principle and a precision balance (CP224S,

Sartorius), as the difference between the fresh mass and immersed mass of the sample. Dry mass was derived after drying at 103 °C during 3 days until stabilisation of the mass.

Table 1. List of traits and abbreviations.

Abbreviation	Trait and definition	Unit	Hypothesis
P ₁₂ , P ₅₀ , P ₈₈	Water potential at 12, 50 and 88% loss of conductivity	MPa	
WSG	Wood specific gravity	g cm ⁻³	
A _v	Mean vessel area	µm ²	Safety-efficiency trade-off
d _v	Vessel density	n mm ⁻²	Safety-efficiency trade-off
GI	Vessel grouping index, total vessels divided by the total of vessel groups with true inter-vessel walls, a solitary vessel count as one vessel group		Vessel network
T _w	Inter-vessel wall thickness	µm	
T _{pw}	Inter-vessel primary wall thickness	nm	
A _{pm}	Mean pit membrane area	µm ²	Pit ultrastructure
T _{pm}	Pit membrane thickness	nm	Pit ultrastructure
T _{pm,005}	5 th centile of pit membrane thickness	nm	Pit ultrastructure
d _{pm}	Pit membrane electron density, quantified as the level of grey of the pit membrane on TEM photographs		Pit ultrastructure
f _{pit}	Pit frequency on inter-vessel wall	n µm ²	
F _{pit}	Pit fraction on inter-vessel wall	%	

Precautions on the vessel network hypothesis

The original statement of Carlquist (Carlquist 1984) stipulates that species with solitary vessels as seen on transverse sections rely on conductive tracheids to provide a subsidiary transport system in case embolism would block vessel transport. Although solitary vessels are interconnected at their vessel endings, they are characterised by a largely solitary position, with little intervessel overlap. Species bearing solitary vessels are prone to exhibit conductive tracheid bridges between vessels to maintain hydraulic connectivity (Cai *et al.* 2014; Pan and Tyree 2019). Therefore, the presence or absence of conductive tracheids can potentially alter the relationship between the vessel grouping and embolism resistance. To take into account this potential bias, we checked for the presence of tracheids based on the InsideWood dataset (Wheeler 2011), and examined bordered pit presence for imperforate tracheary elements based on observations of the 8 µm-thick anatomical sections used for the measurement of T_w. Four species exhibited fibres with bordered pits, which we interpret as conductive tracheids: *G. glabra*, *H. utilis*, *L. persistens*, *L. poiteauii*. These four species were effectively species with

largely solitary vessels. The presence or absence of these species did not affect the GI-embolism resistance relationship.

Statistical analysis

All statistical analyses were performed with R software (<http://CRAN-R-project.org>). No phylogenetic signal was detected for the traits investigated based on phylogenetic contrast analyses, i.e. variation of a given trait explained by species phylogenetic distances. Therefore, no phylogenetic impact was taken into account in our analyses of trait relationships. Phylogenetic analyses were carried out with the *ape* and the *phylosignal* packages.

For the trait-by-trait analysis, we used linear and non-linear regression models in order to test the link between anatomical traits (*x-axis*) and embolism resistance traits (*y-axis*). Non-linear regression models were based on log₁₀-transformed values.

To test the effect of the interaction between anatomical traits in conferring wood embolism resistance, we built multiple linear models only based on interactions. As the number of potential explanatory variables is high, the number of potential models is enormous based on factorial rules. Therefore the probability to have a highly explanatory model by chance is high. To avoid such statistical bias, we only tested models built on a mechanistic rationale (see Discussion), which relies on our current knowledge about the anatomy-embolism resistance relationships, and best trait-by-trait relationships in our study. The best models were selected based on the ranking of adjusted-R² and AIC values (Akaike's Information Criterion). We also ran an automatic model selection with the R package *glmulti*, by including all the measured anatomical traits in the candidate models. Model comparison was based on the minimisation of AIC.

To weigh the relative contribution of anatomical traits in conferring embolism resistance, we carried out sensitivity analyses. For each observation, we calculated embolism resistance predictions with (i) the complete model, and with (ii) models where explanatory variables were fixed to the mean, except those for which the sensitivity was tested. For each explanatory variable and for each observation, embolism resistance predictions of the complete model were respectively subtracted to the embolism resistance predictions of the corresponding fixed model (Δ prediction). The lower the mean Δ prediction for a given explanatory variable, the higher the importance of this variable in the explanatory power of the complete model.

RESULTS

Global trait variation

The multivariate analysis of correlations of the traits measured defined two major axes, which explain 57.4% of the inertia (Fig. 2a). The first axis (37.6%) was largely explained by d_v and P_{50} (16.2 and 15.9% of axis inertia respectively). P_{50} was positively correlated on the first axis with F_{pit} and A_v . P_{50} was negatively correlated on the first axis to d_v and GI . The second axis (19.8%) was firstly explained by T_{pw} , A_{pm} , and f_{pit} (21.0%, 18.9%, and 18.6% of axis inertia respectively). The different species were largely dispersed along these two axes (Fig. 2b). Species of well-represented families (Burseraceae, Fabaceae, Lecythidaceae) were grouped along these two axes, except for Sapotaceae.

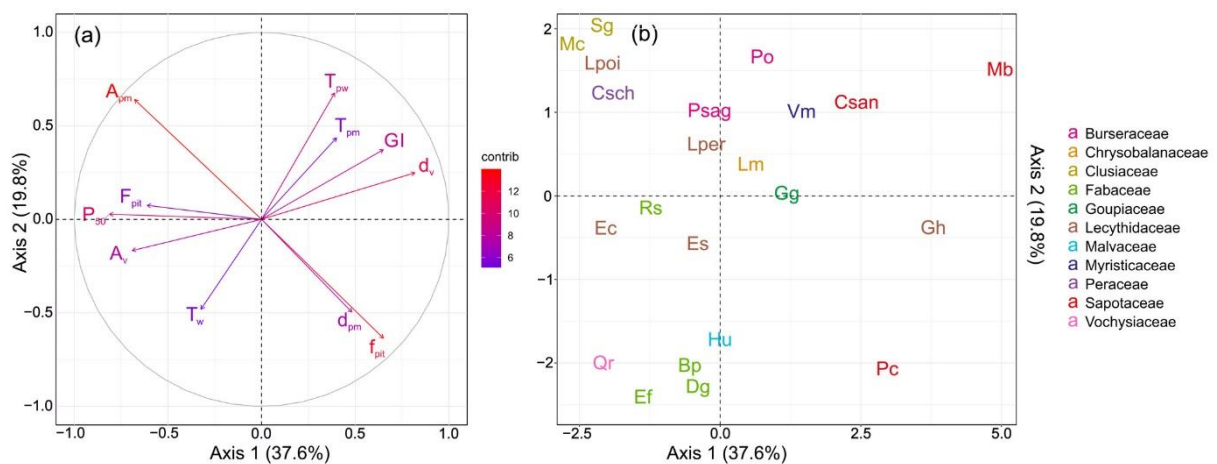


Fig. 2. Principal component analysis (PCA) on anatomical traits and P_{50} for 22 species. (a) Correlation circle of data with the histogram of inertia. (b) Individual factor map of data according to species. In (a), the colour gradient indicates the contribution of each variable to the axis. In (b), the colours represent the different plant families. See Table 1 for definitions of abbreviations.

Trait-by-trait relationships

Regarding wood density, WSG was not related to P_{50} (Fig. S3; Table 2; $P = 0.59$; $R^2 = 0.013$). Regarding the vessel size hypothesis, A_v was positively related to P_{50} (Fig. 3a; $P < 0.05$; $R^2 = 0.195$), whereas d_v was negatively related to P_{50} (Fig. 3b; $P < 0.05$; $R^2 = 0.226$). d_v et A_v were negatively correlated (Fig. 3c; $P < 0.001$; $R^2 = 0.802$). Regarding the vessel network hypothesis, GI was negatively related to P_{50} (Fig. 4a; $P < 0.05$; $R^2 = 0.195$), even so when species bearing tracheids were removed (Table 2; $P < 0.05$; $R^2 = 0.194$). GI was positively related to d_v (Fig. 4b; $P < 0.001$; $R^2 = 0.550$), and negatively related to A_v ($P < 0.05$; $R^2 = 0.195$).

Regarding the pit ultrastructure hypothesis, T_{pm} was not related to P_{50} , even when only non-vestured pits were tested (Fig. 5a; $P > 0.05$). T_{pm} based on all the T_{pm} measurements per sample was negatively related to P_{50} (Fig. 5b; $P < 0.001$). The relationship was not strengthened

when vested-pit species were removed (Fig. 5b; $R^2 = 0.057$ against 0.082). The slope of the T_{pm} - P_{50} relationship was not different between the model incorporating species with vested and non-vested pits, and the model only incorporating species with non-vested pits ($P < 0.05$). d_{pm} was not related to P_{50} (Fig. 5c; $P > 0.05$). A_{pm} was positively related to P_{50} when both vested and non-vested pits were tested (Fig. 5d; $P < 0.05$; $R^2 = 0.246$), also when only non-vested pits were tested (Fig. 5d; $P < 0.05$; $R^2 = 0.308$).

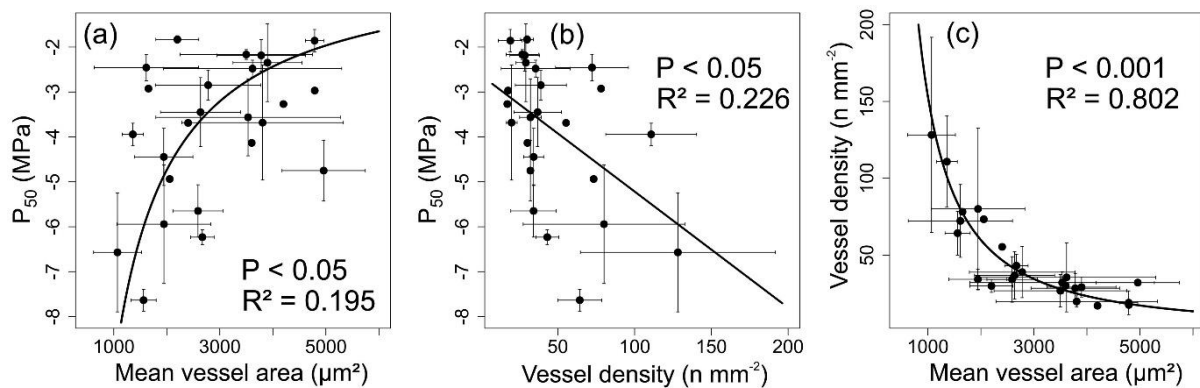


Fig. 3. The vessel size hypothesis for 25 species. Standard deviations are plotted around the mean for each species. (a) P_{50} according to the mean vessel area. (b) P_{50} according to the vessel density. (c) Vessel density according to the mean vessel area.

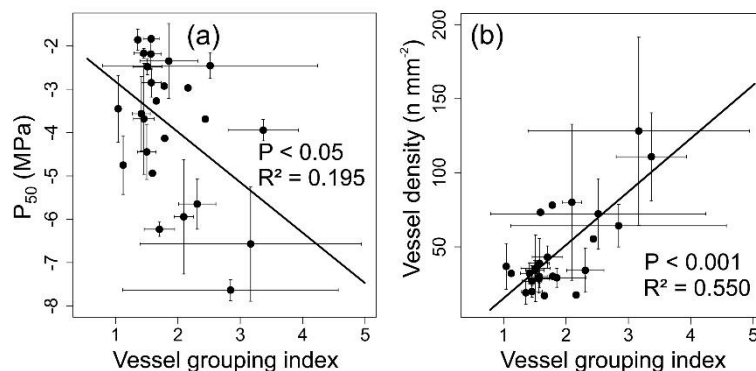


Fig. 4. The vessel network hypothesis for 25 species. Standard deviations are plotted around the mean for each species. (a) P_{50} according to the vessel grouping index. (b) Vessel density according to the vessel grouping index.

T_w and T_{pw} were not related to P_{50} (Table 2; $P > 0.05$). f_{pit} was negatively related to P_{50} (Table 2; $P < 0.01$; $R^2 = 0.274$). F_{pit} was not related to P_{50} (Table 2; $P > 0.05$), but was positively related to P_{88} (Table 2; $P < 0.01$; $R^2 = 0.256$). All anatomical traits related to P_{50} were also related to P_{88} (Table 2; $P < 0.05$), except for d_{pm} , f_{pit} , and F_{pit} . A_v , d_v , GI , and A_{pm} , which were related to both P_{50} and P_{88} , were better predictors of P_{88} than P_{50} (Table 2). None of the anatomical traits studied was a predictor of P_{12} , except for f_{pit} (Table 2; $P < 0.05$; $R^2 = 0.228$).

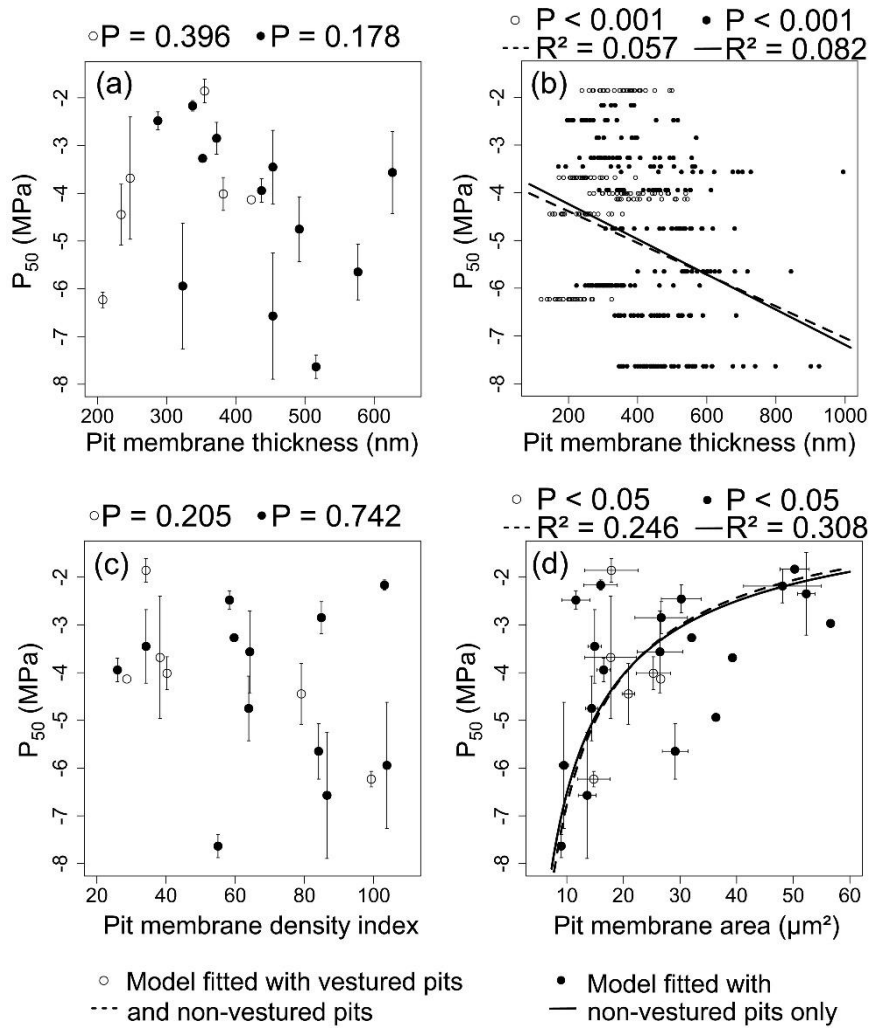


Fig. 5. The pit ultrastructure hypothesis for 25 species. (a) P_{50} according to pit membrane thickness based on mean per species. (b) P_{50} according to the pit membrane thickness based on all thickness measurements per sample and per species. (c) P_{50} according to the pit membrane density index. (d) P_{50} according to the pit membrane area. Empty circles and dashed lines represent models fitted with vestured- and non-vestured-pit species. Filled circles and solid lines represent models fitted with non-vestured-pit species only, excluding vestured-pit species. Standard deviations are plotted around the mean for each species, except for (b) where each dot represents a single pit measurement.

Trait interactions

The best explanatory power (Table 3; $P < 0.001$, $R^2 = 0.669$) of P_{50} or P_{88} was obtained for a combination of GI , T_{pm} , d_{pm} , A_{pm} and F_{pit} such that:

$$P_{50} \text{ or } P_{88} \sim GI * \frac{T_{pm} * d_{pm}}{A_{pm}} * \frac{1}{F_{pit}}$$

Based on sensitivity analyses, the strongest drivers of P_{50} or P_{88} were in order $1/A_{pm}$ and d_{pm} , preceding T_{pm} and GI , preceding $1/F_{pit}$.

Table 2. Linear model parameters from the relationship between embolism resistance and anatomical traits

	log	non-vestured pits only	P12		P50		P88	
			P-value	R ²	P-value	R ²	P-value	R ²
WSG			0.509	0.020	0.590	0.013	0.709	0.006
A _v	x		0.169	0.081	0.027	0.195	0.018	0.219
d _v			0.236	0.060	0.016	-0.226	0.004	-0.315
GI			0.113	0.106	0.027	-0.195	0.024	-0.203
GI _{no-tracheids}			0.138	0.062	0.023	-0.194	0.014	-0.231
T _w			0.827	0.002	0.637	0.010	0.560	0.015
T _{pw}			0.855	0.001	0.339	0.038	0.099	0.109
A _{pm}	x		0.067	0.138	0.012	0.246	0.009	0.260
A _{pm}	x	x	0.076	0.174	0.014	0.309	0.014	0.307
T _{pm}			0.773	0.000	0.396	0.000	0.272	0.017
T _{pm}		x	0.293	0.020	0.178	0.091	0.209	0.068
T _{pm,all}			< 0.001	0.055	< 0.001	0.057	< 0.001	0.070
T _{pm,all}		x	< 0.001	0.058	< 0.001	0.082	< 0.001	0.059
d _{pm}			0.288	0.012	0.205	0.042	0.239	0.028
d _{pm}		x	0.904	0.000	0.742	0.000	0.581	0.000
f _{pit}			0.016	-0.228	0.007	-0.274	0.018	0.219
F _{pit}			0.590	0.013	0.061	0.144	0.010	0.256

Bold values represent significant relationships ($P < 0.05$). Abbreviations for all traits are presented in Table 1. T_{pm,all} : All individual pit membrane for pit membrane thickness.

Table 3. Best multiple models predicting P₅₀ and P₈₈ and sensitivity analysis on the explaining variables of these models.

		Best model	Sensitivity analysis for prediction deviation (Δ prediction, MPa)	
All traits	P ₅₀	-2.868e-04 * GI : T _{pm} : d _{pm} : 1/A _{pm} : 1/F _{pit} -2.717		
		p-value	< 0.001	GI 0.715
		adjusted-R ²	0.564	T _{pm} 0.714
		DF	21	d _{pm} 0.602
				1/A _{pm} 0.588
			1/F _{pit} 0.737	
P ₈₈	P ₈₈	-3.970e-04 * GI : T _{pm} : d _{pm} : 1/A _{pm} : 1/F _{pit} -3.362		
		p-value	< 0.001	GI 0.990
		adjusted-R ²	0.652	T _{pm} 0.989
		DF	21	d _{pm} 0.833
				1/A _{pm} 0.814
			1/F _{pit} 1.020	

GI: vessel grouping index; T_{pm}: pit membrane thickness; (μ m) d_{pm}: pit membrane electron density index; A_{pm}: mean pit membrane area (μ m²); F_{pit}: Intervessel wall pit membrane fraction (%)

DISCUSSION

Our study demonstrated that hypotheses related to structure-functional relationships of embolism resistance hold true for a large phylogenetic diversity. However, these relationships are weaker than those previously found. Our study also demonstrated that the interaction between traits based on a multiple model of embolism resistance had a strong predictive power. This model suggests that parameters contributing to embolism resistance at a high phylogenetic level (incorporating magnoliids, rosiids and asteriids) are traits related to bordered pits, further supporting that drought-induced embolism is largely due to about air-seeding at the bordered-pit level (Sperry and Tyree 1988; Jansen *et al.* 2018).

The vessel size hypothesis

The vessel size hypothesis was well supported, with both mean vessel area (A_v) and vessel density (d_v) related to embolism resistance (Fig. 3a,b), in agreement with past studies (Hacke *et al.* 2006; Sperry *et al.* 2006). However, we lack a clear mechanistic explanation that would directly link vessel diameter and number to drought-induced embolism resistance. In our point of view, this relationship is non-causal but rather indirect, and some explanations could support this hypothesis. Firstly, the vessel diameter-embolism resistance relationship is not consistent across studies investigating this relationship. Some of them have found a negative result (Lens *et al.* 2011; Scholz *et al.* 2013). Secondly, vessel size could be correlated to more mechanistic traits related to embolism resistance, such as pit traits. For instance, the vessel-wall pit fraction (F_{pit}) and pit membrane area (A_{pm}) were related to mean vessel area in our study ($P < 0.05$). Knipfer *et al.* (2018) found the same relationships between F_{pit} , A_{pm} , and vessel diameter across three walnut species. In agreement, Wheeler *et al.* (2005) found a relationship between F_{pit} and embolism resistance.

Finally, we found a relationship between d_v and A_v on the one hand (Fig. 3c), which underlined the vessel size hypothesis, and GI on the other hand (Fig. 4b), which underlined the vessel network hypothesis. If we consider there is a true mechanistic link between the vessel network topology and embolism resistance (as discussed below), these relationships also explain why A_v or d_v could be indirectly related to embolism resistance.

The vessel network hypothesis

The vessel network hypothesis was supported, but the relationship was rather weak. High connectivity was related to high embolism resistance (Fig. 4a). To our knowledge, our study is the first empirical test of the relationship between GI and embolism resistance for a large

phylogenetic diversity. Our data support the original hypothesis of Carlquist (1984), for which a high vessel grouping must be found for xeric-adapted species, in order to increase the number of water pathways, if some areas of the xylem become embolised. Our result is in agreement with Lens *et al.* (2011) for *Acer* species, but contrary to Scholz *et al.* (2013) for *Prunus* species. Our multiple model (Table 3) suggested that GI was a necessary component for shaping embolism resistance, since (i) GI was a better predictor than other vessel-related traits (A_v , d_v), and (ii) the removal of GI led to a less parsimonious and explanatory model. However, sensitivity analyses suggest that GI is the least effective trait in shaping embolism resistance.

Other theoretical modelling approaches, quantifying vessel network connectivity in different ways (Loepfe *et al.* 2007; Martínez-Vilalta *et al.* 2012), suggest that high connectivity increases the risk of embolism propagation but also hydraulic conductivity, when everything else being equal (i.e. vessel density, vessel diameter, pit characteristics). In the light of our results and others studies (Loepfe *et al.* 2007; Martínez-Vilalta *et al.* 2012), it can be hypothesized that the link between the vessel network and embolism is rather indirect. If embolism resistance is favoured by small vessels (even non-causally as discussed above), this should come at the cost of hydraulic conductivity. In this perspective, small vessels and certain pit characteristics would firstly drive embolism resistance at the cost of hydraulic conductivity, but this loss of hydraulic conductivity would be offset by a higher vessel network connectivity (Loepfe *et al.* 2007; Martínez-Vilalta *et al.* 2012). This would explain why GI is related to A_v and d_v .

Recent debates and resolution of controversies suggest that correct non-artefactual vulnerability curves are rather S-shaped (Delzon and Cochard 2014; Choat *et al.* 2016; Charrier *et al.* 2016; Lamarque *et al.* 2018). An implicit corollary of an S-shaped vulnerability curve is that most embolism events occur suddenly, in a rather small range of water potential, when the slope of the vulnerability curve is the highest, according to the concept of runaway embolism (Tyree and Sperry 1988). Therefore, when a vessel gets embolised, there is a high probability that all other vessels get embolised. This is inconsistent with the preliminary idea of Carlquist (1984) suggesting that “grouping of vessels is regarded as a way of providing alternate ways”. According to an S-shaped vulnerability curve, all other “alternate ways” should encounter embolisation more or less in the same time, depending of the steepness of the slope (i.e. the percentage loss of conductivity per MPa). In this line, vessel grouping should be rather linked to the slope of the vulnerability curve, rather than embolism resistance. But we did not observe a relationship between GI and the slope of vulnerability curves (result not shown).

The pit ultrastructure hypothesis

The link between pit ultrastructure traits (A_{pm} , T_{pm}) and embolism resistance (Fig. 5a), as also their explanatory power in the multiple model (Table 3), support the pit ultrastructure hypothesis and the air-seeding mechanism. Moreover, sensitivity analyses in our study suggested that pit ultrastructure traits were the leading driver in shaping embolism resistance. This result is in agreement with recent findings demonstrating strong relationships between T_{pm} or A_{pm} , and embolism resistance (Lens *et al.* 2011; Scholz *et al.* 2013; Li *et al.* 2016; Trueba *et al.* 2019). Our study demonstrates that this holds true for a rather large phylogenetic level of tropical tree species.

However, T_{pm} alone was a poor predictor of P_{50} based on trait-by-trait analyses (Fig. 5a,b). We found a reduction of the explanatory power of T_{pm} in P_{50} (Fig. 5b), relative to other studies (Lens *et al.* 2011; Scholz *et al.* 2013; Li *et al.* 2016), certainly relating to the large phylogenetic level we investigated. Some uncertainty exists regarding our T_{pm} values, since samples have been conserved for one year in water, contrary to other studies where measurements were made directly after sampling (Lens *et al.* 2011; Scholz *et al.* 2013; Li *et al.* 2016). This even led us to remove some species from the dataset due to concerns about pit shrinkage, and deformation, which could be seen under TEM. However, we observed surprisingly thick pit membranes, reaching 600 to 800 nm (Fig. 1d,f; Fig. 5a), contradicting the idea that rainforest tropical trees are generally vulnerable to embolism (Choat *et al.* 2012; Rowland *et al.* 2015; Santiago *et al.* 2018; but see Ziegler *et al.*, *accepted for AFS*). We found that T_{pm} alone as based on the mean value per species was not a predictor of embolism resistance. Only T_{pm} incorporating all the T_{pm} measurements for each sample and for each species could predict P_{50} in our study (Fig. 5b). Nevertheless, T_{pm} based on the mean value per species remained a necessary component of our multiple model in order to maximise the explanatory power and minimise AIC, supporting the role of T_{pm} in embolism resistance.

Our study is the first to our knowledge to quantify pit membrane electron density (d_{pm}), and to link it to embolism resistance (Table 3). d_{pm} could potentially reflect three features: impregnation of secondary compounds including proteins or lipids, the pore volume fraction, and shrinkage. (1) It was recently shown that xylem sap surfactants, through the concept of dynamic surface tension, affect bubble size and bubble stabilisation, while reducing the risk of embolism (Schenk *et al.* 2015, 2017). Amphiphilic lipids are the best candidate for such effective surfactants, and have been identified on vessel walls and pit membranes (Schenk *et al.* 2018). However, it is unknown if such lipids would also occur inside the pit membrane (Jansen *et al.* 2018). (2) Alternatively, the porous nature of the pit membrane is well-known

(Jansen *et al.* 2009), but remains difficult to quantify (Zhang *et al.* 2017, 2019). Scanning electron microscopy (SEM) is prone to dramatic artefacts due to pronounced shrinkage effects with sample preparation (Zhang *et al.* 2017), overestimating pore size. Perfusion of colloidal gold is an alternative method to quantify pit membrane pore size, but hardly allows for a continuous quantification, but rather discrete (due to size categories of gold particles, e.g. 5, 10, 20 nm). However, as porosity could be defined as the pore volume fraction within the pit membrane (Jansen *et al.* 2018), inversely it is defined by the fraction of the cellulose fibrillar aggregates. Thus, with no shrinkage effect, pit membrane electron density could directly be a proxy of pit membrane porosity. (3) Finally, sample preparation for TEM needs dehydration step, thus shrinkage effects are possible. Membrane shrinkage is driven by the aggregation of cellulose fibrils (Jansen *et al.* 2018), which increases electron density signals in TEM sections. The conditions by which our samples have been stored for a long time (1 year) may have led to potential shrinkage-related artefacts and a potential overestimation of d_{pm} .

The presence of vested pits can affect the relationship between embolism resistance and pit structural characteristics (Fig. 5; Jansen *et al.* 2003). Better predictions were found for A_{pm} by excluding vested-pits from the analysis (Fig. 5d). However, such gain on R^2 may only be a statistical bias, since R^2 values calculated are influenced by the number of observations. Moreover, we find that vested pits show significantly thinner pit membranes than non-vested pits across species ($P < 0.001$; *results not shown*), but that vested-pit species are not particularly less resistant to embolism.

Embolism resistance is shaped by multiple trait interactions

Our multivariate analysis resulted in a high dispersion of species along the two main axes (Fig. 2), which suggests that a given level of embolism resistance can be achieved through different anatomical structures. Contrary to past studies linking wood anatomy to embolism resistance, we found relatively small coefficients of variation across trait-by-trait relationship (Fig. 3,4,5). For instance, Lens *et al.* (2011) found $R^2 \sim 0.9$ and 0.7 for T_{pm} and GI respectively, against 0.10 and 0.20 respectively for our study. These contrasting explanatory powers suggest that high phylogenetic diversity soften prediction abilities of embolism resistance from wood anatomical traits.

Our multiple model approach demonstrated that we can highly increase prediction abilities of embolism resistance (Table 3). The construction of the model was initially based on a rational, from trait-by-trait relationships in this study. As we consider the vessel network and the pit ultrastructure hypotheses to be true and to have a mechanistic basis, the model was built

in order to have a module underlying each hypothesis. The first module was simply described by GI. The second module for pit membrane started from a simplification of the framework of Tixier *et al.* (2013). These authors suggest that embolism is triggered by the membrane deflection after strong strains due to a high pressure difference across a bordered pit. In this framework, deflection is delayed through pit membrane geometry, by optimising the ratio between pit membrane surface area and pit membrane thickness. Deflection is avoided for small but thick pit membranes. Under the hypothesis that d_{pm} is a proxy for pit membrane porosity, embolism resistance is further maximised by a low deflection potential and high d_{pm} (i.e. $d_{pm} * T_{pm} * 1/A_{pm}$), despite d_{pm} was not a predictor of P_{50} in trait-by-trait relationships (Fig. 5c). At this step, embolism resistance was maximised for high GI (vessel network hypothesis), and for low-stretching and electron dense pit membranes (pit ultrastructure hypothesis).

Finally, an unexpected result is the gain brought by the addition of the pit fraction on the vessel wall (F_{pit}) into the model, where low F_{pit} increased embolism resistance. F_{pit} is not related to our vessel network hypothesis, as F_{pit} describes how two adjacent vessels are connected, whereas the vessel network hypothesis describes vessel spatial distribution and arrangement at the xylem-level. Moreover, F_{pit} is uncorrelated to GI in our dataset. F_{pit} is not related to our pit ultrastructure hypothesis and has its own functional significance regarding embolism resistance, even if it is positively correlated to A_{pm} in our dataset.

Wood density is not a proxy of P_{50}

Wood density was not a proxy of embolism resistance (Fig. S3), with low P_{50} associated to both low and high wood density. Indeed several studies have already found such relationship, with high wood density related to high embolism resistance, but these studies generally concern broader scales (Hacke *et al.* 2001), or conifers (Lachenbruch and McCulloh 2014; Rosner 2017; but see Lamy *et al.* 2012). Indeed, wood density in hardwood species is not driven by vessel lumen but rather by the ground-tissue surrounding vessels, notably fibres, and more particularly the fibre wall fraction (Ziemińska *et al.* 2013, 2015). Moreover, the relationship between vessel diameter, or vessel conductive area, and wood density is rather weak or inexistent. Our results call for caution regarding the quantification of wood density in order to explain species embolism or drought resistance variability (see also Powell *et al.* 2017), particularly in tropical trait-based community ecology (Fortunel *et al.* 2012, 2014).

CONCLUSION

The vessel size, vessel network, and pit ultrastructure hypotheses were supported in our study. However, the trait-by-trait relationships underlying these hypotheses were relatively weak in comparison to previous studies conducted at the genus level, suggesting that our high phylogenetic level dissolves prediction abilities, probably reflecting several strategies to achieve embolism resistance. Moreover, the vessel size and the vessel network hypotheses critically lack mechanistic understandings, urging for more dedicated studies. Our multiple model approach highlighted the highly interactive nature of anatomical traits in shaping embolism resistance. Future directions should try to better understand the effect of the phylogenetic level (i.e. species vs genus vs family vs clade –angiosperm- levels) on the relative importance of anatomical traits driving embolism resistance, and integrate more structure-functional hypotheses.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the climbing team for canopy sampling: Jocelyn Cazal, Valentine Alt, Samuel Council, Anthony Percevaux, and Elodie Courtois. We thank all the technical assistance for field work: Oscar Affholder, Louise Authier, Benoit Burban, Elia Dardevet, Frederic Fung Fong You, Eva Gril.

The author(s) would like to thank SILVATECH (Silvatech, INRA, 2018. Structural and functional analysis of tree and wood Facility, doi: 10.15454/1.5572400113627854E12) from UMR 1434 SILVA, 1136 IAM, 1138 BEF and 4370 EA LERMAB EEF research center INRA Nancy-Lorraine for its contribution to the realisation of anatomical cuts. SILVATECH facility is supported by the French National Research Agency through the Laboratory of Excellence ARBRE (ANR-11-LABX-0002-01).

This study was funded by the GFclim project (FEDER 20142020, Project GY0006894) and an “Investissement d’Avenir” grant from the Agence Nationale de la Recherche (CEBA: ANR-10-LABX-0025; ARBRE, ANR-11-LABX-0002-01). S.L. was supported by a doctoral fellowship from CEBA.

LITERATURE

- Adams HD, Zeppel MJB, Anderegg WRL, et al. 2017.** A multi-species synthesis of physiological mechanisms in drought-induced tree mortality. *Nature Ecology and Evolution*.
- Aguilos M, Stahl C, Burban B, et al. 2019.** Interannual and seasonal variations in ecosystem transpiration and water use efficiency in a tropical rainforest. *Forests* **10**: 20.
- Allen CD, Breshears DD, McDowell NG. 2015.** On underestimation of global vulnerability to tree mortality and forest die-off from hotter drought in the Anthropocene. *Ecosphere* **6**: art129.
- Allen CD, Macalady AK, Chenchouni H, et al. 2010.** A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests. *Forest Ecology and Management* **259**: 660–684.
- Anderegg WRL, Klein T, Bartlett M, et al. 2016.** Meta-analysis reveals that hydraulic traits explain cross-species patterns of drought-induced tree mortality across the globe. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **113**: 5024–5029.
- Baas P, Ewers FW, Davis SD, Wheeler EA. 2004.** 15 - Evolution of xylem physiology In: *The Evolution of Plant Physiology*. Oxford: Academic Press, 273–295.
- Bartlett MK, Scoffoni C, Sack L. 2012.** The determinants of leaf turgor loss point and prediction of drought tolerance of species and biomes: a global meta-analysis. *Ecology Letters* **15**: 393–405.
- Beeckman H. 2016.** Wood anatomy and trait-based ecology. *IAWA Journal* **37**: 127–151.
- Bonal D, Burban B, Stahl C, Wagner F, Hérault B. 2016.** The response of tropical rainforests to drought—lessons from recent research and future prospects. *Annals of Forest Science* **73**: 27–44.
- Bonan GB. 2008.** Forests and climate change: forcings, feedbacks, and the climate benefits of forests. *Science* **320**: 1444–1449.
- Brum M, Teodoro GS, Abrahão A, Oliveira RS. 2017.** Coordination of rooting depth and leaf hydraulic traits defines drought-related strategies in the campos rupestres, a tropical montane biodiversity hotspot. *Plant and Soil* **420**: 467–480.
- Cai J, Li S, Zhang H, Zhang S, Tyree MT. 2014.** Recalcitrant vulnerability curves: methods of analysis and the concept of fibre bridges for enhanced cavitation resistance. *Plant, Cell & Environment* **37**: 35–44.
- Carlquist. 1984.** Vessel grouping in dicotyledon wood: Significance and relationship to imperforate tracheary elements. *Aliso*.
- Charrier G, Torres-Ruiz JM, Badel E, et al. 2016.** Evidence for hydraulic vulnerability segmentation and lack of xylem refilling under tension. *Plant Physiology*: pp.01079.2016.
- Chave J, Coomes D, Jansen S, Lewis SL, Swenson NG, Zanne AE. 2009.** Towards a worldwide wood economics spectrum. *Ecology Letters* **12**: 351–366.
- Choat B, Badel E, Burlett R, Delzon S, Cochard H, Jansen S. 2016.** Noninvasive measurement of vulnerability to drought-induced embolism by X-Ray microtomography. *Plant Physiology* **170**: 273–282.
- Choat B, Brodribb TJ, Brodersen CR, Duursma RA, López R, Medlyn BE. 2018.** Triggers of tree mortality under drought. *Nature* **558**: 531.
- Choat B, Cobb AR, Jansen S. 2008.** Structure and function of bordered pits: new discoveries and impacts on whole-plant hydraulic function. *New Phytologist* **177**: 608–626.
- Choat B, Jansen S, Brodribb TJ, et al. 2012.** Global convergence in the vulnerability of forests to drought. *Nature* **491**: 752–755.
- Delzon S, Cochard H. 2014.** Recent advances in tree hydraulics highlight the ecological significance of the hydraulic safety margin. *New Phytologist* **203**: 355–358.
- Duursma RA, Blackman CJ, López R, Martin-StPaul NK, Cochard H, Medlyn BE. 2019.** On the minimum leaf conductance: its role in models of plant water use, and ecological and environmental controls. *New Phytologist* **221**: 693–705.
- Eller C, de V. Barros F, R.L. Bittencourt P, Rowland L, Mencuccini M, S. Oliveira R. 2018.** Xylem hydraulic safety and construction costs determine tropical tree growth. *Plant, Cell & Environment*: n/a-n/a.
- Fortunel C, Fine PVA, Baraloto C. 2012.** Leaf, stem and root tissue strategies across 758 Neotropical tree species. *Functional Ecology* **26**: 1153–1161.
- 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 Phytologist* **202**: 79–94.
- Gleason SM, Westoby M, Jansen S, et al. 2016.** Weak tradeoff between xylem safety and xylem-specific hydraulic efficiency across the world’s woody plant species. *New Phytologist* **209**: 123–136.
- Gortan E, Nardini A, Salleo S, Jansen S. 2011.** Pit membrane chemistry influences the magnitude of ion-mediated enhancement of xylem hydraulic conductance in four Lauraceae species. *Tree Physiology* **31**: 48–58.

- Gourlet-Fleury S, Guehl JM, Laroussine O. 2004.** *Ecology and management of a neotropical rainforest : lessons drawn from Paracou, a long-term experimental research site in French Guiana.* Paris: Elsevier.
- Hacke UG, Sperry JS, Pockman WT, Davis SD, McCulloh KA. 2001.** Trends in wood density and structure are linked to prevention of xylem implosion by negative pressure. *Oecologia* **126**: 457–461.
- Hacke UG, Sperry JS, Wheeler JK, Castro L. 2006.** Scaling of angiosperm xylem structure with safety and efficiency. *Tree Physiology* **26**: 689–701.
- Hacke UG, Spicer R, Schreiber SG, Plavcová L. 2016.** An ecophysiological and developmental perspective on variation in vessel diameter. *Plant, Cell & Environment*.
- Jansen S, Baas P, Gasson P, Smets E. 2003.** Vestured pits: do they promote safer water transport? *International Journal of Plant Sciences* **164**: 405–413.
- Jansen S, Choat B, Pletsers A. 2009.** Morphological variation of intervessel pit membranes and implications to xylem function in angiosperms. *American Journal of Botany* **96**: 409–419.
- Jansen S, Klepsch M, Li S, et al. 2018.** Challenges in understanding air-seeding in angiosperm xylem.
- Knipfer T, Barrios-Masias FH, Cuneo IF, et al. 2018.** Variations in xylem embolism susceptibility under drought between intact saplings of three walnut species. *Tree Physiology* **38**: 1180–1192.
- 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 Phytologist* **204**: 747–764.
- Lamarque LJ, Corso D, Torres-Ruiz JM, et al. 2018.** An inconvenient truth about xylem resistance to embolism in the model species for refilling *Laurus nobilis* L. *Annals of Forest Science* **75**: 88.
- Lamy J-B, Lagane F, Plomion C, Cochard H, Delzon S. 2012.** Micro-evolutionary patterns of juvenile wood density in a pine species. *Plant Ecology* **213**: 1781–1792.
- Larter M, Pfautsch S, Domec J-C, Trueba S, Nagalingum N, Delzon S. 2017.** Aridity drove the evolution of extreme embolism resistance and the radiation of conifer genus *Callitris*. *New Phytologist* **215**: 97–112.
- Lehnebach R, Beyer R, Letort V, Heuret P. 2018.** The pipe model theory half a century on: a review. *Annals of Botany* **121**: 773–795.
- Lens F, Sperry JS, Christman MA, Choat B, Rabaey D, Jansen S. 2011.** Testing hypotheses that link wood anatomy to cavitation resistance and hydraulic conductivity in the genus *Acer*. *New Phytologist* **190**: 709–723.
- Li S, Lens F, Espino S, et al. 2016.** Intervessel pit membrane thickness as a key determinant of embolism resistance in angiosperm xylem. *IWA Journal* **37**: 152–171.
- Loepfe L, Martínez-Vilalta J, Piñol J, Mencuccini M. 2007.** The relevance of xylem network structure for plant hydraulic efficiency and safety. *Journal of Theoretical Biology* **247**: 788–803.
- López R, López de Heredia U, Collada C, et al. 2013.** Vulnerability to cavitation, hydraulic efficiency, growth and survival in an insular pine (*Pinus canariensis*). *Annals of Botany* **111**: 1167–1179.
- Martínez-Vilalta J, Anderegg WRL, Sapes G, Sala A. 2019.** Greater focus on water pools may improve our ability to understand and anticipate drought-induced mortality in plants. *New Phytologist* **223**: 22–32.
- Martínez-Vilalta J, Mencuccini M, Álvarez X, Camacho J, Loepfe L, Piñol J. 2012.** Spatial distribution and packing of xylem conduits. *American Journal of Botany* **99**: 1189–1196.
- Martin-StPaul N, Delzon S, Cochard H. 2017.** Plant resistance to drought depends on timely stomatal closure. *Ecology Letters* **20**: 1437–1447.
- Mayr S, Kartusch B, Kikuta S. 2014.** Evidence for air-seeding: watching the formation of embolism in conifer xylem. *The journal of plant hydraulics* **1**.
- Mencuccini M, Martínez-Vilalta J, Piñol J, et al. 2010.** A quantitative and statistically robust method for the determination of xylem conduit spatial distribution. *American Journal of Botany* **97**: 1247–1259.
- Oliveira RS, Costa FRC, Baalen E van, et al. 2019.** Embolism resistance drives the distribution of Amazonian rainforest tree species along hydro-topographic gradients. *New Phytologist* **221**: 1457–1465.
- Pan R, Tyree MT. 2019.** How does water flow from vessel to vessel? Further investigation of the tracheid bridge concept. *Tree Physiology* **39**: 1019–1031.
- Pivovarov AL, Pasquini SC, Guzman D, et al. 2016.** Multiple strategies for drought survival among woody plant species. *Functional Ecology* **30**: 517–526.
- Powell TL, Wheeler JK, Oliveira AAR de, et al. 2017.** Differences in xylem and leaf hydraulic traits explain differences in drought tolerance among mature Amazon rainforest trees. *Global Change Biology* **23**: 4280–4293.
- Rosell JA, Olson ME. 2014.** Do lianas really have wide vessels? Vessel diameter–stem length scaling in non-self-supporting plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **16**: 288–295.
- Rosner S. 2017.** Wood density as a proxy for vulnerability to cavitation: Size matters. *Journal of Plant Hydraulics* **4**: e001–e001.
- Rowland L, Costa ACL da, Galbraith DR, et al. 2015.** Death from drought in tropical forests is triggered by hydraulics not carbon starvation. *Nature* **528**: 119–122.

- Santiago LS, Guzman MED, Baraloto C, et al. 2018.** Coordination and trade-offs among hydraulic safety, efficiency and drought avoidance traits in Amazonian rainforest canopy tree species. *New Phytologist* **218**: 1015–1024.
- Schenk HJ, Espino S, Rich-Cavazos S, Jansen S. 2018.** From the sap's perspective: The nature of vessel surfaces in angiosperm xylem. *American Journal of Botany* **105**: 172–185.
- Schenk HJ, Espino S, Romo DM, et al. 2017.** Xylem surfactants introduce a new element to the cohesion-tension theory. *Plant Physiology* **173**: 1177–1196.
- Schenk HJ, Steppe K, Jansen S. 2015.** Nanobubbles: a new paradigm for air-seeding in xylem. *Trends in Plant Science* **20**: 199–205.
- Scholz A, Rabaey D, Stein A, Cochard H, Smets E, Jansen S. 2013.** The evolution and function of vessel and pit characters with respect to cavitation resistance across 10 *Prunus* species. *Tree Physiology* **33**: 684–694.
- Schuldt B, Knutzen F, Delzon S, et al. 2016.** How adaptable is the hydraulic system of European beech in the face of climate change-related precipitation reduction? *New Phytologist* **210**: 443–458.
- Sperry J, Hacke U, Pittermann J. 2006.** Size and function in conifer tracheids and angiosperm vessels. *American Journal of Botany* **93**: 1490–1500.
- Sperry JS, Meinzer FC, McCulloh KA. 2008.** Safety and efficiency conflicts in hydraulic architecture: scaling from tissues to trees. *Plant, Cell & Environment* **31**: 632–645.
- Sperry JS, Tyree MT. 1988.** Mechanism of water stress-induced xylem embolism. *Plant Physiology* **88**: 581–587.
- Tolivia D, Tolivia J. 1987.** *Fasga: A new polychromatic method for simultaneous and differential staining of plant tissues*. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2818.1987.tb02859.x>. 30 Aug. 2019.
- Trueba S, Delzon S, Isnard S, Lens F. 2019.** Similar hydraulic efficiency and safety across vesselless angiosperms and vessel-bearing species with scalariform perforation plates. *Journal of Experimental Botany* **70**: 3227–3240.
- Tyree MT, Sperry JS. 1988.** Do woody plants operate near the point of catastrophic xylem dysfunction caused by dynamic water stress? Answers from a model. *Plant Physiology* **88**: 574–580.
- Tyree MT, Sperry JS. 1989.** Vulnerability of xylem to cavitation and embolism. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **40**: 19–36.
- Urli M, Porté AJ, Cochard H, Guengant Y, Burlett R, Delzon S. 2013.** Xylem embolism threshold for catastrophic hydraulic failure in angiosperm trees. *Tree Physiology* **33**: 672–683.
- Wheeler EA. 2011.** Inside Wood – A Web resource for hardwood anatomy. *IAWA Journal* **32**: 199–211.
- Wheeler JK, Sperry JS, Hacke UG, Hoang N. 2005.** Inter-vessel pitting and cavitation in woody Rosaceae and other vesselless plants: a basis for a safety versus efficiency trade-off in xylem transport. *Plant, Cell & Environment* **28**: 800–812.
- Williamson GB, Wiemann MC. 2010.** Measuring wood specific gravity...Correctly. *American Journal of Botany* **97**: 519–524.
- Wolfe BT, Sperry JS, Kursar TA. 2016.** Does leaf shedding protect stems from cavitation during seasonal droughts? A test of the hydraulic fuse hypothesis. *New Phytologist* **212**: 1007–1018.
- Zhang Y, Carmesin C, Kaack L, et al. 2019.** High porosity with tiny pore constrictions and unbending pathways characterise the 3D structure of intervessel pit membranes in angiosperm xylem. *Plant, Cell & Environment*.
- Zhang Y, Klepsch M, Jansen S. 2017.** Bordered pits in xylem of vesselless angiosperms and their possible misinterpretation as perforation plates. *Plant, Cell & Environment* **40**: 2133–2146.
- Ziemińska K, Butler DW, Gleason SM, Wright IJ, Westoby M. 2013.** Fibre wall and lumen fractions drive wood density variation across 24 Australian angiosperms. *AoB PLANTS* **5**.
- Ziemińska K, Westoby M, Wright IJ. 2015.** Broad anatomical variation within a narrow wood density range—A study of twig wood across 69 Australian angiosperms. *PLOS ONE* **10**: e0124892.
- Zimmermann MH. 1983.** *Xylem Structure and the Ascent of Sap*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.

SUPPLEMENTARY INFORMATION

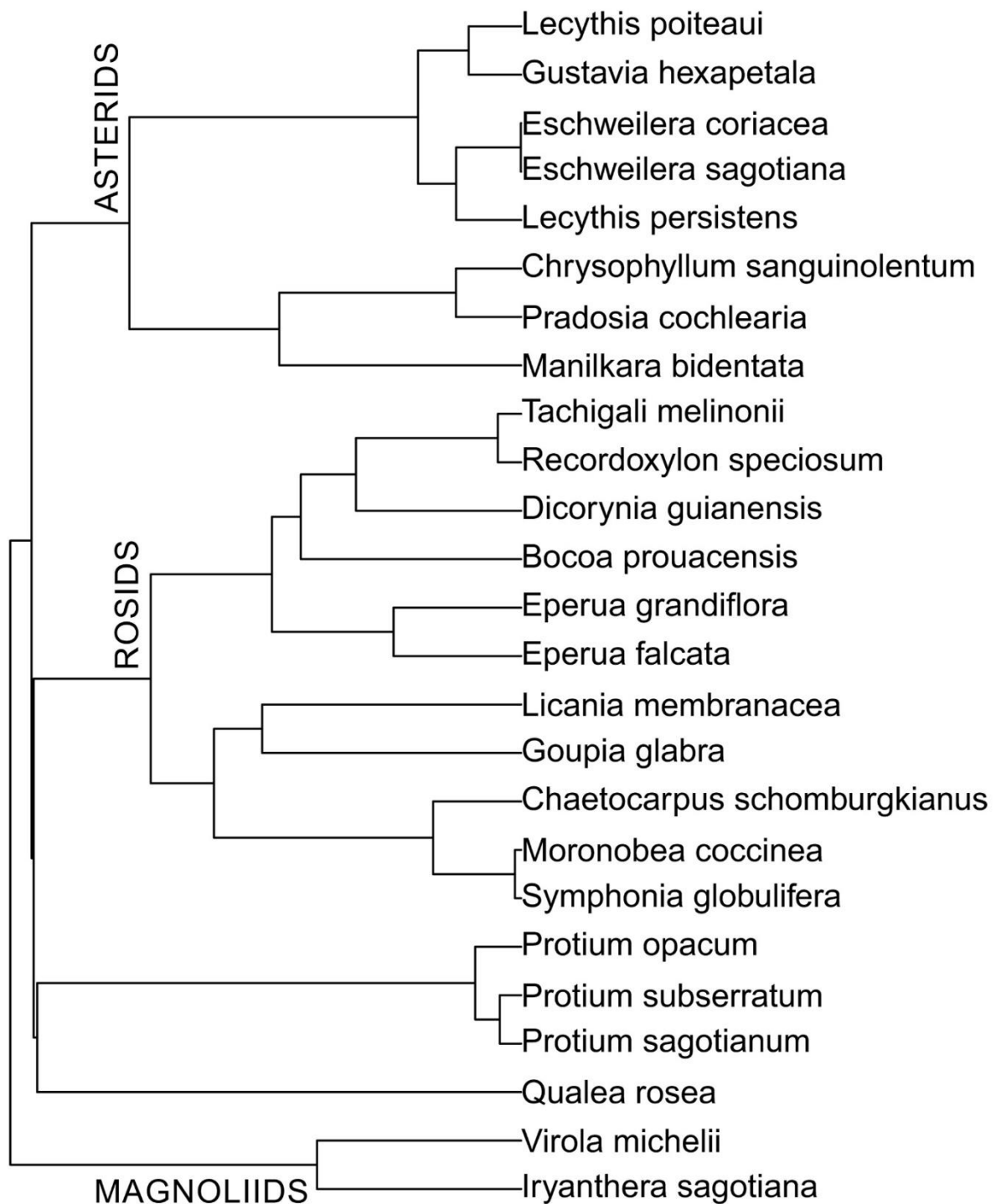


Fig. S1. Phylogenetic tree of the 25 species examined.

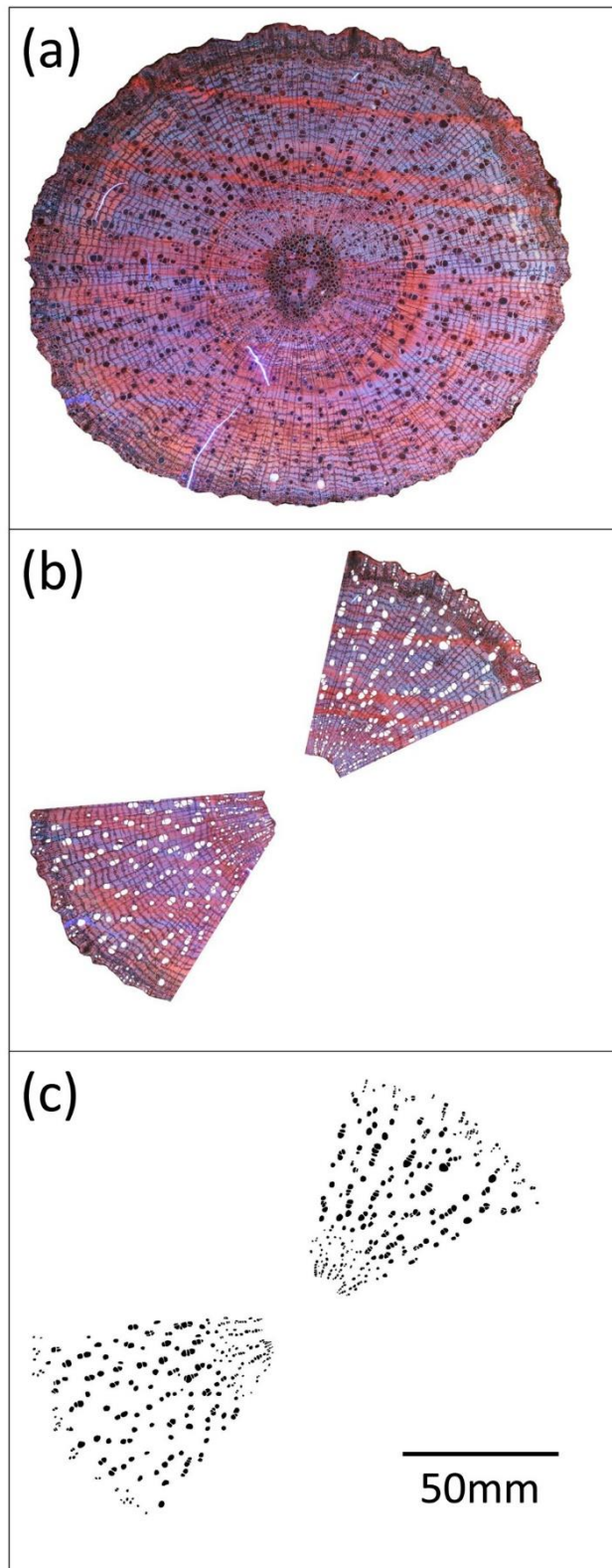


Fig. S2. Illustration of the method used for the measurement of vessel properties (A_v , d_v , GI) based on episcopic light microscopy, for *Chaetocarpus schomburgkianus*. (a) The sample is sanded and refreshed on a complete section. (b) Two opposite radii are defined. (c) All vessels on the radii are isolated and measured for the estimation of A_v , d_v , and GI.

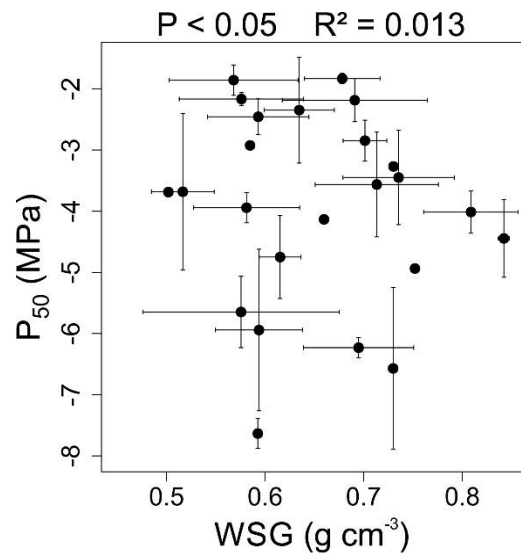


Fig. S3. Water potential for which 50% of the maximum conductance is loss (P_{50}) according to Wood Specific Gravity (WSG).

CHAPITRE 6

Hydraulic and vulnerability segmentations at the leaf-stem interface: Coordination and anatomical determinants across Neotropical trees

Chapitre 6

Segmentations hydraulique et de vulnérabilité à l'interface tige-feuille : Coordination et déterminants anatomiques chez les arbres Néotropicaux

RÉSUMÉ

1. La segmentation hydraulique prédit une plus grande résistance hydraulique dans les feuilles par rapport aux tiges. La segmentation de vulnérabilité prédit une plus faible résistance à l'embolie du xylème des feuilles par rapport au xylème des tiges. Ces deux mécanismes permettraient de sacrifier d'abord les feuilles en cas de sécheresse tout en préservant l'intégrité des branches, plus coûteuses en carbone. Malgré le fait que ces deux mécanismes aient été abondamment étudiés ces quatre dernières décennies, ils n'ont jamais été étudiés ensemble pour tester une potentielle coordination.

2. Nous avons étudié pour 21 espèces d'arbres de canopée de forêt tropicale humide, la résistance à l'embolie des tiges (avec la technique par centrifugation) et des feuilles (avec la méthode de visualisation optique), pour évaluer la segmentation de vulnérabilité pour ces espèces. Pour évaluer un indice de segmentation hydraulique, nous avons calculé la conductivité spécifique foliaire en nous basant sur la conductivité théorique du pétiole et de la tige calculées à partir de la densité et la taille de vaisseaux du xylème.

3. La segmentation hydraulique est systématique pour les espèces étudiées, avec une forte variabilité du degré de segmentation. Il y a un continuum de variation dans le degré de segmentation de vulnérabilité, avec environ 2 tiers des espèces avec une segmentation de vulnérabilité positive (feuilles moins résistance à l'embolie), et les autres avec une segmentation négative.

4. Le degré de segmentation de vulnérabilité est positivement corrélé au degré de segmentation hydraulique, tel que les espèces segmentées promeuvent les deux mécanismes pour découpler hydrauliquement la feuille de la tige. Les études futures devront maintenant évaluer l'impact de la segmentation hydraulique ou de la segmentation de vulnérabilité pour la survie et la résistance à la sécheresse des plantes.

Mots-clés: arbres tropicaux, segmentation de vulnérabilité, segmentation hydraulique, interface feuille-tige, résistance à l'embolie induite par sécheresse, conductivité spécifique foliaire, anatomie du xylème.

Chapter 6

Hydraulic and vulnerability segmentations at the leaf-stem interface: Coordination and anatomical determinants across Neotropical trees

ABSTRACT

1. Hydraulic segmentation predicts higher hydraulic resistance in leaves, then acting as a bottleneck. Vulnerability segmentation predicts lower embolism resistance in leaves. Both mechanisms should theoretically favour runaway embolism in leaves at first, in order to preserve expensive organs such as the main branches or the trunk. Despite both mechanisms have been intensively investigated these past four decades, they have never been investigated together to test potential coordination.

2. We investigated across 21 tropical rainforest canopy tree species xylem resistance to embolism in stems (flow-centrifugation technique) and in leaves (optical visualisation method), to finally assess vulnerability segmentation across species. We used theoretical leaf-specific conductivity based on an anatomical approach to assess an index of hydraulic segmentation.

3. We found a pervasive hydraulic segmentation across species but with a strong variability in the degree of segmentation. There was a continuum in the degree of vulnerability segmentation, with ~2 thirds of the species with a positive vulnerability segmentation (leaf less resistant to embolism), and the others exhibited negative segmentation.

4. The degree of vulnerability segmentation was positively related to the degree of hydraulic segmentation, such that segmented species promote both mechanisms to hydraulically decouple leaf and stem. Future investigations should now assess the impact of hydraulic and vulnerability segmentation on plant drought resistance and survival.

Keywords: tropical trees, vulnerability segmentation, hydraulic segmentation, leaf-stem interface, drought-induced embolism resistance, leaf-specific conductivity, xylem anatomy.

INTRODUCTION

Global climate change leads to increasing frequency of extreme drought events in tropical rainforests (Hilker *et al.* 2014; Gloor *et al.* 2015; Duffy *et al.* 2015). Tropical rainforests host the highest biodiversity worldwide and play a disproportionate role in terrestrial ecosystem functions such as hydrological (Mu *et al.* 2011; Schlesinger and Jasechko 2014) and carbon cycles (Bonan 2008; Pan *et al.* 2011). Extreme drought events endanger these ecosystem functions, particularly by inducing tree mortality (Phillips *et al.* 2009; Allen *et al.* 2010; Zuleta *et al.* 2017; Aleixo *et al.* 2019), leading to large release of carbon, and altering species and functional community composition (Esquivel-Muelbert *et al.* 2019). Therefore, drought-induced tree mortality urge a better understanding of drought resistance of trees in order to predict the future of diversity and global carbon dynamics, and to have the tools to apply the appropriate policies. But understanding drought-induced tree mortality and drought resistance need the identification of thresholds and traits associated with drought resistance (McDowell *et al.* 2018; Choat *et al.* 2018).

Plant hydraulics, as a plant science discipline, helped to understand what is drought resistance and to identify drought-induced embolism as a key factor in desiccation and plant death. According to the cohesion-tension theory (Dixon and Joly 1895; Dixon 1914), water is transported under tension through the plant, from the soil to the atmosphere. The evaporation of water at the air-liquid interface close to stomata, drive transpiration to be the driving force allowing passive water movements from roots to leaves. However, as water under tension is in a metastable state, too strong tensions induced by a high evaporative demand, i.e. a hydric stress, can lead to the loss of cohesion between water molecules and the formation of air bubbles within conduits. The formation of bubbles is drought-induced embolism. Embolism within conduits impede water to flow, such that the accumulation of embolism leads to the loss of conductivity, the loss of transpiration and reduced CO₂ entry, and finally to desiccation (Brodribb and Cochard 2009; Urli *et al.* 2013; Blackman, Creek, *et al.* 2019). Therefore, there is strong selective pressures on plants to be embolism resistant, depending on the environmental water availability (McAdam and Cardoso 2018).

Drought resistance is usually defined, and defined in the context of this study, as the desiccation time between a hydric stress -generally triggering stomatal closure- and tree mortality (Blackman *et al.* 2016; Volaire 2018). According to this definition, drought resistance involves all the mechanisms allowing to delay critical occurrence of embolism in conduits. Therefore, desiccation time would be enhanced by low residual water losses (Blackman *et al.* 2016; Duursma *et al.* 2019), i.e. water losses that the plant cannot control, notably after stomatal

closure. The crown represents a large surface area exposed to the dry atmosphere, thus the amount of residual water losses per unit of time is proportional to the leaf crown area (Blackman *et al.* 2016). This is why leaf shedding is a drought resistance mechanism in some contexts, limiting the drop of the water potential of the main stem by concentrating residual water losses only to the stem bark (Wolfe *et al.* 2016).

The leaf “safety-valve” mechanism, as first proposed by Zimmermann (1983), predict that drought-related embolism events should be confined in expendables organs such as leaves, in favour of more expensive and perennial organs such as stems and trunk. In the same line of leaf shedding, embolism and drying out of leaves at first should limit the water demand upstream to these leaves, and finally decreases the effective evaporative crown surface area (Blackman, Li, *et al.* 2019), at the cost of carbon assimilation. Note that this safety-valve mechanism also holds true for root-stem interface, as small roots are generally more expendables than stems and trunks in term of carbon investments, and since that soil could sometimes be drier than the roots in case of a long drought period. Zimmermann (1983) described two hypothetical (at his time) ways leading to a safety-valve pattern. The first one is the hydraulic segmentation hypothesis, predicting a “hydraulic constriction” at the leaf-stem junction, and driving the leaves to be more hydraulically resistant (*sensu* the catenary and Ohm analogy). This differentiation of resistance should drive a larger steeper potential gradient at the leaf-stem interface, than along the stem for instance. Even if the water potential triggering a loss of conductance is similar between leaf and stem, always maintaining lower water potentials in leaves should favour xylem embolism in the xylem of the leaf veins prior to stem xylem.

Hydraulic segmentation patterns have been repeatedly demonstrated mainly in 80’s and 90’s, mainly based on leaf-specific conductivity measurements (Zimmermann 1978; Tyree *et al.* 1991; Tyree and Alexander 1993; Joyce and Steiner 1995; Nardini and Pitt 1999; Cruiziat *et al.* 2002; Eisner *et al.* 2002). However, there is no clear demonstration of a link between hydraulic segmentation, the appearance of embolism within leaf vein xylem at first, and the increase of desiccation time. Moreover, the hydraulic segmentation as a driver of a safety-valve pattern is challenged by recent clues, suggesting that stomatal closure occurs always before stem embolism (Martin-StPaul *et al.* 2017), and maybe before xylem embolism of leaf veins (Hochberg *et al.* 2017). Indeed, conductance is a direct inverse function of the pressure drop. Stomatal closure, by severely decreasing the leaf conductance, should drive a homogenisation of water potentials across a branch or even the tree, leading to the loss of the segmentation pattern.

The second hypothetical way leading to a safety-valve pattern is the vulnerability segmentation hypothesis. It predicts the differentiation of resistance to the drought-induced conductance loss between leaf and stem. With the development of new methods for measuring stem resistance to embolism, leaf vein resistance to embolism, and the loss of leaf conductance, the vulnerability segmentation hypothesis has gained a large interest since the 2000's, maybe in disfavour of the hydraulic segmentation hypothesis. The vulnerability segmentation is now rather a consensus than a hypothesis, since it has been repeatedly shown (Hao *et al.* 2008; Chen *et al.* 2009, 2010; Johnson *et al.* 2011; Bucci *et al.* 2012; Nolf *et al.* 2015; Johnson *et al.* 2016; Hochberg *et al.* 2016; Charrier *et al.* 2016; Scoffoni, Sack, *et al.* 2017; Rodriguez-Dominguez *et al.* 2018; Skelton *et al.* 2018; Losso *et al.* 2019). The leaf-stem segmentation degree varies across species, with various studies suggesting segmented species, unsegmented species, and even species negatively segmented (i.e. stem more vulnerable than leaves). A recent meta-analysis suggests that the degree of segmentation is correlated with biome aridity (Zhu *et al.* 2016), with higher segmentation degree found in dry regions. Therefore, a lack of vulnerability segmentation has been suggested for tropical rainforest trees, but this suggestion lacks a proper test. Moreover, more data on leaf-stem vulnerability are suitable, since we do not know yet how segmentation link with leaf longevity or leaf phenology (i.e. winter and drought deciduousness, evergreen, marcescent).

Most of studies investigating the vulnerability segmentation were based on measurements of the total leaf conductance, integrating both the xylem pathway and the outside-xylem pathway (Hao *et al.* 2008; Chen *et al.* 2009, 2010; Johnson *et al.* 2011; Bucci *et al.* 2012; Nolf *et al.* 2015; Johnson *et al.* 2016; Scoffoni, Sack, *et al.* 2017), whereas the stem is mainly made of a xylem pathway. On the one hand, the loss of leaf conductance with water stress does not tell anything on the level of embolism of the vein xylem. Scoffoni, Albuquerque, *et al.* (2017) even strongly suggested that the loss of total leaf conductance is driven by the loss of functionality of the outside-xylem pathway, suggesting a vulnerability segmentation pattern between leaf outside-xylem pathway and leaf xylem. Moreover, the loss of leaf conductance, driven by the outside-xylem compartment, can be reversible (John *et al.* 2018; Trueba *et al.* 2019). On the other hand, due to long-standing methodological issues, differences between leaf venation xylem and stem xylem in embolism resistance has just been recently investigated (Hochberg *et al.* 2016; Charrier *et al.* 2016; Skelton *et al.* 2017, 2018; Rodriguez-Dominguez *et al.* 2018; Klepsch *et al.* 2018).

The anatomical determinants of segmentations are poorly known. Regarding the hydraulic segmentation, the anatomy of the petiole-stem junction has been early described

(Isebrands and Larson 1977; Larson and Isebrands 1978; Zimmermann 1983; Zimmermann and Sperry 1983), with lower vessel diameter and length involved (Tyree and Ewers 1991). But we lack continuous anatomical quantifications along a hydraulic segmentation gradient. Regarding the vulnerability segmentation, investigating anatomical determinants is more challenging. The pit membrane thickness has been demonstrated to be a leading trait in stem xylem resistance to embolism (Lens *et al.* 2011; Li *et al.* 2016). However, investigating pit membrane features requires in-depth anatomical observations based on transmission electron microscopy, in addition to the quantification of embolism resistance in stem and leaves. Only one and recent study has investigated all these parameters to our knowledge (Klepsch *et al.* 2018). The authors did not find variation in pit membrane thickness for the only vulnerability-segmented species they found, among a total of three species.

Finally, even if hydraulic and vulnerability segmentations should theoretically lead to the same effect, i.e. a safety-valve pattern, these two types of segmentation have never been studied together dedicatedly. Regarding the coordination of the segmentations, several hypotheses can be made. (1) First, we could hypothesise that the different segmentations negatively trade-off if they are each other associated with costs and benefits. For instance, a high degree of hydraulic and vulnerability segmentations could both severely impeded gas-exchanges and carbon assimilation. For instance, vulnerability segmentation could be associated with reduced and thick pit membranes, thus increasing the hydraulic resistance. (2) Secondly, we could hypothesise that the safety-valve pattern is always under strong selection, which leads to a positive coordination between hydraulic and vulnerability segmentations to maximise the safety-valve effect. (3) Thirdly, the independence of segmentations could be hypothesised for at least two reasons. (a) Depending on the phylogenetic position and the various levels of canalisation (i.e. a strong genetic control limiting phenotypic variability, Waddington 1942) among anatomical traits, hydraulic segmentation could be easily selected and achieved rather than the vulnerability segmentation, or inversely. (b) The hydraulic segmentation could not be a proper way to achieve a safety-valve pattern as discussed above. Indeed, if stomatal closure always occurs before leaf vein embolism, this should lead to the homogenisation of water potentials across the plant, thus cancelling the hydraulic segmentation during a water stress.

Here, we aim to have an integrative approach combining anatomical and physiological measurements, to test for both hydraulic and vulnerability segmentations at the leaf-interface, their potential coordination, and their anatomical determinants. We took advantage of the Amazon rainforest to span a wide taxonomic range of species, phylogenetic diversity

(magnoliids, rosids, asterids) and functional diversity. For 21 species and 53 trees, we measured xylem embolism resistance in both leaf veins and stem wood to test vulnerability segmentation. The test for the hydraulic segmentation was based on an anatomical approach, by measuring both shoot- and individual leaf-specific theoretical conductivity. Finally, we measured vessel and intervacular pit properties for both stem and leaves to investigate the anatomical determinants of segmentations. We specifically addressed the following questions:

- Do tropical rainforest trees exhibit hydraulic and vulnerability segmentations at the leaf-stem interface?
- What are the anatomical determinants of both hydraulic and vulnerability segmentations?
- Are hydraulic and vulnerability segmentations coordinated across species?

MATERIALS AND METHODS

Study site and species

The experiment was conducted in French Guiana, at the Paracou experimental station (<https://paracou.cirad.fr/>; 5°16'26''N, 52°55'26''W), in a lowland tropical rainforest (Gourlet-Fleury *et al.* 2004). The warm and wet tropical climate of French Guiana is highly seasonal due to the north-south movement of the Inter-Tropical Convergence Zone. Annual rainfall is 3,041 mm year⁻¹ and annual mean air temperature is 25.7 °C. There is a dry season lasting from mid-August to mid-November, during which rainfall is < 100 mm month⁻¹.

Only canopy, dominant, adult trees were sampled. A total of 21 tree species and 53 trees were sampled, with 3 trees per species for 18 species. The species covered a large phylogenetic diversity, with the main clades of the flowering plants represented, i.e. magnoliids, rosids, and asterids (see the phylogenetic tree in Fig. S1).

Stem embolism resistance

The data relative to the diversity of stem embolism resistance have already been published and discussed by Ziegler *et al.* (2019), where the reader can find the precisely described method of embolism measurement with the centrifuge method (Cochard *et al.* 2013). The samples and data for stem embolism resistance are also exactly the same as Levionnois *et al.* (**Chapitre 5**). The field sampling procedure for the measurements of stem embolism resistance held between January and July 2017. Two-to-three-meters long canopy branches were sampled by professional tree climbers. Only sun-exposed branches were sampled as much as possible, in the limits of the security of the climbers.

Just after the cut, the branches were defoliated and wrapped in wet tissues. The same day in the laboratory, branches were recut under water to 1m50 length. Before to be conditioned for embolism resistance measurement, wood samples were taken in the distal extremity of the branches for wood anatomical studies. Wood samples were conserved in water and in a fridge at 6°C, to avoid wood and pit membrane shrinkage and deterioration (Jansen *et al.* 2018). Finally, branches were totally wrapped in wet paper towels, with extremities tied with gaffer tape. Vulnerability curves were measured with the flow-centrifugation technique, with the *Cavi1000* technology (DGMeca, BIOGECO lab, Gradignan, France)(Cochard *et al.* 2013). Branches were sent from Kourou to Bordeaux by priority transport, and arrived to Bordeaux under one week. There, branches were recut to 1m length under water, and debarked at both ends, before the flow-centrifugation measurement. $P_{12,stem}$, $P_{50,stem}$, and $P_{88,stem}$ (MPa) were extracted from vulnerability curves, such that $P_{x,stem}$ corresponds to the water potential for which x % of the maximum conductance is lost.

Since the rotor was 1m-diameter, we controlled for the vessel length, since branches with open-vessels are prone to artefacts (Cochard *et al.* 2013; Torres-Ruiz *et al.* 2017). Details are presented by Ziegler *et al.* (2019).

Leaf embolism resistance

The field sampling procedure for measurements of leaf embolism resistance held between November 2018 and March 2019. We generally sampled 3 trees per sampling day, during the morning and before solar midday, in order to avoid too low leaf water potentials and native leaf embolism. Trees climbed for the measurements of stem embolism resistance were climbed once again for the measurements of leaf embolism resistance. Only sun-exposed branches were sampled as much as possible. Only one one-meter long canopy branch was sampled per tree, with ~50 leaves or leaflets for the monitoring of water potentials as described below. Once arrived on the ground, the proximal stem of the branch was recut under water to avoid artefactual embolism. This recut stem extremity was then placed in a 5-liters water-filled plastic bottle, and all the leaves were packed in a black plastic bag. This system should allow the branch to do not dehydrate, and the water potential to homogenise all across the branch (Brodribb, Skelton, *et al.* 2016). Bagged branches were brought back to the laboratory after the field work, and let to rehydrate during the night.

In order to measure the embolism resistance of leaf xylem, we relied on the optical light transmission method (Brodribb, Skelton, *et al.* 2016; Brodribb, Bienaimé, *et al.* 2016). Embolism is detected and quantified by monitoring, along the sample desiccation, changes in

light transmission through the xylem, since a water-filled and an air-filled (i.e. embolised) conduit does not exhibit the same transmittance. A high spatial resolution was provided by a 6,400 dpi-imaging scanner (Epson perfection V800; Epson America). The sampled branch was removed from water and from the plastic bag. A fully developed and undamaged leaf was tapped with a gaffer tap on the scanner to avoid movements with dehydration-induced shrinkage. The tap was placed on the leaf margins in order to let apparent the veins to be monitored, as also to do not block leaf transpiration. The leaf was imaged every 4 min while drying until all the leaves of the branch were dried. The scanning process, with an image every 4 min, was automatized with a custom computer program. The leaf was illuminated from the abaxial face side, and scanned on the adaxial face side, to create an image of transmitted light. The scanned image was a crop of 15 x 30 mm (otherwise the memory mass storage per image is too high), encompassing all the vein orders including the midrib. Before placing and tapping a leaf on the scanner, one leaf next to the leaf selected for the scanner was sampled for midrib anatomy. Midrib samples were conserved in water and in a fridge at 6°C, to avoid pit membrane shrinkage and deterioration (Jansen *et al.* 2018).

Identification and quantification of embolism events were carried out using a custom ImageJ macro. All the macros required for image analyses, as also the detailed description of all steps for image analyses, are freely provided by C. Lucani and T. Broddribb (Univ. of Tasmania) on www.opensourceov.org. Briefly, image subtraction between successive images in the stack was run, highlighting changes in light transmission between two images captures in case of an embolism event occurring during the 4 min time window. The spatial spread of embolism was proportional to the number of “embolised pixels”. Artefacts caused by slow movements induced by leaf shrinkage were filtered. For N raw images, we get $N-1$ “subtraction-result” images. These “subtraction-result” images containing embolism were kept and a threshold was applied to highlight the embolism events, and the remaining noise was cleaned. The number of pixels per “subtraction-result” image was quantified with the ImageJ ‘analyse particle’ function. Knowing the date and the time of capture of each image, we knew the cumulated number of “embolised pixels” according to time. In order to get vulnerability curves, time was converted in water potential by monitoring the branch water potential along the sample desiccation and imaging process.

Leaf water potentials was monitored with a Scholander pressure chamber (Model 600, PMS, USA). Leaf water potential was measured every 1 to 3 hours, depending on the loss rate of water potential. We used three leaves per measurement, with the leaves sampled at different positions within the branch sample. Imaging process and water potential monitoring started

together, at 08:00 am, following the field sampling day after one night of rehydration. The first water potential measurement was then done just after a leaf was placed and tapped on the scanner. In this way, we generally had 5-6 water potential measurements per day. For every species, the first measured water potential was above -0.5 MPa, confirming that the branch rehydration with plastic bags was effective. The drop of water potential between the first and the second measurement was generally high, but the drop per unit of time rapidly stabilised and remain constant after, indicating stomatal closure, and a drop of water potential only driven by the leaf minimum conductance (Brodribb, Skelton, *et al.* 2016; Brodribb, Bienaimé, *et al.* 2016). After stomatal closure, the ‘leaf water potential-vs-time’ curve followed a highly linear phase, allowing to estimate water potential during the night, when measurements was not feasible. Knowing the ‘cumulated embolism-vs-time’ curve and the ‘leaf water potential-vs-time’ curve, it was possible to plot the ‘cumulated embolism-vs-water potential’ curve, known as vulnerability curves.

For exudate species, we cannot easily measure leaf water potential with the pressure chamber. For these species, water potential was monitored with a psychrometer (ICT International, Armidale, NSW, Australia) attached on the stem, providing a continuous measure of water potential. We assumed equilibrated water potentials between leaf and stem because samples spent a night in a plastic bag, and because of closed stomata during most of the time of the branch desiccation (Rodriguez-Dominguez *et al.* 2018). During October 2017, we repeated validations for tree species around the laboratory with no exudate, using both methods the pressure chamber and the psychrometer. We defined the method for the measurement of leaf embolism resistance as described above when reaching errors < 0.3 MPa between the two methods.

Embolism was expressed as the percentage of the total “embolised pixels” across images. Vulnerability curves were expressed as the percentage of “embolised pixels” according to the water potential. $P_{12,leaf}$, $P_{50,leaf}$, and $P_{88,leaf}$ (MPa) were extracted from vulnerability curves, such that $P_{x,leaf}$ corresponds to the water potential for which x % of the maximum number of “embolised pixels” is reached. For half of species, because of too thick and too lignified midrib, light cannot be transmitted. It was not possible to detect embolism formation for midribs. Therefore, our vulnerability curves were based on embolism events occurring only in all vein orders different from the midrib.

Vulnerability segmentation: assessment and anatomical determinants

The vulnerability segmentation index was assessed as the difference between $P_{50,stem}$ and $P_{50,leaf}$ as : $P_{50,leaf} - P_{50,stem}$. Larger is the positive difference between $P_{50,leaf}$ and $P_{50,stem}$, larger is the segmentation degree according to the definition of Tyree and Zimmermann (2002). The two measures of embolism resistance for leaf and stem respectively were assessed from different methods: one was based on hydraulic measurements and one was based on optical measurements. The validity of our $P_{50,stem}$ measurements has been discussed by Ziegler *et al.* (2019). The main discrepancy could come from the fact that $P_{50,leaf}$ based on optical measurements would not fit $P_{50,leaf}$ based on hydraulic measurements. However Brodribb, Skelton, *et al.* (2016) found a strong linear relationship between a hydraulic $P_{50,leaf}$ and an optical $P_{50,leaf}$. Brodribb *et al.* (2017) also found a strong linear relationship for stem measurements, between a hydraulic $P_{50,stem}$ based on the flow-centrifugation technique and an optical $P_{50,stem}$. These results corroborate the fact that cumulated “embolised pixels” are directly linked to the cumulated loss of conductivity. Moreover, all our vulnerability curves were s-shaped, indicating that most of the embolism events occurred abruptly, in a small range of water potential, and indicating that most of the loss conductivity should also occur within this water potential range.

During the field work, we sampled (i) wood samples at the extremity of branch used for the Cavi1000 measurement, and (ii) midrib samples on leaves next to the leaf used for the optical method. Midrib samples were cut in the axial middle part of the leaf. Midrib vessel size measurements were conducted on shoot samples related to the hydraulic segmentation quantification, for which the process is described below. Wood samples were used to measure the mean vessel area (μm^2) based on episcopic microscopy, and mean pit membrane thickness (T_{pm} ; nm) based on transmission electron microscopy (TEM). For the episcopic method, wood samples (~2 cm length and ~1 cm diameter) were sanded and completely refreshed with a razor blade on one of the cross-sections. The episcopic method allowed to cover complete radii in order to capture radial-related variations in vessel features. For each sample, we covered two opposite radii, by avoiding zone of tension wood when it was present. Images of each cross-section were digitised with an optical microscope (Olympus BX60; Olympus Corporation; Tokyo; Japan) with x50 magnification, a UV-light cube (Olympus U-MNU2) for contrasting lignified cell walls from cell lumen, and a Canon camera EOS 500D (lens Olympus U-TVI-X ; F 0.0; ISO 100; speed 1/25). Pictures were assembled in a panorama using Kolor AutoPanoGiga software (v.3.0.0, <http://kolor.com/autopano/>) to obtain a complete picture of the cross-section radii. The mean vessel area was measured based on all vessels within the two

opposite radii. The samples and the data were exactly the same as Levionnois *et al.* (**Chapitre 5**), where the method was detailed with illustrations.

Because of the number of species and the heaviness of the technique, one sample per species was measured with TEM for both leaf and stem samples. TEM techniques on samples were applied at the Electron Microscopy Centre of Ulm University according to a standard preparation protocol (Li *et al.* 2016; Zhang *et al.* 2017). The samples and data for wood stem pit membrane thickness are exactly the same as Levionnois *et al.* (**Chapitre 5**). The method for the preparation of stem TEM samples is precisely described in Levionnois *et al.* (**Chapitre 5**), and was applied exactly in the same way for midrib samples. Observations were conducted with a JEOL 1400 TEM (JEOL, Tokyo, Japan) at 120 kV accelerating voltage, and TEM images were taken with a digital camera (Soft Imaging System, Münster, Germany). Nearly 15-20 pits were measured per sample type (midrib or stem wood) and per tree, using 1-3 cuts per sample. Wood samples were sent from Kourou to Ulm in May 2018, nearly one year after the sampling procedure for most samples. Therefore, wood samples were kept for a long time before cut preparation and measurements, contrary to other studies (Lens *et al.* 2011; Scholz *et al.* 2013; Li *et al.* 2016). This point makes pit membrane prone to potential shrinkage because of the long duration of storage, leading to potential underestimation of T_{pm} . However, the results discussed by Levionnois *et al.* (**Chapitre 5**) suggested that there was not such bias. Midrib samples were sent from Kourou to Ulm by two shipping, with two weeks to one month between the sampling and sample preparation in Ulm.

Hydraulic segmentation: assessment and anatomical determinants

The hydraulic segmentation was assessed only based on anatomical measurements, allowing for the calculation of theoretical hydraulic conductivities based on the Hagen-Poiseuille law (Tyree and Zimmermann 2002). The hydraulic segmentation was assessed for every tree at the shoot level. In the context of our study, a shoot was defined as a single unbranched stem supporting the longest succession of intact leaves, with no missing leaves at nodes between the youngest leaf and the oldest leaf (Fig. 1). Hydraulic segmentation was assessed as the difference between the leaf-specific conductivity (LSC) at the shoot level (LSC_{shoot}) and the LSC at the leaf level (LSC_{leaf}), following that:

$$E = F/A_L \text{ and: } LSC = K_{th}/A_L$$

Thus:

$$F/K_{th} = E/LSC \text{ and: } K_{th} = dP/dx,$$

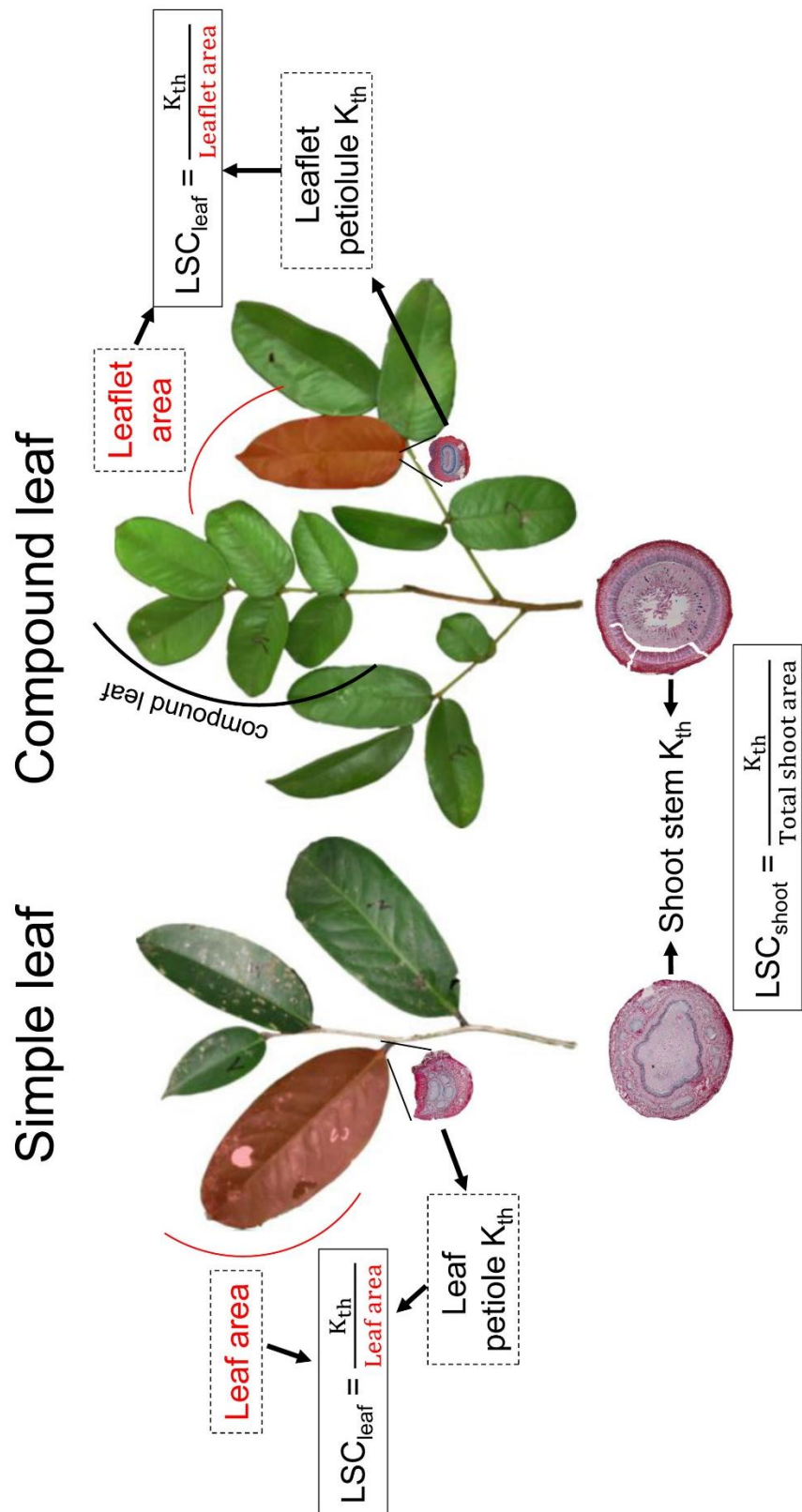


Fig. 1. Schematic representation of the sampling procedure for assessing the hydraulic segmentation index. For simple-leaved species (leaf part), LSC_{leaf} is the hydraulic theoretical conductivity of the petiole divided by the area of the entire supplied simple leaf (in red, on the right part). For compound-leaved species (right part), LSC_{leaf} is the hydraulic theoretical conductivity of the petiolule divided by the area of supplied leaflet (in red, on the right part). In both cases, LSC_{shoot} is the hydraulic theoretical conductivity at the base of the shoot divided by all the shoot leaf area. In both cases (simple leaf and compound leaf), the hydraulic segmentation index is assessed as the difference between LSC_{shoot} and LSC_{leaf} .

where LSC is the leaf-specific conductivity ($\text{kg m}^{-1} \text{MPa}^{-1} \text{s}^{-1}$), E is the evapotranspiration (kg), F is the water flux (kg s^{-1}), A_L is the downstream leaf area (m^2), K_{th} is the hydraulic conductivity ($\text{kg m MPa}^{-1} \text{s}^{-1}$), and dP/dx is the pressure gradient (MPa m^{-1}) (Tyree and Ewers 1991). Thus, LSC is inversely proportional to the pressure drop between the base of the considered organ and the site of transpiration. Finally, the difference between LSC_{shoot} and LSC_{leaf} (i.e. the hydraulic segmentation index; $LSC_{shoot} - LSC_{leaf}$) is the theoretical pressure drop between the shoot and the leaf, or the segmentation degree. We had seven compound-leaved species in our dataset. For compound leaves, we considered the leaflet as functionally equivalent to the leaf of a simple-leaved species (Fig. 1). Thus, LSC_{leaf} for compound-leaved species was a leaflet LSC to be rigorous.

During the fieldwork for the measurement of stem embolism resistance, we sampled leafy shoots on the branch used for the *Cavi1000* measurement. At the laboratory, we selected the most appropriate shoot, as vigorous, with undamaged leaves, with no inflorescence or infrutescence, and with the longest succession of leaves for the given species. We cut all leaves and measured their total area with a scanner and ImageJ. We measured the length of the shoot stem with a ruler. We sampled for anatomy a 1-cm-long stem section of the shoot stem at the very base of the shoot. We sampled for anatomy the petiole of a leaf situated in the middle part of the shoot, and we measured the length of this leaf with a ruler. On the same leaf or leaflet used for the petiole/petiolule anatomy. Petioles and petiolules were sampled at the leaf and leaflet bases respectively. We also sampled the midrib in the axial middle part of the leaf/leaflet. For compound-leaved species, we sampled for anatomy the petiolule of a leaflet situated at the middle part of the leaf, for a leaf situated at the middle part of the shoot. We then measured the length of this leaflet, plus the rachis path length between the sampled leaflet and the leaf petiole.

For each individual tree we had one shoot. For each shoot we had for the anatomy: (i) a stem sample from the base of the shoot, (ii) a petiole sample (or a petiolule sample for compound leaves), (iii) and a midrib sample for relating vessel size with $P_{50,leaf}$. From these samples, we made 8- μm -thickness anatomical cuts, by paying attention to have a complete section of the xylem. Samples were embedded in paraffin and the cuts were realised with a rotary microtome (Microm, HM 355 S). Anatomical sections were coloured with a FASGA staining. Images of each cross-section were digitised with an optical microscope (Olympus BX60; Olympus Corporation; Tokyo; Japan) with x1000 magnification and a Canon camera EOS 500D (lens Olympus U-TVI-X ; F 0.0; ISO 100; speed 1/25). We measured the number of vessels, the cross-sectional area of each vessels, and xylem area with a light microscope and ImageJ. Knowing the number of vessels and their dimension, we calculated the theoretical

hydraulic conductivity (K_{th}) of the stem at the base of the shoot, and of the petiole or petiolule. Stem and petiole K_{th} served to finally calculate LSC_{shoot} and LSC_{leaf} respectively as K_{th} divided by the shoot leaf area and individual leaf area (or leaflet area for compound leaves) respectively. We tested these following traits as potential anatomical determinants of the hydraulic segmentation: xylem area (mm^2), the number of vessels, the cumulated cross-sectional vessel area (μm^2), and the hydraulic mean diameter (D_h ; μm). D_h was measured as: $D_h = (\sum(D^4/N))^{1/4}$, where D is the vessel diameter for each vessel and N the total number of vessels.

As the vessel diameter increases axially, basipetally, and predictably from leaf tip to the trunk base to mitigate the hydrodynamic resistance with the hydraulic path length (West *et al.* 1999; Olson *et al.* 2014; Lechthaler *et al.* 2018; **Chapitre 3**), we standardised for this path length effect on vessels size by dividing LSC_{shoot} and LSC_{leaf} by the stem length between the apex and the base of the shoot, and leaf length respectively. This standardisation was also applied to xylem area, the number of vessels, the cumulated cross-sectional vessel area, and the hydraulic mean diameter.

Statistical analyses

All statistical analyses were performed with the R software (<http://CRAN-R-project.org>). No phylogenetic signal was detected for investigated traits based on phylogenetic contrast analyses. Therefore, no phylogenetic impact was taken into account in our analyses. Phylogenetic analyses were carried out with the *ape* (Paradis and Schliep 2019) and the *phylosignal* (Keck *et al.* 2016) packages. For the trait-by-trait analysis, we used SMA (Standardised Major Axis regression; Warton *et al.* 2006), which allows measurement of the error on both x -axis and y -axis (Harvey and Pagel 1991), with the R package SMATR (Falster *et al.* 2006). We analysed the average per species, except for the anatomical determinants of the hydraulic segmentation since all features were measured on the same structure, i.e. the shoot. We used comparison tests to compare all traits between the shoot or stem and the leaf across all species. Comparison tests were conducted with Student's, Welch's, or Mann-Whitney-Wilcoxon's test, depending on the parameters of the samples (effectives, normality of distribution, variance).

RESULTS

Hydraulic and vulnerability segmentations

The LSC of leaves is on average lower than the LSC of the shoots (Fig. 2a; $P < 0.001$). LSC_{leaf} was positively related to LSC_{shoot} (Fig. 2b; $P < 0.001$; $R^2 = 0.431$), with a slope significantly

lower than 1 ($P < 0.001$). One species (*Chaetocarpus schumburgkianus*) was highly outlying from this trend with the highest LSC_{leaf} . $P_{50,leaf}$ was on average not significantly different from $P_{50,stem}$ across all species (Fig 3a; $P > 0.05$). However, $P_{88,leaf}$ was significantly different from $P_{88,stem}$ across all species (Table 1; $P < 0.05$). $P_{50,leaf}$ was positively related to $P_{50,stem}$ (Fig. 3b; $P < 0.01$), with a slope significantly lower than 1 ($P < 0.001$). However, there are points on both sides of the 1:1 line indicating species with positive ($P_{50,leaf} > P_{50,stem}$) or negative ($P_{50,leaf} < P_{50,stem}$) vulnerability segmentation. One species (*Iryanthera sagotiana*), was outlying from this trend with the highest $P_{50,leaf}$. Hydraulic LSC segmentation was weakly and positively related to vulnerability P_{50} segmentation (Fig. 4; $P < 0.05$; $R^2 = 0.190$). Hydraulic LSC segmentation was also weakly and positively related to vulnerability P_{88} segmentation (Table 2; $P < 0.05$; $R^2 = 0.170$), but not to P_{12} segmentation ($P > 0.05$).

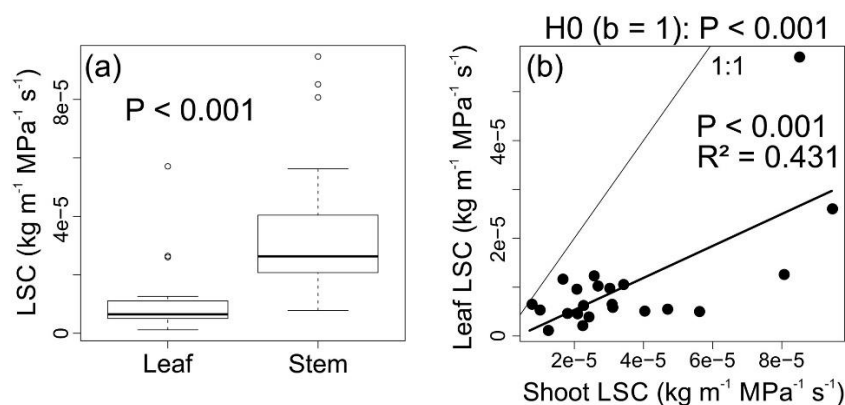


Fig. 2. Hydraulic segmentation. (a) Comparison between LSC_{leaf} and LSC_{shoot} across all species. (b) LSC_{leaf} according to LSC_{shoot} in comparison to the 1:1 line. $H_0 (b=1)$ is the null hypothesis for the slope being not different from 1. LSC: leaf-specific conductivity ($kg\ m^{-1}\ MPa^{-1}\ s^{-1}$).

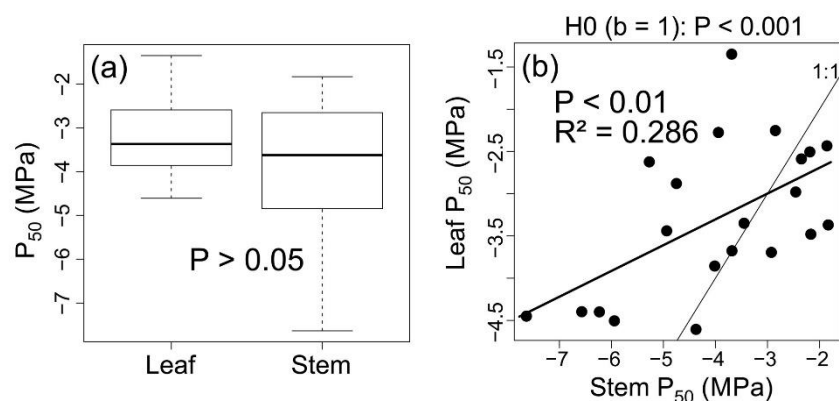


Fig. 3. Vulnerability segmentation. (a) Comparison between $P_{50,leaf}$ and $P_{50,stem}$ across all species. (b) $P_{50,leaf}$ according to $P_{50,stem}$ in comparison to the 1:1 line. $H_0 (b=1)$ is the null hypothesis for the slope being not different from 1. P_{50} : water potential inducing 50 % loss of conductance (MPa).

Table 1. Comparison the leaf-level and the shoot-or-stem-level for each couple of measured traits.

	Leaf	Stem/Shoot	P
LSC			< 0.001
P ₁₂ (MPa)	-2.69	-2.76	0.796
P ₅₀ (MPa)	-3.29	-3.87	0.132
P ₈₈ (MPa)	-3.90	-4.98	0.030
Xylem area per leaf area			< 0.001
Cumulated vessel area per leaf area			0.006
Number of vessel per leaf area			0.190
Vessel hydraulic diameter			< 0.001
Pit membrane thickness (nm)	260.3	388.6	< 0.001
Mean vessel area (μm ²)	200.4	2879.3	< 0.001

Bold p-values represent significant differences ($P < 0.05$). The mean is shown for untransformed traits.

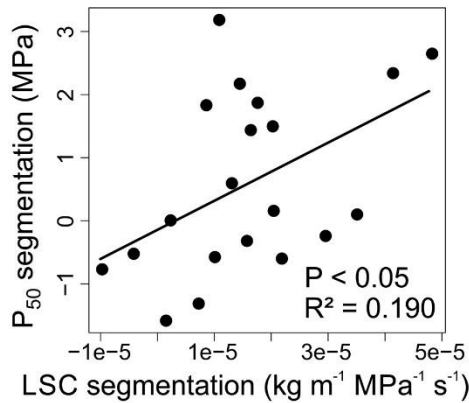


Fig. 4. P₅₀ segmentation degree according to LSC segmentation degree. LSC: leaf-specific conductivity (kg m⁻¹ MPa⁻¹ s⁻¹). P₅₀: water potential inducing 50 % loss of conductance (MPa).

Table 2. Relationships between vulnerability segmentation (indexes in column) and hydraulic segmentation and leaf-stem variation in anatomy (indexes in lines)

	ΔP ₁₂		ΔP ₅₀		ΔP ₈₈	
	P-value	R ²	P-value	R ²	P-value	R ²
ΔLSC	0.247	0.022	0.036	0.190	0.040	0.170
ΔPit membrane thickness	0.850	0.000	0.785	0.000	0.605	0.000
ΔMean vessel area	0.199	0.039	0.219	0.032	0.204	0.037

Bold values represent significant relationships ($P < 0.05$).

Anatomical determinants

Hydraulic LSC segmentation was positively related to the difference in xylem area per leaf area between leaves and shoots (Fig. 5a; $P < 0.05$; $R^2 = 0.094$), however this relationship exhibited a large dispersion with some shoots outlying from this trend with both very high or very low

(even negative) hydraulic LSC segmentation index. Hydraulic LSC segmentation was positively related to the difference in cumulated vessel area per leaf area between leaves and shoots (Fig. 5b; $P < 0.001$; $R^2 = 0.294$). Few shoots were outlying from this trend with very high hydraulic LSC segmentation index. Hydraulic LSC segmentation was not related to the difference in the number of vessels per leaf area between leaves and shoots (Fig. 5c; $P > 0.05$). Hydraulic LSC segmentation was positively related to the difference in vessel hydraulic mean diameter between leaves and shoots (Fig. 5d; $P < 0.001$; $R^2 = 0.611$). Two shoots were outlying from this trend with very high hydraulic LSC segmentation index. Xylem area per leaf area, the cumulated vessel area per leaf area, and the number of vessels per leaf area were significantly different between leaves and shoots across all species (Table 1; $P < 0.001$). The vessel hydraulic mean diameter was significantly different between leaves and shoots across all species (Table 1; $P < 0.001$).

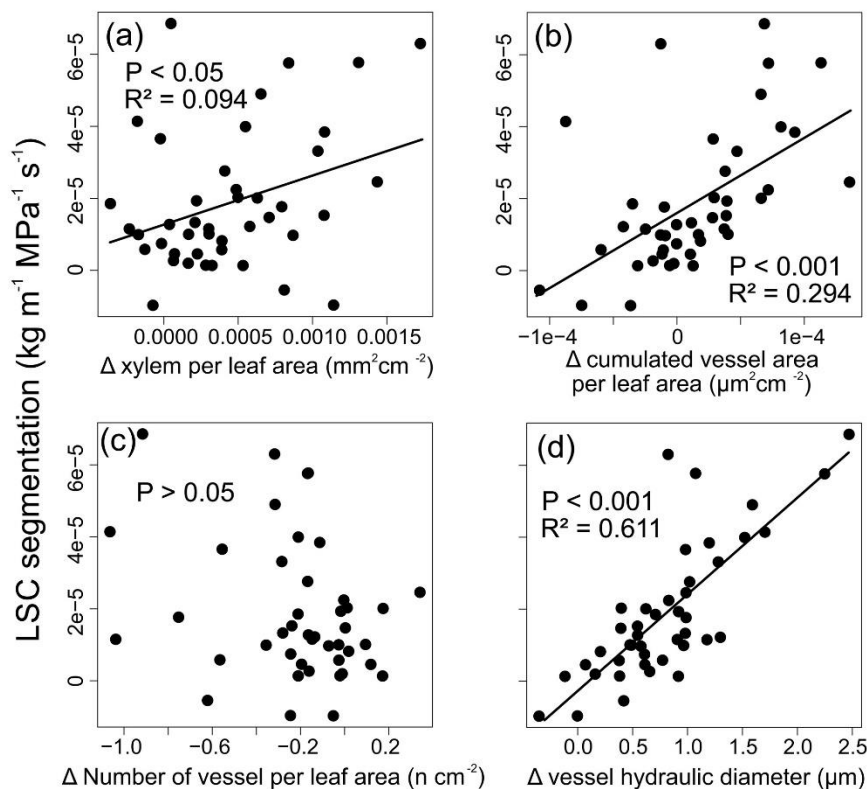


Fig. 5. Anatomical determinants of the hydraulic LSC segmentation. (a) LSC segmentation degree according to the shoot-to-leaf difference in xylem area per leaf area. (b) LSC segmentation degree according to the shoot-to-leaf difference in cumulated vessel area per leaf area. (c) LSC segmentation degree according to the shoot-to-leaf difference in the number of vessels per leaf area. (d) LSC segmentation degree according to the shoot-to-leaf difference in vessel hydraulic diameter. LSC: leaf-specific conductivity ($\text{kg m}^{-1} \text{MPa}^{-1} \text{s}^{-1}$).

Vulnerability P_{50} segmentation was not related to the difference in pit membrane thickness between leaves and stems (Fig. 6a; $P > 0.05$). Vulnerability P_{50} segmentation was not related to the difference in mean vessel area between leaves and stems (Fig. 6b; $P > 0.05$). For

all species, the thickness of the pit membrane was on average significantly less in the xylem of the leaf veins than in that of the stems (Fig. 7; $P < 0.001$). The mean vessel area was on average significantly less in the xylem of the leaf veins than in that of the stems (Table 1; $P < 0.001$).

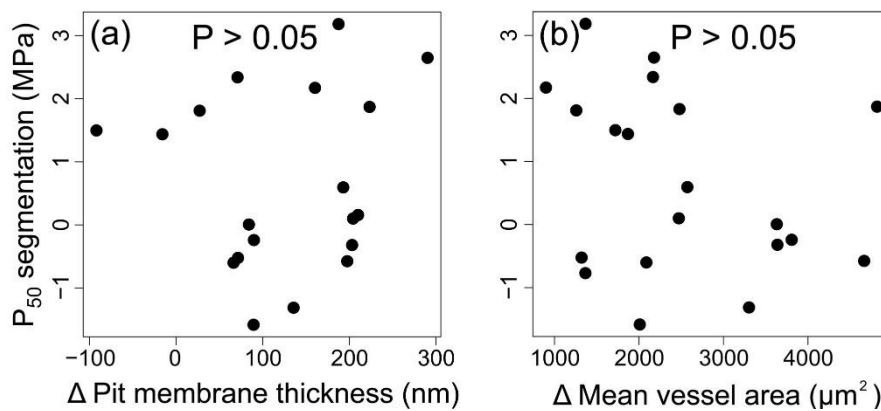


Fig. 6. Anatomical determinants of the vulnerability P_{50} segmentation. (a) P_{50} segmentation degree according to the stem-to-leaf difference in mean pit membrane thickness. (b) P_{50} segmentation degree according to the stem-to-leaf difference in mean vessel area. P_{50} : water potential inducing 50 % loss of conductance (MPa).

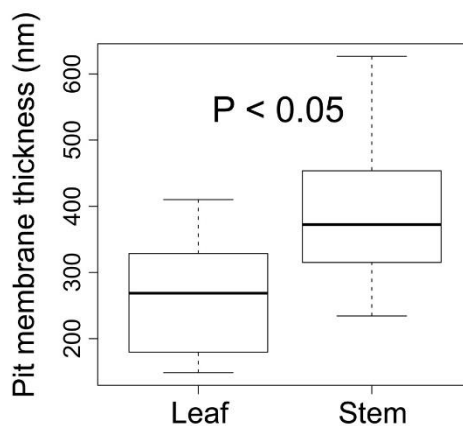


Fig. 7. Comparison in mean pit membrane thickness between leaves and stems across all species.

DISCUSSION

Leaf-stem hydraulic segmentation

We found that most species were positively hydraulically segmented based on our theoretical-LSC-based approach, displaying a 4-fold variation. This suggests that hydraulic segmentation can be considered as a trait in its own right, since we found a continuum with a strong variation across species. These results are consistent with preliminary studies following the hypothesis of Zimmermann (1983) on hydraulic segmentation (Zimmermann 1978; Tyree *et al.* 1991; Tyree and Alexander 1993; Joyce and Steiner 1995; Nardini and Pitt 1999; Cruziat *et al.* 2002; Eisner *et al.* 2002). Most of these studies are based on hydraulic flow measurements. They take into account all the resistances (vessel wall between vessels and pits, perforations, path length), and are therefore less prone to biases than our theoretical-LSC-based approach. For instance,

two species exhibited negative segmentation in our study, i.e. stem more hydraulically resistant than leaves. However, this finding of negative segmentation seems really idiosyncratic, or even incorrect based on two facts. First, theoretically a negative segmentation seems unfeasible. That would mean that a plant has invested carbon in a structure that is hardly functional, with water hardly reaching leaves. Second, our hydraulic LSC segmentations were based on an average per species, and the species exhibiting negative segmentation integrated at least one shoot with a positive segmentation. This seems to link with some limitations of the theoretical-LSC-based approach. However, our study provide strong suggestions on the fact that the hydraulic segmentation degree can be considered as a trait with in its own right, with a strong variation significance. Our results motivate more investigations on the drivers and effects of hydraulic segmentation across species, but based on hydraulic measurements such as (i) *in situ* comparison of water potentials between leaves and stems, or (ii) comparison of flow measurements of leaf-specific conductance between leaf- and shoot-levels.

Recent findings challenge hydraulic segmentation as a mechanism for determining a safety-valve pattern. Martin-StPaul *et al.* (2017) recently demonstrated that stomatal closure occurs before stem embolism. Stomatal closure may also occur even before leaf xylem embolism, as demonstrated by Hochberg *et al.* (2017) for vines, but data are still lacking on this point (Bartlett *et al.* 2016; Scoffoni, Sack, *et al.* 2017). Stomatal closure should theoretically lead to equilibration, i.e. homogenisation of water potential across a branch or a plant, cancelling any hydraulic segmentation pattern. However, during midday or a hydric stress, residual water losses are never null, even if stomata are closed, due to leaky stomata and leaf cuticular conductance (Duursma *et al.* 2019). Moreover, high temperatures can potentially induce a cuticle transition phase, increasing the cuticle permeability, finally driving excessive residual water losses (Cochard 2019). Therefore, substantial leaf conductance driven by residual water losses can still be associated with drop in water potentials between leaf and stem, and lead hydraulic segmentation to be a substantial drought resistance mechanism.

The difference between shoot and leaf levels in xylem area per supplied leaf area was a significant but weak determinant. Indeed, higher xylem area allows for more space, dedicated to more vessels and/or large vessels. However our results do not support the number of vessels as a driver of hydraulic segmentation, since the number of vessels per leaf area was the same between shoot and leaf levels. The difference in the cumulated vessel area per leaf area played a significant role. This is in agreement with the vessel hydraulic mean diameter, for which the difference between shoot and leaf levels was strongly correlated with the hydraulic segmentation. These results suggest that vessel size variation at the leaf-stem junction is the

primary factor driving hydraulic segmentation. This is in agreement with a studies demonstrating that vessel size is one of the main driver of hydraulic resistance (Sperry *et al.* 2006, 2008).

Associated to vessel size, vessel length should also drive hydraulic segmentation (Tyree and Ewers 1991), since vessel length determine the number of vessels walls that has to be crossed through pits. Indeed, pits are considered as a major component of the total plant hydraulic resistance (Wheeler *et al.* 2005; Hacke *et al.* 2006; Sperry *et al.* 2006). This reference to vessel length is associated to the number of pits a given molecule of water has to cross. But pit quality, such as pit membrane size (Hacke *et al.* 2006; Sperry *et al.* 2006), could play a role in hydraulic segmentation if pit characteristics differ between stem and leaves. Here again, only assessments of hydraulic segmentation based on flow-measurements or water potentials would allow to test if pit characteristics are anatomical determinants of hydraulic segmentation.

Leaf-stem vulnerability segmentation

We found that 11 species on 21 displayed a positive vulnerability segmentation superior to 0.25 MPa (i.e. the xylem of the leaf veins being more vulnerable than that of the stems). Our study at least demonstrated that vulnerability segmentation does exist for some species in tropical rainforests contrary to past suggestions (Zhu *et al.* 2016), encompassing a very large maximum degree of 2 to 3 MPa. This segmentation degree is as large as *Eucalyptus* species, known as drought-affiliated species, studied by Blackman, Li, *et al.* (2019), with $P_{50,leaf}$ measurements also based on the optical visualisation technique. The existence of vulnerability segmentation in our study is strengthened by the difference in pit membrane thickness across studied species. Indeed, the pit membrane thickness is acknowledged as a key trait driving drought-related embolism resistance (Lens *et al.* 2011; Scholz *et al.* 2013; Li *et al.* 2016). Our results confirmed that some species can exhibit vulnerability segmentation, whereas others are not. This is in agreement with past studies showing species positively segmented (Hao *et al.* 2008; Chen *et al.* 2009; Johnson *et al.* 2011, 2016; Bucci *et al.* 2012; Nolf *et al.* 2015; Hochberg *et al.* 2016; Charrier *et al.* 2016; Rodriguez-Dominguez *et al.* 2018; Skelton *et al.* 2018; Losso *et al.* 2019), negatively segmented (Klepsch *et al.* 2018), or unsegmented (Chen *et al.* 2009; Nolf *et al.* 2015; Skelton *et al.* 2017, 2018; Klepsch *et al.* 2018; Losso *et al.* 2019). Moreover, our study covered the strongest variation in vulnerability segmentation in one experiment, with a range of 4 MPa (between -1 and 3 MPa). This finding suggests that vulnerability segmentation can be considered as a trait in its own right, with a continuum across species, and with a strong variation across species even at the community-level.

The case of negatively segmented species is of interest. For these species, our results suggested that the leaf vein xylem is more resistant to embolism than stem xylem. This theoretically means that when leaves incur hydraulic failure, all the upstream system, integrating stems and trunk xylem, become highly prone to embolism propagation. Therefore, these species seem to operate at a high risk. In our study, these species generally displayed low hydraulic segmentation degree. But the negative vulnerability segmentation is generally due to high leaf xylem resistance to embolism with a mean of -3.79 MPa, which is not far from the mean community $P_{50,stem}$ of -3.93 MPa (Ziegler *et al.*, 2019). It can be hypothesised that these species rely on other drought resistance mechanisms such as low leaf cuticular conductance and control of stomatal leakiness. For instance, Johnson *et al.* (2016) have found a negative trade-off between the vulnerability segmentation degree and the leaf safety margin (i.e. the difference between the minimum leaf water potential and the water potential at 50% loss of leaf conductance) across 6 species.

Recently, Blackman, Li, *et al.* (2019) demonstrated across eight *Eucalyptus* species that the vulnerability segmentation degree was strongly and linearly related to the time to plant desiccation in a control experiment. The results of Blackman, Li, *et al.* (2019) suggest that vulnerability segmentation has a functional significance as a drought resistance mechanism. Moreover, several facts support the importance of vulnerability segmentation for drought resistance, understood as the maximisation of desiccation time. Firstly, embolism should theoretically impede leaf water supply since the vessel can be considered as clogged (Hochberg *et al.* 2016), diminishing the cuticular conductance, residual water losses and the drop of the plant water potential. Secondly, some studies support that vulnerability segmentation could be associated with leaf shedding (Tyree *et al.* 1993; Hochberg *et al.* 2017), and that leaf shedding can help at strongly limiting the drop of water potential within the plant (Wolfe *et al.* 2016). Future directions should address the functional value of segmentation, by directly quantifying branch and plant desiccation time along a gradient of vulnerability segmentation.

However, regarding the potential relationship between vulnerability segmentation and deciduousness (Tyree *et al.* 1993; Hochberg *et al.* 2017), there is no evidence that deciduousness is associated with the onset of the dry season for Guianese rainforest trees (Loubry 1994a; b), and thus that deciduousness would be a drought resistance mechanism in this context. But drought-related deciduousness was demonstrated for tropical dry forests (Wolfe *et al.* 2016). Leaves could also represent large carbon investment, especially for leaves with high leaf lifespan (Wright *et al.* 2004; Reich 2014). This raises the question of the relevance of vulnerability segmentation for species with high leaf lifespan, and more largely of how

vulnerability is related to the leaf economics spectrum (Wright *et al.* 2004). These specific questions also deserved further investigations.

We did not find anatomical drivers of vulnerability segmentation, since the difference between stem and leaf in pit membrane thickness and mean vessel area were not related to our vulnerability segmentation index (Fig. 5). This is not in agreement with a recent study (**Chapitre 5**), showing for exactly the same species and individuals that stem pit membrane thickness and mean vessel area can predict stem resistance to embolism. However, the predictive power of anatomical traits in this study was weak, but was enhanced when other pit characteristics were associated such as the mean pit membrane surface area. This suggested that the true functional value of traits was understood when traits were put in interaction. Also, we found that leaf pit membrane thickness was ~100nm lower than stem pit membrane thickness (Fig. 6), which is in agreement with the vulnerability segmentation.

Coordination among segmentations

This study is the first to test for any relation between hydraulic and vulnerability segmentations. Hydraulic and vulnerability segmentations were positively related, even if the relationship was weak. However, this weakness can be considered as normal regarding the number and the complexity of the traits to be measured, drastically increasing the degree of freedom of errors: LSC_{leaf} , LSC_{stem} , $P_{50,\text{leaf}}$, $P_{50,\text{stem}}$. Future investigations of such coordination should gain in explanatory power if the assessment of hydraulic segmentation is based on the measurements of flow or water potentials. Indeed, pits control for both hydraulic resistance (Hacke *et al.* 2006; Sperry *et al.* 2006) and embolism resistance (Lens *et al.* 2011; Li *et al.* 2016). Therefore the variation of pit characteristics between leaves and stems should be a key parameter in the relation between hydraulic segmentation and vulnerability segmentation.

If hydraulic segmentation is a mechanism for allowing a safety-valve pattern, this finding supports the hypothesis that the safety-valve pattern is under strong selection, favouring at the same time both hydraulic segmentation and vulnerability segmentation. It is remarkable to see that species highly resistant to stem embolism, are also species selected for high hydraulic and vulnerability segmentation degrees, maximising here the desiccation time (Blackman *et al.* 2016; Blackman, Li, *et al.* 2019), and suggesting a strong selection for drought-related traits for these species. These findings further suggest that hydraulic segmentation and vulnerability segmentation are mechanisms favouring drought resistance. Future directions should address how these mechanisms are related to other well-known mechanisms –such as leaf minimum conductance (Duursma *et al.* 2019), hydraulic safety margin (Johnson *et al.* 2016), stomatal

closure (Martin-StPaul *et al.* 2017), capacitance (Gleason *et al.* 2014), rooting depth (Brum *et al.* 2017)- in the shaping of the drought resistance spectrum (Pivovarovoff *et al.* 2016; Bartlett *et al.* 2016; Santiago *et al.* 2018).

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the climbing team for canopy sampling: Jocelyn Cazal, Valentine Alt, Samuel Council, Anthony Percevaux, and Elodie Courtois. We thank all the technical assistance for field work: Oscar Affholder, Louise Authier, Anne Baranger, Maxime Bellifa, Benoit Burban, Maëlle Cario, Bruno Clair, Maxime Corbin, Elia Dardevet, Emilien Fort, Frederic Fung Foong You, Eva Gril, Thomas Saint-Germain, Ruth Tchana Wandji.

This study was funded by the GFclim project (FEDER 20142020, Project GY0006894) and an “Investissement d’Avenir” grant from the Agence Nationale de la Recherche (CEBA: ANR-10-LABX-0025; ARBRE, ANR-11-LABX-0002-01). S.L. was supported by a doctoral fellowship from CEBA.

LITERATURE CITED

- Aleixo I, Norris D, Hemerik L, et al. 2019.** Amazonian rainforest tree mortality driven by climate and functional traits. *Nature Climate Change* **9**: 384.
- Allen CD, Macalady AK, Chenchouni H, et al. 2010.** A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests. *Forest Ecology and Management* **259**: 660–684.
- Bartlett, Klein, Jansen, Choat, Sack L. 2016.** The correlations and sequence of plant stomatal, hydraulic, and wilting responses to drought. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **113**: 13098–13103.
- Blackman CJ, Creek D, Maier C, et al. 2019.** Drought response strategies and hydraulic traits contribute to mechanistic understanding of plant dry-down to hydraulic failure. *Tree Physiology*.
- Blackman CJ, Li X, Choat B, et al. 2019.** Desiccation time during drought is highly predictable across species of Eucalyptus from contrasting climates. *New Phytologist* **0**.
- Blackman CJ, Pfautsch S, Choat B, Delzon S, Gleason SM, Duursma RA. 2016.** Toward an index of desiccation time to tree mortality under drought. *Plant, Cell & Environment* **39**: 2342–2345.
- Bonan GB. 2008.** Forests and Climate Change: Forcings, Feedbacks, and the Climate Benefits of Forests. *Science* **320**: 1444–1449.
- Brodribb TJ, Bienaimé D, Marmottant P. 2016.** Revealing catastrophic failure of leaf networks under stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **113**: 4865–4869.
- Brodribb TJ, Carriqui M, Delzon S, Lucani C. 2017.** Optical Measurement of Stem Xylem Vulnerability. *Plant Physiology* **174**: 2054–2061.
- Brodribb TJ, Cochard H. 2009.** Hydraulic Failure Defines the Recovery and Point of Death in Water-Stressed Conifers. *Plant Physiology* **149**: 575–584.
- Brodribb TJ, Skelton RP, McAdam SAM, Bienaimé D, Lucani CJ, Marmottant P. 2016.** Visual quantification of embolism reveals leaf vulnerability to hydraulic failure. *New Phytologist* **209**: 1403–1409.
- Brum M, Teodoro GS, Abrahão A, Oliveira RS. 2017.** Coordination of rooting depth and leaf hydraulic traits defines drought-related strategies in the campos rupestres, a tropical montane biodiversity hotspot. *Plant and Soil* **420**: 467–480.
- Bucci SJ, Scholz FG, Campanello PI, et al. 2012.** Hydraulic differences along the water transport system of South American Nothofagus species: do leaves protect the stem functionality? *Tree Physiology* **32**: 880–893.
- Charrier G, Torres-Ruiz JM, Badel E, et al. 2016.** Evidence for hydraulic vulnerability segmentation and lack of xylem refilling under tension. *Plant Physiology*: pp.01079.2016.
- Chen J-W, Zhang Q, Li X-S, Cao K-F. 2009.** Independence of stem and leaf hydraulic traits in six Euphorbiaceae tree species with contrasting leaf phenology. *Planta* **230**: 459–468.
- Chen J-W, Zhang Q, Li X-S, Cao K-F. 2010.** Gas exchange and hydraulics in seedlings of *Hevea brasiliensis* during water stress and recovery. *Tree Physiology* **30**: 876–885.
- Choat B, Brodribb TJ, Brodersen CR, Duursma RA, López R, Medlyn BE. 2018.** Triggers of tree mortality under drought. *Nature* **558**: 531.
- Cochard H. 2019.** A new mechanism for tree mortality due to drought and heatwaves. *bioRxiv*: 531632.
- Cochard H, Badel E, Herbette S, Delzon S, Choat B, Jansen S. 2013.** Methods for measuring plant vulnerability to cavitation: a critical review. *Journal of Experimental Botany*: ert193.
- Cruziat P, Cochard H, Améglio T. 2002.** Hydraulic architecture of trees: main concepts and results. *Annals of Forest Science* **59**: 723–752.
- Dixon HH. 1914.** *Transpiration and the ascent of sap in plants*. London, Macmillan and co., limited.
- Dixon H, Joly J. 1895.** On the ascent of sap. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*.
- Duffy PB, Brando P, Asner GP, Field CB. 2015.** Projections of future meteorological drought and wet periods in the Amazon. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **112**: 13172–13177.
- Duursma RA, Blackman CJ, López R, Martin-StPaul NK, Cochard H, Medlyn BE. 2019.** On the minimum leaf conductance: its role in models of plant water use, and ecological and environmental controls. *New Phytologist* **221**: 693–705.
- Eisner NJ, Gilman EF, Grabosky J, Beeson RC. 2002.** Branch junction characteristics affect hydraulic segmentation in red maple. *Journal of Arboriculture* **28**: 245–251.
- Esquivel-Muelbert A, Baker TR, Dexter KG, et al. 2019.** Compositional response of Amazon forests to climate change. *Global Change Biology* **25**: 39–56.
- Ewers FW, Fisher JB. 1989.** Techniques for Measuring Vessel Lengths and Diameters in Stems of Woody Plants. *American Journal of Botany* **76**: 645–656.
- Falster DS, Warton DI, Wright II. 2006.** User's guide to SMATR: Standardised Major Axis Tests & Routines Version 2.0, Copyright 2006. *R instructions*.

- Gleason SM, Blackman CJ, Cook AM, Laws CA, Westoby M. 2014.** Whole-plant capacitance, embolism resistance and slow transpiration rates all contribute to longer desiccation times in woody angiosperms from arid and wet habitats. *Tree Physiology* **34**: 275–284.
- Gloor M, Barichivich J, Ziv G, et al. 2015.** Recent Amazon climate as background for possible ongoing and future changes of Amazon humid forests. *Global Biogeochemical Cycles* **29**: 1384–1399.
- Gourlet-Fleury S, Guehl JM, Laroussine O. 2004.** *Ecology and management of a neotropical rainforest : lessons drawn from Paracou, a long-term experimental research site in French Guiana*. Paris: Elsevier.
- Hacke UG, Sperry JS, Wheeler JK, Castro L. 2006.** Scaling of angiosperm xylem structure with safety and efficiency. *Tree Physiology* **26**: 689–701.
- Hao G-Y, Hoffmann WA, Scholz FG, et al. 2008.** Stem and leaf hydraulics of congeneric tree species from adjacent tropical savanna and forest ecosystems. *Oecologia* **155**: 405–415.
- Harvey PH, Pagel MD. 1991.** *The comparative method in evolutionary biology*. Oxford University Press.
- Hilker T, Lyapustin AI, Tucker CJ, et al. 2014.** Vegetation dynamics and rainfall sensitivity of the Amazon. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **111**: 16041–16046.
- Hochberg U, Albuquerque C, Rachmilevitch S, et al. 2016.** Grapevine petioles are more sensitive to drought induced embolism than stems: evidence from in vivo MRI and microcomputed tomography observations of hydraulic vulnerability segmentation. *Plant, Cell & Environment* **39**: 1886–1894.
- Hochberg U, Windt CW, Ponomarenko A, et al. 2017.** Stomatal Closure, Basal Leaf Embolism, and Shedding Protect the Hydraulic Integrity of Grape Stems. *Plant Physiology* **174**: 764–775.
- Isebrands JG, Larson PR. 1977.** Vascular Anatomy of the Nodal Region in *Populus deltoides* Bartr. *American Journal of Botany* **64**: 1066–1077.
- Jansen S, Klepsch M, Li S, et al. 2018.** Challenges in understanding air-seeding in angiosperm xylem.
- John GP, Henry C, Sack L. 2018.** Leaf rehydration capacity: Associations with other indices of drought tolerance and environment. *Plant, Cell & Environment* **41**: 2638–2653.
- Johnson DM, McCulloh KA, Meinzer FC, Woodruff DR, Eissenstat DM, Phillips N. 2011.** Hydraulic patterns and safety margins, from stem to stomata, in three eastern US tree species. *Tree Physiology* **31**: 659–668.
- Johnson DM, Wortemann R, McCulloh KA, et al. 2016.** A test of the hydraulic vulnerability segmentation hypothesis in angiosperm and conifer tree species. *Tree Physiology* **36**: 983–993.
- Joyce BJ, Steiner KC. 1995.** Systematic variation in xylem hydraulic capacity within the crown of white ash (*Fraxinus americana*). *Tree Physiology* **15**: 649–656.
- Keck F, Rimet F, Bouchez A, Franc A. 2016.** phyloSignal: an R package to measure, test, and explore the phylogenetic signal. *Ecology and Evolution* **6**: 2774–2780.
- Klepsch M, Zhang Y, Kotowska MM, et al. 2018.** Is xylem of angiosperm leaves less resistant to embolism than branches? Insights from microCT, hydraulics, and anatomy. *Journal of Experimental Botany* **69**: 5611–5623.
- Larson PR, Isebrands JG. 1978.** Functional significance of the nodal constricted zone in *Populus deltoides*. *Canadian Journal of Botany* **56**: 801–804.
- Lechthaler S, Gazzabin M, Anfodillo T. 2018.** The hydraulic architecture of the leaf lamina fits an area preserving design. *Acta Horticulturae* **1222**: 43–48.
- Lens F, Sperry JS, Christman MA, Choat B, Rabaey D, Jansen S. 2011.** Testing hypotheses that link wood anatomy to cavitation resistance and hydraulic conductivity in the genus *Acer*. *New Phytologist* **190**: 709–723.
- Li S, Lens F, Espino S, et al. 2016.** Intervessel pit membrane thickness as a key determinant of embolism resistance in angiosperm xylem. *IWA Journal* **37**: 152–171.
- Losso A, Bär A, Dämon B, et al. 2019.** Insights from in vivo micro-CT analysis: testing the hydraulic vulnerability segmentation in *Acer pseudoplatanus* and *Fagus sylvatica* seedlings. *New Phytologist* **221**: 1831–1842.
- Loubry D. 1994a.** *Déterminismes du comportement phénologique des arbres en forêt tropicale humide de Guyane française* (5 LAT. N).
- Loubry D. 1994b.** La phénologie des arbres caducifoliés en forêt guyanaise (5° de latitude nord) : illustration d'un déterminisme à composantes endogène et exogène. *Canadian Journal of Botany* **72**: 1843–1857.
- Martin-StPaul N, Delzon S, Cochard H. 2017.** Plant resistance to drought depends on timely stomatal closure. *Ecology Letters* **20**: 1437–1447.
- McAdam SAM, Cardoso AA. 2018.** The recurrent evolution of extremely resistant xylem. *Annals of Forest Science* **1**: 1–4.
- McDowell N, Allen CD, Anderson-Teixeira K, et al. 2018.** Drivers and mechanisms of tree mortality in moist tropical forests. *New Phytologist* **219**: 851–869.
- Mu Q, Zhao M, Running SW. 2011.** Improvements to a MODIS global terrestrial evapotranspiration algorithm. *Remote Sensing of Environment* **115**: 1781–1800.
- Nardini A, Pitt F. 1999.** Drought resistance of *Quercus pubescens* as a function of root hydraulic conductance, xylem embolism and hydraulic architecture. *The New Phytologist* **143**: 485–493.

- Nolf M, Creek D, Duursma R, Holtum J, Mayr S, Choat B. 2015.** Stem and leaf hydraulic properties are finely coordinated in three tropical rain forest tree species. *Plant, Cell & Environment* **38**: 2652–2661.
- Olson ME, Anfodillo T, Rosell JA, et al. 2014.** Universal hydraulics of the flowering plants: vessel diameter scales with stem length across angiosperm lineages, habits and climates. *Ecology Letters* **17**: 988–997.
- Pan Y, Birdsey RA, Fang J, et al. 2011.** A Large and Persistent Carbon Sink in the World's Forests. *Science* **333**: 988–993.
- Paradis E, Schliep K. 2019.** ape 5.0: an environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R. *Bioinformatics* **35**: 526–528.
- Phillips OL, Aragão LEOC, Lewis SL, et al. 2009.** Drought Sensitivity of the Amazon Rainforest. *Science* **323**: 1344–1347.
- Pivovarov AL, Pasquini SC, Guzman D, et al. 2016.** Multiple strategies for drought survival among woody plant species. *Functional Ecology* **30**: 517–526.
- Reich PB. 2014.** The world-wide 'fast-slow' plant economics spectrum: a traits manifesto. *Journal of Ecology* **102**: 275–301.
- Rodriguez-Dominguez CM, Murphy MRC, Lucani C, Brodribb TJ. 2018.** Mapping xylem failure in disparate organs of whole plants reveals extreme resistance in olive roots. *New Phytologist* **218**: 1025–1035.
- Santiago LS, Guzman MED, Baraloto C, et al. 2018.** Coordination and trade-offs among hydraulic safety, efficiency and drought avoidance traits in Amazonian rainforest canopy tree species. *New Phytologist* **218**: 1015–1024.
- Schlesinger WH, Jasechko S. 2014.** Transpiration in the global water cycle. *Agricultural and Forest Meteorology* **189–190**: 115–117.
- Scholz A, Rabaey D, Stein A, Cochard H, Smets E, Jansen S. 2013.** The evolution and function of vessel and pit characters with respect to cavitation resistance across 10 *Prunus* species. *Tree Physiology* **33**: 684–694.
- Scoffoni C, Albuquerque C, Brodersen C, et al. 2017.** Outside-xylem vulnerability, not xylem embolism, controls leaf hydraulic decline during dehydration. *Plant Physiology*: pp.01643.2016.
- Scoffoni C, Sack L, Ort D. 2017.** The causes and consequences of leaf hydraulic decline with dehydration. *Journal of Experimental Botany* **68**: 4479–4496.
- Skelton RP, Brodribb TJ, Choat B. 2017.** Casting light on xylem vulnerability in an herbaceous species reveals a lack of segmentation. *New Phytologist* **214**: 561–569.
- Skelton RP, Dawson TE, Thompson SE, Shen Y, Weitz AP, Ackerly D. 2018.** Low Vulnerability to Xylem Embolism in Leaves and Stems of North American Oaks. *Plant Physiology* **177**: 1066–1077.
- Sperry J, Hacke U, Pittermann J. 2006.** Size and function in conifer tracheids and angiosperm vessels. *American Journal of Botany* **93**: 1490–1500.
- Sperry JS, Meinzer FC, McCulloh KA. 2008.** Safety and efficiency conflicts in hydraulic architecture: scaling from tissues to trees. *Plant, Cell & Environment* **31**: 632–645.
- Torres-Ruiz JM, Cochard H, Choat B, et al. 2017.** Xylem resistance to embolism: presenting a simple diagnostic test for the open vessel artefact. *New Phytologist* **215**: 489–499.
- Trueba S, Pan R, Scoffoni C, John GP, Davis SD, Sack L. 2019.** Thresholds for leaf damage due to dehydration: declines of hydraulic function, stomatal conductance and cellular integrity precede those for photochemistry. *New Phytologist* **223**: 134–149.
- Tyree MT, Alexander JD. 1993.** Hydraulic conductivity of branch junctions in three temperate tree species. *Trees* **7**: 156–159.
- Tyree MT, Cochard H, Cruiziat P, Sinclair B, Ameglio T. 1993.** Drought-induced leaf shedding in walnut: evidence for vulnerability segmentation. *Plant, Cell & Environment* **16**: 879–882.
- Tyree MT, Ewers FW. 1991.** The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *New Phytologist* **119**: 345–360.
- Tyree MT, Snyderman DA, Wilmot TR, Machado J-L. 1991.** Water Relations and Hydraulic Architecture of a Tropical Tree (*Schefflera morototoni*): Data, Models, and a Comparison with Two Temperate Species (*Acer saccharum* and *Thuja occidentalis*). *Plant Physiology* **96**: 1105–1113.
- Tyree MT, Zimmermann MH. 2002.** *Xylem Structure and the Ascent of Sap*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- Urli M, Porté AJ, Cochard H, Guengant Y, Burrett R, Delzon S. 2013.** Xylem embolism threshold for catastrophic hydraulic failure in angiosperm trees. *Tree Physiology* **33**: 672–683.
- Voltaire F. 2018.** A unified framework of plant adaptive strategies to drought: Crossing scales and disciplines. *Global Change Biology* **24**: 2929–2938.
- Waddington CH. 1942.** CANALIZATION OF DEVELOPMENT AND THE INHERITANCE OF ACQUIRED CHARACTERS. *Nature* **150**: 563–565.
- Warton DI, Wright IJ, Falster DS, Westoby M. 2006.** Bivariate line-fitting methods for allometry. *Biological Reviews* **81**: 259–291.

- West GB, Brown JH, Enquist BJ. 1999.** A general model for the structure and allometry of plant vascular systems. *Nature* **400**: 664–667.
- Wheeler JK, Sperry JS, Hacke UG, Hoang N. 2005.** Inter-vessel pitting and cavitation in woody Rosaceae and other vesselless plants: a basis for a safety versus efficiency trade-off in xylem transport. *Plant, Cell & Environment* **28**: 800–812.
- Wolfe BT, Sperry JS, Kursar TA. 2016.** Does leaf shedding protect stems from cavitation during seasonal droughts? A test of the hydraulic fuse hypothesis. *New Phytologist* **212**: 1007–1018.
- Wright IJ, Reich PB, Westoby M, et al. 2004.** The worldwide leaf economics spectrum. *Nature* **428**: 821–827.
- Zhang Y, Klepsch M, Jansen S. 2017.** Bordered pits in xylem of vesselless angiosperms and their possible misinterpretation as perforation plates. *Plant, Cell & Environment* **40**: 2133–2146.
- Zhu S-D, Liu H, Xu Q-Y, Cao K-F, Ye Q. 2016.** Are leaves more vulnerable to cavitation than branches? *Functional Ecology* **30**: 1740–1744.
- Ziegler C, Coste S, Stahl C, Delzon S, Levionnois S, Cazal J, Cochard H, Esquivel-Muelbert A, Goret J-Y, Heuret P, Jaouen G, Santiago LS, Bonal D. Submitted.** Large hydraulic safety margins protect Neotropical canopy rainforest tree species against hydraulic failure during drought.
- Zimmermann MH. 1978.** Hydraulic architecture of some diffuse-porous trees. *Canadian Journal of Botany* **56**: 2286–2295.
- Zimmermann MH. 1983.** *Xylem Structure and the Ascent of Sap*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- Zimmermann MH, Sperry JS. 1983.** Anatomy of the palm *Rhapis excelsa*, IX. Xylem structure of the leaf insertion. *Journal of the Arnold Arboretum* **64**: 599–609.
- Zuleta D, Duque A, Cardenas D, Muller-Landau HC, Davies SJ. 2017.** Drought-induced mortality patterns and rapid biomass recovery in a terra firme forest in the Colombian Amazon. *Ecology* **98**: 2538–2546.

SUPPORTING INFORMATION LEGENDS

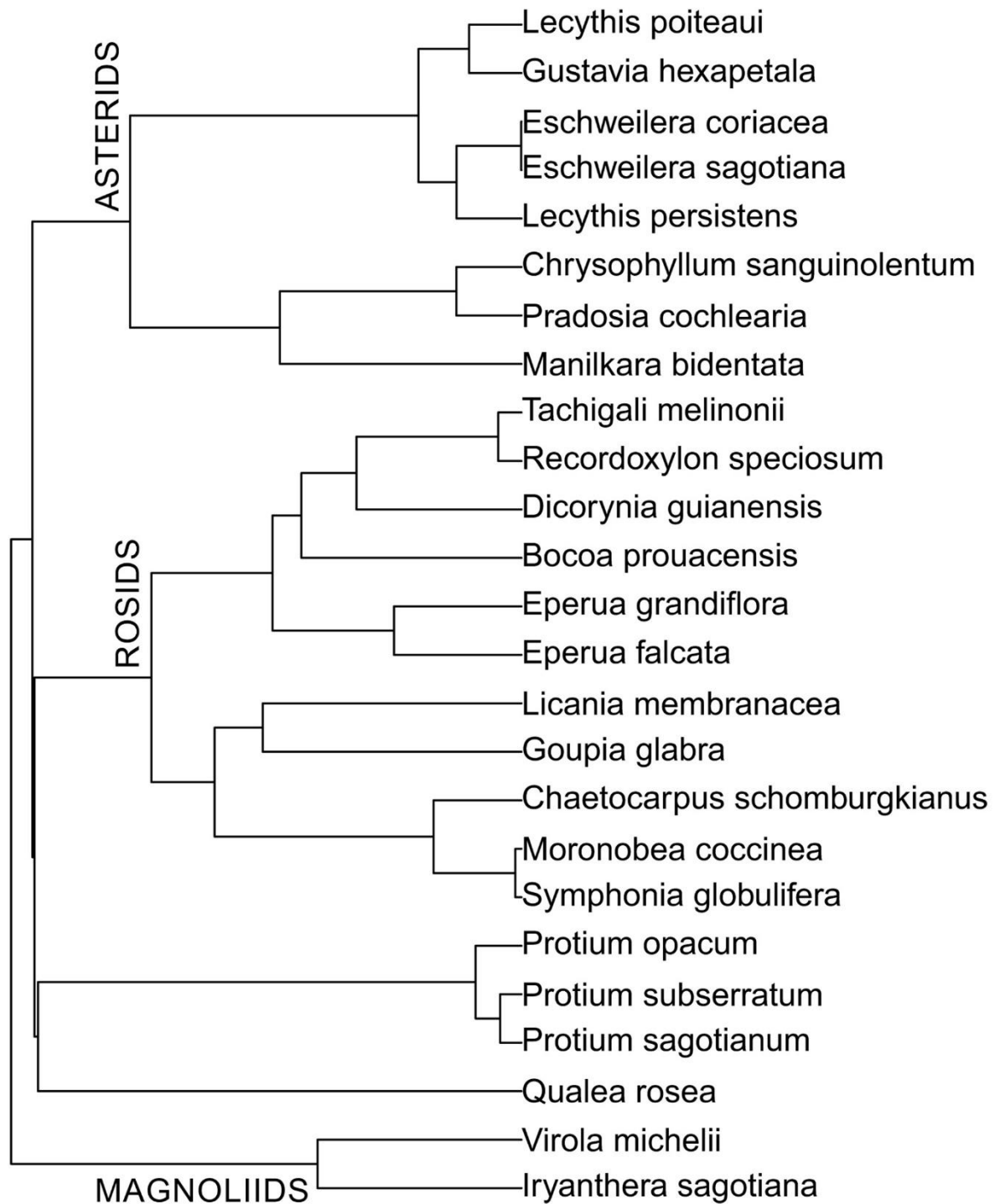


Fig. S1. Phylogenetic tree of the 25 species examined.

CHAPITRE 7

Is vulnerability segmentation at the leaf-stem interface a drought resistance mechanism? A theoretical test with a trait-based model for some Neotropical canopy tree species.

Chapitre 7

Est-ce que la segmentation de vulnérabilité à l'interface feuille-tige est un mécanisme de résistance à la sécheresse ? Un test théorique avec un modèle basé sur les traits fonctionnels de quelques espèces d'arbres de canopée des Néotropiques.

RÉSUMÉ

1. La segmentation de vulnérabilité entre les feuilles et les tiges prédit une plus faible résistance à l'embolie dans les feuilles pour préserver les organes coûteux tels que les branches et le tronc. Malgré le fait que la segmentation de vulnérabilité ait été abondamment étudiée ces dernières décennies pour tester son degré de généralité parmi les espèces, nous ne savons toujours pas si, et comment, la segmentation de vulnérabilité impacte réellement la résistance à la sécheresse. Ici, nous avons étudié l'impact du degré de segmentation de vulnérabilité sur le temps de dessiccation de la pousse feuillée, estimé à partir d'un modèle simple basé sur des traits fonctionnels.

2. Nous avons mesuré pour 21 espèces d'arbres de canopée de forêt tropicale humide la résistance à l'embolie du xylème dans les tiges (avec la technique par centrifugation) et dans les feuilles (avec la méthode de visualisation optique). D'autres traits mesurés de la résistance à la sécheresse (conductance minimale des feuilles et de l'écorce, capacitance, ratio entre la surface foliaire et la surface d'écorce) ont permis de calculer le temps de dessiccation théorique des pousses.

3. Un fort degré de segmentation de vulnérabilité accroît fortement le temps de dessiccation théorique de la pousse, suggérant ainsi que la segmentation de vulnérabilité est bien un mécanisme de résistance à la sécheresse. La différence entre la surface foliaire et de l'écorce, plutôt que la différence entre la conductance minimale entre la feuille et l'écorce, détermine la forte réduction de la transpiration totale de la pousse durant le processus de segmentation.

4. Les études futures devront particulièrement aborder les suppositions du modèle avec des mesures empiriques, comme l'évolution de la transpiration totale de la pousse avant, pendant, et après l'embolie du xylème de la feuille.

Mots-clés : arbres tropicaux, segmentation de vulnérabilité, pousse feuillée, interface feuille-tige, temps de dessiccation, conductance minimale, résistance de sécheresse.

Chapter 7

Is vulnerability segmentation at the leaf-stem interface a drought resistance mechanism? A theoretical test with a trait-based model for some Neotropical canopy tree species.

ABSTRACT

- 1.** Leaf-stem vulnerability segmentation predicts lower embolism resistance in leaves to preserve expensive organs such as the main branches or the trunk. Despite vulnerability segmentation has been intensively investigated these past decades to look for its pervasiveness across species, we still poorly know if and how vulnerability segmentation promotes drought resistance. Here, we investigated the impact of the degree of vulnerability segmentation on the shoot desiccation time estimated with a simple trait-based model.
- 2.** We measured across 21 tropical rainforest canopy tree species xylem resistance to embolism in stems (flow-centrifugation technique) and in leaves (optical visualisation method). Other measured drought resistance traits (minimum leak and bark conductance, capacitance, leaf-to-bark area ratio) allowed to calculate a theoretical shoot desiccation time.
- 3.** Large degree of vulnerability segmentation strongly enhanced the theoretical shoot desiccation time, suggesting vulnerability segmentation to be a drought resistance mechanism. The difference between leaf and bark area, rather than the difference between minimum leaf and bark conductance, determined the drastic reduction of total shoot transpiration during segmentation.
- 4.** Future directions should specifically address the assumptions of the model with empirical measurements, such as the evolution of total shoot transpiration before, during, and after leaf xylem embolism.

Keywords: tropical trees, vulnerability segmentation, leafy shoot, leaf-stem interface, desiccation time, minimum conductance, drought resistance.

INTRODUCTION

Increasing extreme drought events worldwide with climate change is already inducing tree death and forest dieback (Allen *et al.* 2010). Current climate predictions suggest drought and mortality phenomena to increase in space and time (Duffy *et al.* 2015), probably leading to significant impacts on the forest specific composition, their functioning and productivity (Brienen *et al.* 2015; Esquivel-Muelbert *et al.* 2019). This situation urges a better understanding of the mechanisms underlying drought-induced tree mortality, as also the possibility to quantify and predict tree drought resistance (McDowell *et al.* 2018). Plant hydraulics as a plant science discipline helped to investigate this issue. Notably, hydraulic failure of the water transport system due to too high water stress is now consensually recognised as the main cause of drought-induced tree mortality (Urli *et al.* 2013). Moreover, other hydraulic traits related to water absorption, transpiration control, and water storage, have been identified to shaping plant drought resistance (Blackman *et al.* 2016; Martin-StPaul *et al.* 2017). However, we still lack a clear understanding of (1) how the different drought resistance traits combine each other to shape plant drought resistance, (2) if there are several drought resistance strategies, and (3) which traits (or combination of) are fundamental to quantify drought resistance.

Drought resistance can be defined as the capacity to avoid as long as possible death by desiccation (Volaire 2018). This definition emphasises on survival and can be simply quantified as the time between the onset of a water stress and plant death by desiccation, i.e. desiccation time. All the traits enabling to extend this desiccation time can be considered as drought resistance mechanisms. Plant water status is firstly controlled by stomata, and stomatal closure is generally the first plant response to a water stress. Comparison of stomatal closure across species is allowed by measuring the leaf water potential inducing ~90-95 % loss of maximum stomatal conductance (Ψ_{closure} ; MPa). The earlier the stomatal closure, and the more the water potential drop in the xylem is delayed (Martin-StPaul *et al.* 2017). Excessive water potential drop in the xylem can cause cavitation (i.e. sudden liquid-to-gas phase transition within vessels) and embolism (i.e. bubble formation within vessels). Embolism blocks water transport in the vessel, accumulation of embolism drives the loss of xylem conductivity (Tyree and Sperry 1989), and finally plant desiccation and death (Urli *et al.* 2013). Embolism resistance is quantified by measuring the xylem water potential inducing x % loss of xylem hydraulic conductivity (P_x ; MPa), such that P_{50} is generally used as a reference for interspecific comparison. Therefore, desiccation time is theoretically maximised for low P_{50} , and a high difference between Ψ_{closure} and P_{50} , i.e. the stomatal-hydraulic safety margin (SHSM). Past hydraulic studies have largely focused on embolism resistance, and allowed to demonstrate that

P_{50} is tightly related to drought mortality and drought resistance in controlled experiments (Resco *et al.* 2009; Brodribb and Cochard 2009; Urli *et al.* 2013; Blackman, Creek, *et al.* 2019).

The rate, and then the time, to range $\Psi_{closure}$ to P_{50} are influenced by water pools stocked in plant tissues, and by residual water transpirations determining the rate of depletion of these plant water stocks. This is analogical to a sink-source model. When stomata close, transpiration is not null. Indeed, the leaf cuticle is not fully permeable, and some leaky stomata can remain, both determining the leaf minimum conductance (g_{min} ; $mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$; Duursma *et al.* 2019). The bark is also prone to transpiration, because of an incomplete permeability of the different tissue layers constituting the bark, or of lenticels. However, quantification of bark conductance (g_{bark} ; $mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$) across species, and particularly in the perspective of drought resistance, are critically lacking (Blackman, Creek, *et al.* 2019; however see Wittmann and Pfanz 2008;). Moreover, the bark structure undergoes drastic changes with secondary growth that should also be taken into account (Lendzian 2006). For both, bark and leaf minimum conductance, lower the conductance, maximised is the desiccation time. The plant water stock is determined by tissue capacitances W ($kg\ m^{-3}\ MPa^{-1}$), which is the measure of the capacity of a tissue to release water per unit of tissue volume and per unit of pressure drop (Tyree and Ewers 1991). The capacitance is determined by the empty space per unit of tissue volume, thus W is strongly related to the tissue density (Scholz *et al.* 2011; Jupa *et al.* 2016; Santiago *et al.* 2018). As the product of g_{min} with the total leaf area determines the total transpiration E ($g\ s^{-1}$), and as the product of C with the volume of wood or stem determines the total capacity C ($kg\ MPa^{-1}$), the ratio between the total leaf area and the volume of stem also has a strong functional significance regarding desiccation time.

Desiccation time can be experimentally quantified, as the time required to desiccate a plant from a water stress to death. This approach is easy to deploy in control experiments such as in greenhouses, and where desiccation time is effectively higher for drought-affiliated species (Urli *et al.* 2013; Blackman, Creek, *et al.* 2019; Blackman, Li, *et al.* 2019). However, observation of desiccation time is hardly feasible in natural conditions, especially for trees. Blackman *et al.* (2016) have recently developed a trait-based model, integrating the drought resistance traits described above (P_{50} , $\Psi_{closure}$, g_{min} , W). The model calculates desiccation time t_{crit} (unit = hours) as the ratio between (1) the total amounts of water releasable by tissues across the water potential drop between $\Psi_{closure}$ and critical levels of embolism (P_{crit} ; MPa), and (2) the rate of transpiration after stomatal closure, such as :

$$t_{crit} = \frac{(\Psi_{closure} - P_{crit}) * W * V_{plant}}{g_{min} * 2A_L * VPD}$$

where t_{crit} (hrs) is the desiccation time, Ψ_{closure} is the leaf water potential at stomatal closure (MPa), W is the tissue capacitance ($\text{kg m}^{-3} \text{MPa}^{-1}$), g_{min} is the leaf minimum conductance ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); V_{plant} (m^3) the volume of plant tissue releasing water, A_L (m^2) the total leaf area, VPD is the vapor pressure deficit (kPa). The total leaf area is multiplied by 2 because g_{min} -driven transpiration occurs at both abaxial and adaxial leaf faces. Blackman, Li, *et al.* (2019) have found a strong relationship between observed and calculated t_{crit} across 8 *Eucalyptus* species, strengthening this trait-based model approach. This framework is promising to explore the relative importance of drought resistance mechanisms in shaping drought resistance, as also the diversity of drought resistance strategies.

Vulnerability segmentation has long been hypothesised to have a role in plant drought resistance. The vulnerability segmentation hypothesis (VSH) predicts distal organs such as leaves and roots to be more vulnerable to xylem embolism relative to perennial organs such as branches and trunk. At the leaf-stem interface, one implicit implication is that embolised leaves are no longer conductive, then diminishing the effective evaporative surface. In other words, the more the leaves are embolised, the more the total transpiration flux is reduced and driven by bark, which should enhance the time to range leaf P_{crit} to the stem P_{crit} . These last twenty years, the VSH has gained in interest, and great efforts have been made to demonstrate the existence or not of such patterns (Johnson *et al.* 2016; Hochberg *et al.* 2016; Charrier *et al.* 2016; Skelton *et al.* 2017, 2018; Rodriguez-Dominguez *et al.* 2018; Klepsch *et al.* 2018; **Chapitre 6**). But even if it appears that leaf-stem vulnerability segmentation is quite common and dependant of the species, the functional significance of such segmentation in the perspective of drought resistance remains under-investigated. Recently, Blackman, Li, *et al.* (2019) have shown for *Eucalyptus* species that leaf-stem vulnerability segmentation is among the parameters best explaining observed t_{crit} . Such approach needs to be replicated in order to identify in what extent we need to recognise vulnerability segmentation as an important drought resistance mechanism, and further better predict tree and vegetation dynamics under climate change (Martin-StPaul *et al.* 2017).

The strength of the effect of vulnerability segmentation on desiccation time can theoretically be affected by different factors. For instance, vulnerability segmentation in the perspective of drought resistance implies that the evaporative surface after leaf embolism is reduced. But the difference between leaf area and bark area (or leaf area to bark area ratio) at a given level (e.g. the shoot, the branch, the tree) can vary across species, affecting the effect of vulnerability segmentation on desiccation time. Moreover, there is to our knowledge no comparison between g_{min} and g_{bark} for a given species, either at the shoot or the tree level. It can

be hypothesised that the minimum conductance is different between leaf and bark, further affecting desiccation time in the mechanism of vulnerability segmentation across species. Finally, the ratio between the total water content and the evaporative surface is another parameter behind vulnerability segmentation, potentially varying across species then affecting desiccation time. However, we do not know how these different parameters strengthen or not vulnerability segmentation in controlling desiccation time across species.

Identification of drought resistance mechanisms is also related to the identification of hydraulic resistance strategies: i.e. if there are trait associations that are more probable than others, or if drought resistance traits are rather independent thus defining multiple strategies (Santiago *et al.* 2016, 2018; Pivovarovoff *et al.* 2016). For instance, it is a long-standing idea that Ψ_{closure} and $P_{50,\text{stem}}$ (stem embolism resistance) are tightly coordinated such that embolism resistance species close their stomata lately (Brodribb *et al.* 2003; Sperry 2004; Li *et al.* 2016; Bartlett *et al.* 2016; Pivovarovoff *et al.* 2018). However, based on a meta-analysis compiling a large range of Ψ_{closure} , Martin-StPaul *et al.* (2017) suggested that there is a lower limit for Ψ_{closure} , such that Ψ_{closure} and $P_{50,\text{stem}}$ are independent for $P_{50,\text{stem}}$ lower than ~ -6 MPa. Some other studies suggest that $P_{50,\text{leaf}}$ and $P_{50,\text{stem}}$ are coordinated, but with a large dispersion (Scoffoni *et al.* 2017; Levionnois *et al.*, *in prep*). Regarding the VSH, the study of Johnson *et al.* (2016) has suggested that vulnerability segmentation is negatively related to the hydraulic safety margin, i.e. the difference between the midday leaf water potential Ψ_{md} and $P_{50,\text{stem}}$. However, except the study of Johnson *et al.* (2016), it is poorly known how vulnerability segmentation is related to the main drought resistance mechanisms.

Here, we aim to test the effect of leaf-stem vulnerability segmentation on shoots desiccation time across Neotropical rainforest canopy tree species. Rainforest species has been previously suggested to lack of vulnerability segmentation (Zhu *et al.* 2016), but Levionnois *et al.* (**Chapitre 6**) recently evidenced that vulnerability segmentation is quite common across several tree species. Moreover, tropical forests are known to play a disproportionate role in ecosystem services such as biodiversity and carbon cycling. But the vulnerability of tropical trees to climate change and drought is poorly known due to a lack of hydraulic approaches in these areas related to leaves. Based on the experiment and data of Levionnois *et al.* (**Chapitre 6**), we computed shoot t_{crit} . We also added bark conductance and surface measurements to fully characterise the theoretical effect of vulnerability segmentation. We specifically addressed the following questions:

- Does leaf-stem vulnerability segmentation have a theoretical effect on desiccation time of tropical tree shoots?

- What are the respective effects of the main parameters between leaf and stem ($P_{\text{crit,leaf}} - P_{\text{crit,stem}}$; $g_{\text{min}} - g_{\text{bark}}$; $A_{\text{leaf}} - A_{\text{bark}}$) in combination with vulnerability segmentation controlling for shoot desiccation time?
- If we consider vulnerability segmentation as a drought resistance mechanism, how is it related to other main drought resistance mechanisms?

MATERIALS AND METHODS

Study site, species, and design

The experiment was conducted in French Guiana, at the Paracou experimental station (<https://paracou.cirad.fr/website>; 5°16'26''N, 52°55'26''W), in a lowland tropical rainforest (Gourlet-Fleury *et al.* 2004). The warm and wet tropical climate of French Guiana is highly seasonal due to the north-south movement of the Inter-Tropical Convergence Zone. Annual rainfall is 3,041 mm year⁻¹ and annual mean air temperature is 25.7 °C. There is a dry season lasting from mid-August to mid-November, during which rainfall is < 100 mm month⁻¹. Only canopy, dominant, adult trees were sampled. A total of 21 tree species (Table 2) and 56 trees were sampled, with 3 trees per species for 17 species, 2 trees for 2 species, and 1 tree for 1 species.

The overall goal of the study was to calculate a desiccation time at the shoot level, as the shoot is defined in the context of this study as an unbranched and leafy stem, with the largest number of leaves as possible, and with all nodes bearing a leaf. All the traits necessary for the calculation of the desiccation time were measured as much as possible at the shoot level, except for stem embolism resistance which was measured on older branch (~2cm-diameter).

Stem embolism resistance

Stem embolism resistance was measured through the stem water potential inducing 50% and 88% loss of conductivity respectively ($P_{50,\text{stem}}$ and $P_{88,\text{stem}}$ respectively; MPa; Table 1). The field sampling procedure for the measurements of stem embolism resistance held between January and July 2017. One three-meter long canopy branch were sampled by professional tree climbers. Only sun-exposed branches were sampled as much as possible. Vulnerability curves were measured with the flow-centrifugation technique, with the *Cavi1000* technology (DGMeca, BIOGECO lab, Gradignan, France). The method and the data for each species and for vulnerability curves are available and discussed in separate publications (Ziegler *et al.*, 2019; **Chapitre 5**).

Table 1. List of traits and abbreviations.

Abbreviation	Unit	Trait	Formula
$P_{88,stem}$	MPa	Water potential at stem 88% loss of conductivity	
$P_{88,leaf}$	MPa	Water potential at leaf 88% loss of conductivity	
$P_{50,stem}$	MPa	Water potential at stem 50% loss of conductivity	
$P_{50,leaf}$	MPa	Water potential at leaf 50% loss of conductivity	
Ψ_{tlp}	MPa	Water potential at leaf turgor loss point	
A_{leaf}	m ²	Shoot leaf area	
A_{bark}	m ²	Stem bark area	
V_{stem}	m ³	Stem volume	
g_{min}	mmol m ⁻² s ⁻¹	Leaf minimum conductance	
g_{bark}	mmol m ⁻² s ⁻¹	Bark conductance	
$g_{min} * A_{leaf}$	mmol s ⁻¹	Total leaf transpiration rate	
$g_{bark} * A_{bark}$	mmol s ⁻¹	Total bark transpiration rate	
$W_{ft,stem}$	mmol m ⁻³ MPa ⁻¹	Estimated stem capacitance at full turgor	$W_{ft,stem} = -930.93 * \text{wood density} + 868.97$
$W_{t,leaf}$	mmol m ⁻³ MPa ⁻¹	Leaf capacitance after turgor loss point	
$SHSM_{P88,stem}$	MPa	Stomatal-hydraulic $P_{88,stem}$ safety margin	$\Psi_{t,leaf} - P_{88,stem}$
$SHSM_{P88,leaf}$	MPa	Stomatal-hydraulic $P_{88,leaf}$ safety margin	$\Psi_{t,leaf} - P_{88,leaf}$
$SHSM_{P50,stem}$	MPa	Stomatal-hydraulic $P_{50,stem}$ safety margin	$\Psi_{t,leaf} - P_{50,stem}$
$SHSM_{P50,leaf}$	MPa	Stomatal-hydraulic $P_{50,leaf}$ safety margin	$\Psi_{t,leaf} - P_{50,leaf}$
Ψ_{md}	MPa	Leaf water potential at solar midday	
$HSM_{P88,stem}$	MPa	Hydraulic $P_{88,stem}$ safety margin	$\Psi_{md} - P_{88,stem}$
$HSM_{P88,leaf}$	MPa	Hydraulic $P_{88,leaf}$ safety margin	$\Psi_{md} - P_{88,leaf}$
$HSM_{P50,stem}$	MPa	Hydraulic $P_{50,stem}$ safety margin	$\Psi_{md} - P_{50,stem}$
$HSM_{P50,leaf}$	MPa	Hydraulic $P_{50,leaf}$ safety margin	$\Psi_{md} - P_{50,leaf}$
$HSM_{\Psi_{t,leaf}}$	MPa	Stomatal safety margin	$\Psi_{md} - \Psi_{t,leaf}$
$C_{shoot} A_{leaf+bark}^{-1}$	mmol MPa ⁻¹ m ⁻²	Shoot capacity to total evaporative surface	$(W_{ft,stem} V_{stem} + W_{t,leaf} A_{leaf}) / (A_{leaf} + A_{bark})$
$C_{stem} A_{bark}^{-1}$	mmol MPa ⁻¹ m ⁻²	Stem capacity to bark surface	$W_{ft,stem} V_{stem} / A_{bark}$
$A_{stem} : A_{leaf}$	m ² m ⁻²	Stem cross-sectional area to leaf area	A_{stem} / A_{leaf}

Leaf embolism resistance

Leaf embolism resistance was measured through the leaf water potential inducing 50% and 88% loss of conductivity respectively ($P_{50,leaf}$ and $P_{88,leaf}$ respectively; MPa; Table 1). The field sampling procedure for measurements of leaf embolism resistance held between November 2018 and March 2019. We generally sampled 3 trees per sampling day, during the morning and before solar midday, in order to avoid too low leaf water potentials and native leaf embolism. All the trees climbed for the measurements of stem embolism resistance were climbed once again to be sampled for the measurements of leaf embolism resistance. Only sun-exposed branches were sampled as much as possible. One one-meter long canopy branch was sampled per tree, with ~50 leaves or leaflets for the monitoring of water potentials as described below. A second small branch was also sampled for bark conductance and morphological measurements, as described below. In order to measure the embolism resistance of leaf xylem, we relied on the optical light transmission method (Brodribb, Skelton, *et al.* 2016; Brodribb, Bienaimé, *et al.* 2016). The method and the data for each species and for vulnerability curves are available and discussed in a separate publication (**Chapitre 6**).

Leaf pressure-volume curves

Stomatal closure is generally measured from the stomatal response curve to leaf water potential based on stomatal conductance measurements. However, $\Psi_{closure}$ and leaf water potential at the leaf turgor loss point (Ψ_{tjp} ; MPa; Table 1) are strongly related (Brodribb *et al.* 2003; Rodriguez-Dominguez *et al.* 2016; Bartlett *et al.* 2016), leading to the possibility to use Ψ_{tjp} as a surrogate of $\Psi_{closure}$ (Martin-StPaul *et al.* 2017). Ψ_{tjp} was measured by pressure–volume analysis using the bench drying technique described by Koide *et al.* (1989). Before the branch used for the measurement of leaf embolism resistance was removed from water and plastic bags, one fully hydrated leaf was sampled. At regular intervals, the leaf water potential was measured with a Scholander pressure chamber (Model 600, PMS, USA), directly followed by the measurement of the leaf mass with a precision balance. The different water potential and mass measurements were made in order to cover the range of 0 MPa to -3 MPa, with ~0.3 MPa intervals. Then, the leaf was scanned to measure the leaf area, and dried for three days at 103° to measure leaf dry mass. The pressure-volume curves exhibited two linear phases. The leaf water potential at the phase transition was Ψ_{tjp} . The pressure-volume curve was also used to derive the leaf capacitance after turgor loss $W_{tjp,leaf}$ (mol m⁻² MPa⁻¹; Table 1), since the plant water stock used for the calculation of t_{crit} is the water available in plant tissues after stomatal closure. $W_{tjp,leaf}$

was calculated as the slope of the leaf water mass according to leaf water potential for water potentials below Ψ_{tip} , and divided by the leaf area.

Stem capacitance

Potential wood capacitance is strongly, linearly, and negatively related to wood density (Scholz *et al.* 2011; Mcculloh *et al.* 2012, 2014; Richards *et al.* 2014; Jupa *et al.* 2016; Santiago *et al.* 2018). Santiago *et al.* (2018) recently measured branch wood capacitance at full turgor $W_{\text{ft,stem}}$ ($\text{kg m}^{-3} \text{MPa}^{-1}$) across 14 tropical rainforest canopy tree species in the same site of our study in Paracou, French Guiana. Santiago *et al.* (2018) found a strong linear relationship ($R^2 = 0.59$) between $W_{\text{ft,stem}}$ and branch wood density (**WD**, g cm^{-3} ; Table 1), such as : $W_{\text{ft,stem}} = -930.93 * \text{WD} + 868.97$. We used the estimation of wood capacitance as a proxy for the whole stem capacitance. We are aware that the different stem tissue (pith, xylem, phloem, cortex) can exhibit different capacitances, but we assume the capacitance between stem tissue is coordinated across species. During the field work for the measurement of stem embolism resistance, we sampled complete branch wood section (~1.5cm in length; ~1cm in diameter) for WD measurements. One wood sample was sampled per branch, on the distal extremity of the sample used for the *Cavi1000* measurement. The fresh volume of the sample was calculated using an inverse Archimedes principle and a precision balance (CP224S, Sartorius), as the difference between the fresh mass and immersed mass of the sample. Dry mass was derived after drying at 103 °C for three days. WD was the ratio of the dry mass on the fresh volume. WD in our study from 0.49 to 0.85, whereas WD in the study of Santiago *et al.* (2018) ranged from 0.33 to 0.80.

Leaf and bark minimum conductance

The leaf minimum conductance g_{min} ($\text{mmol m}^{-2} \text{MPa}^{-1}$; Table 1) was measured between July and November 2017. During the field work for the measurements of stem embolism resistance, while sampling the branches, strings were tied to sunlit shoots to allow later canopy sampling without climbing. g_{min} measurement were based on the measure of three leaves per tree. After pulling down the strings for leaf sampling, leaves were placed in small sealed plastic bags with wet towel paper to avoid dehydration. At the laboratory, all the leaf surface was dried with dry towel paper. The petiole cut was sealed with a nail vanish such that the total leaf transpiration was only mediated by the lamina. Leaves were placed 1 m above fans, and let to dehydrate in a closed air-conditioned room. The air temperature and relative humidity were maintained at ~25°C and ~50% respectively. At regular intervals the leaf mass was recorded with a precision

balance. The time, the air temperature, and the air relative humidity were noted for each measurement. g_{\min} was calculated as the slope of the decreasing leaf water mass according to time, in conjunction with the VPD –calculated from the known air temperature and relative humidity–, and divided by the doubled leaf area. Particular attention was paid to have stomata closed, by controlling a solely linear phase of leaf water mass decreasing with time.

The bark conductance g_{bark} ($\text{mmol m}^{-2} \text{MPa}^{-1}$; Table 1) was measured during the measurement of leaf embolism resistance, for which a second small branch was sampled. From this branch, three 20-cm-long and ~1-cm-width stem sticks were sampled, by paying attention to have linear and unbranched sticks. Once sampled, the sticks were placed in small sealed plastic bags with wet towels paper to avoid dehydration. At the laboratory, all the bark surface was dried with dry towel paper. The two extremities of each stick were sealed with melted wax such that the total stick transpiration was only mediated by the bark. g_{bark} was measured exactly the same manner as described for leaves, but the slope of the stick water mass decreasing with time was divided by the stick bark surface area. The bark surface area was measured by considering the stick as a cylinder, by measuring the length, and two orthogonal diameters with a calliper for both extremities of the stick.

Midday leaf water potential

The method and the data for midday leaf water potential (Ψ_{md} ; MPa; Table 1) and for each species are available and discussed in a separate publication (Ziegler *et al.*, 2019). Leaves were sampled with the strings set during the field work for stem embolism measurements. Ψ_{md} was measured with a pressure chamber (Model 600, PMS, USA) during the 2018 dry season in early October between 11:00 and 14:00 on clear sunny days with a high vapour pressure deficit ($\text{VPD} = 1.32 \text{ kPa}$; Ziegler *et al.*, *submitted*).

Morphological parameters

Shoot leaf area and shoot bark areas were measured during the measurement of leaf embolism resistance, with second small branch used for bark conductance measurement. On this branch a shoot was sampled, defined as an unbranched and leafy stem, with the largest number of leaves as possible, and with all nodes bearing a leaf. The shoot was cut at the base of the last internode bearing a leaf. Once sampled, the shoots were placed in sealed plastic bags with wet towels paper to avoid dehydration. At the laboratory, all the surfaces were dried with dry towel paper. All the leaves were cut and scanned to measure the shoot leaf area (Table 1). The shoot

bark area was measured by considering the shoot stem as a cylinder, by measuring the stem length and two orthogonal diameters at the base of the shoot with a calliper (Table 1).

The desiccation time model

To test the effect of vulnerability segmentation on t_{crit} , we calculated t_{crit} for species exhibiting a positive vulnerability segmentation (i.e. $P_{50,leaf} > P_{50,stem}$; **Chapitre 6**), which represents 12 species for the P_{50} -segmentation, and 15 species for the P_{88} -segmentation. Then, we calculated for the same species a theoretical t_{crit} with no segmentation, such as $P_{50,leaf} = P_{50,stem}$, or $P_{88,leaf} = P_{88,stem}$. To take into account the vulnerability segmentation in the calculate of t_{crit} , we used the framework of Blackman *et al.* (2016), with some adjustments on the model. The modified model was based on the addition of two successive desiccation time: (i) a leaf desiccation time, from stomatal closure to the hydraulic failure of leaf xylem, and (ii) a stem desiccation time, from hydraulic failure of leaf xylem to the hydraulic failure of stem xylem. The model assumes that before segmentation, the shoot transpiration was driven by both g_{min} and g_{bark} ; and that after leaf embolism, the shoot transpiration was driven only by g_{bark} . Contrary to Blackman *et al.* (2016), we also added the effect of the leaf capacitance after the turgor loss point. We used $P_{88,leaf}$ and $P_{88,stem}$ as parameters for critical hydraulic failure in leaf and stem respectively (Blackman *et al.* 2016), such that $P_{88,stem}$ has been shown to trigger plant mortality for angiosperm species (Urli *et al.* 2013). Therefore, t_{crit_seg} for species exhibiting a positive vulnerability segmentation was calculated as:

$$t_{crit_seg} = \frac{(\Psi_{tlp} - P_{88,leaf}) * (CW_{ft,stem}V_{stem} + W_{tlp,leaf}A_{leaf})}{(2A_{leaf}g_{min} + A_{bark}g_{bark}) * VPD} + \frac{(P_{88,leaf} - P_{88,stem}) * W_{ft,stem}V_{stem}}{A_{bark}g_{bark} * VPD}$$

with Ψ_{tlp} the water potential (MPa) at turgor loss point used as a surrogate of stomatal closure; $P_{88,leaf}$ the leaf water potential (MPa) at 88% loss of leaf xylem conductivity; $P_{88,stem}$ the water potential (MPa) at 88% loss of stem xylem conductivity; $W_{ft,stem}$ the stem capacitance (mmol m⁻³ MPa⁻¹) at full turgor; $W_{tlp,leaf}$ the leaf capacitance (mmol m⁻² MPa⁻¹) after turgor loss point; V_{stem} the stem volume (m³); A_{leaf} the shoot leaf area (m²); g_{min} the leaf minimum conductance (mmol m⁻² s⁻¹); g_{bark} the bark conductance (mmol m⁻² s⁻¹); VPD the vapour pressure deficit (kPa). Then, for species exhibiting a positive vulnerability segmentation, we artificially cancelled the segmentation by calculating a t_{crit_noseg} , such as $P_{50,leaf} = P_{50,stem}$, and such as:

$$t_{crit_noseg} = \frac{(\Psi_{tlp} - P_{88,stem}) * (W_{ft,stem}V_{stem} + W_{tlp,leaf}A_{leaf})}{(2A_{leaf}g_{min} + A_{bark}g_{bark}) * VPD}$$

All the parameters of the models and per species are presented in the Table 2.

Table 2. All the model parameters per species (data should be asked to the author).

Species	Family	Ψ_{tlp} (MPa)	$P_{88,\text{stem}}$ (MPa)	$P_{88,\text{leaf}}$ (MPa)	$P_{88,\text{leaf}} - P_{88,\text{stem}}$	g_{min} (mmol m ⁻² s ⁻¹)	g_{bark} (mmol m ⁻² s ⁻¹)
<i>Bocoa prouacensis</i>	Fabaceae						
<i>Chaetocarpus schumburgkianus</i>	Peraceae						
<i>Chrysophyllum sanguinolentum</i>	Sapotaceae						
<i>Dicorynia guianensis</i>	Fabaceae						
<i>Eperua falcata</i>	Fabaceae						
<i>Eperua grandiflora</i>	Fabaceae						
<i>Eschweilera sagotiana</i>	Lecythidaceae						
<i>Goupia glabra</i>	Goupiaceae						
<i>Gustavia hexapetala</i>	Lecythidaceae						
<i>Iryanthera sagotiana</i>	Myristicaceae						
<i>Lecythis poiteauii</i>	Lecythidaceae						
<i>Licania membranacea</i>	Chrysobalanaceae						
<i>Manilkara bidentata</i>	Sapotaceae						
<i>Pradosia cochlearia</i>	Sapotaceae						
<i>Protium opacum</i>	Burseraceae						
<i>Protium sagotianum</i>	Burseraceae						
<i>Protium subserratum</i>	Burseraceae						
<i>Qualea rosea</i>	Vochysiaceae						
<i>Symphonia sp1</i>	Clusiaceae						
<i>Tachigali melinonii</i>	Fabaceae						
<i>Virola michelii</i>	Myristicaceae						

4

Abbreviations are presented in Table 1.

Table 2. All the model parameters per species (data should be asked to the author).

Species	Family	$W_{ft,stem}^*$ (kg m ⁻³ MPa ⁻¹)	$W_{tip,leaf}$ (mol m ⁻² MPa ⁻¹)	A_{leaf} (cm ²)	A_{bark} (cm ²)	V_{stem} (cm ⁻³)
<i>Bocoa prouacensis</i>	Fabaceae					
<i>Chaetocarpus schumburgkianus</i>	Peraceae					
<i>Chrysophyllum sanguinolentum</i>	Sapotaceae					
<i>Dicorynia guianensis</i>	Fabaceae					
<i>Eperua falcata</i>	Fabaceae					
<i>Eperua grandiflora</i>	Fabaceae					
<i>Eschweilera sagotiana</i>	Lecythidaceae					
<i>Goupia glabra</i>	Goupiaceae					
<i>Gustavia hexapetala</i>	Lecythidaceae					
<i>Iryanthera sagotiana</i>	Myristicaceae					
<i>Lecythis poiteauii</i>	Lecythidaceae					
<i>Licania membranacea</i>	Chrysobalanaceae					
<i>Manilkara bidentata</i>	Sapotaceae					
<i>Pradosia cochlearia</i>	Sapotaceae					
<i>Protium opacum</i>	Burseraceae					
<i>Protium sagotianum</i>	Burseraceae					
<i>Protium subserratum</i>	Burseraceae					
<i>Qualea rosea</i>	Vochysiaceae					
<i>Symphonia sp1</i>	Clusiaceae					
<i>Tachigali melinonii</i>	Fabaceae					
<i>Virola michelii</i>	Myristicaceae					

Abbreviations are presented in Table 1

Safety margin

In testing correlation with the vulnerability segmentation, we calculated different safety margins (Choat *et al.* 2012; Blackman, Li, *et al.* 2019). We considered two stomatal-hydraulic safety margin (MPa) as $\Psi_{tip}-P_{88,stem}$ and $\Psi_{tip}-P_{88,leaf}$ (Table 1). We considered two hydraulic safety margin (MPa) as $\Psi_{md}-P_{88,stem}$ and $\Psi_{md}-P_{88,leaf}$ (Table 1). We considered the stomatal safety margin (MPa) as $\Psi_{md}-\Psi_{tip}$ (Table 1).

Statistical analyses

All statistical analyses were performed with the R software (<http://CRAN-R-project.org>). For the trait-by-trait analysis, we used SMA (Standardised Major Axis regression; Warton *et al.* 2006), which allows measurement of the error on both *x*-axis and *y*-axis (Harvey and Pagel 1991), with the R package SMATR (Falster *et al.* 2006). Comparison tests were conducted with Student's, Welch's, or Mann-Whitney-Wilcoxon's test, depending on the parameters of the samples (effectives, normality of distribution, variance).

RESULTS

Effect of segmentation on t_{crit}

For species exhibiting a positive vulnerability P_{88} -segmentation, there was a significant difference between t_{crit_seg} and t_{crit_noseg} (Fig. 1; $P < 0.001$), with a mean of 232.8 hrs.VPD and 10.28 hrs.VPD respectively.

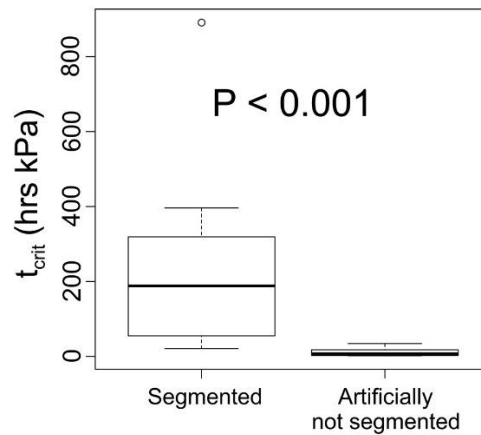


Fig. 1. Comparison for shoot desiccation time between positively ($P_{88,leaf} > P_{88,stem}$) segmented species and the same species but artificially not segmented ($P_{88,leaf}$ is set as equal $P_{88,stem}$ for each species). All abbreviations are presented in Table 1.

When considering all species, positively ($P_{50,leaf} > P_{50,stem}$ or $P_{88,leaf} > P_{88,stem}$) and negatively ($P_{50,leaf} < P_{50,stem}$ or $P_{88,leaf} < P_{88,stem}$) segmented, t_{crit} was positively related to the degree of P_{88} segmentation (Fig. 2a; $P < 0.001$; $R^2 = 0.721$) as well as the degree of P_{50} segmentation (Fig. 2b; $P < 0.001$; $R^2 = 0.533$), such that a high positive segmentation degree was associated with a high shoot desiccation time. t_{crit} was also positively related to the stomatal-hydraulic safety margin when considering both $P_{88,stem}$ (Fig. 2c; $P < 0.001$; $R^2 = 0.685$) and $P_{50,stem}$ (Fig. 2d; $P < 0.001$; $R^2 = 0.459$), such that a high safety margin was associated with a high shoot desiccation time.

For species exhibiting a positive vulnerability segmentation, there was a significant difference between $P_{88,leaf}$ and $P_{88,stem}$ across species (Fig. 3a; $P < 0.01$), with a mean of -3.85 MPa and -5.71 MPa respectively. There was no significant difference between g_{min} and g_{bark} (Fig. 3b; $P = 0.492$), with a mean of 4.79 $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and 4.41 $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ respectively. There was a significant difference between A_{leaf} and A_{bark} (Fig. 3c; $P < 0.001$), with a mean of 507.7 cm^2 and 15.2 cm^2 respectively. There was a significant difference between leaf transpiration ($g_{min} * A_{leaf}$) and bark transpiration ($g_{bark} * A_{bark}$; Fig. 3d; $P < 0.001$), with a mean of 5.258 mmol s^{-1} and 0.109 mmol s^{-1} respectively. There was a significant difference between shoot capacity ($W_{ft,stem} * V_{stem} + W_{tp,leaf} * A_{leaf}$; mmol MPa^{-1}) per evaporative surface ($A_{leaf} + A_{bark}$)

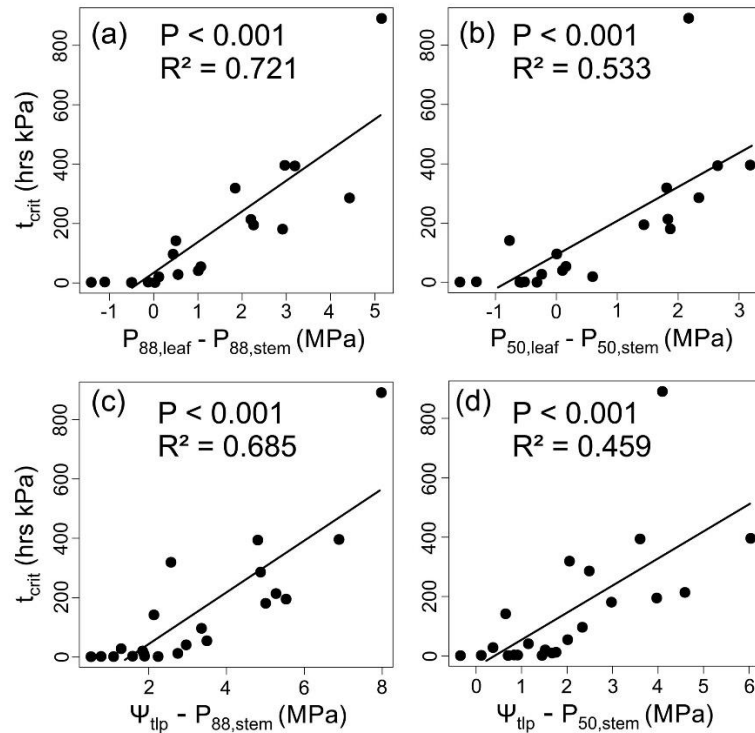


Fig. 2. Relationships between shoot desiccation time and vulnerability segmentations. (a) Shoot desiccation time according to P_{88} segmentation for all species. (b) Shoot desiccation time according to P_{50} segmentation for all species. Shoot desiccation time according to the stomatal-hydraulic safety margin ($\Psi_{\text{tlp}} - P_{88,\text{stem}}$) for all species. (d) Shoot desiccation time according to the stomatal-hydraulic safety margin ($\Psi_{\text{tlp}} - P_{50,\text{stem}}$) for all species. All abbreviations are presented in Table 1.

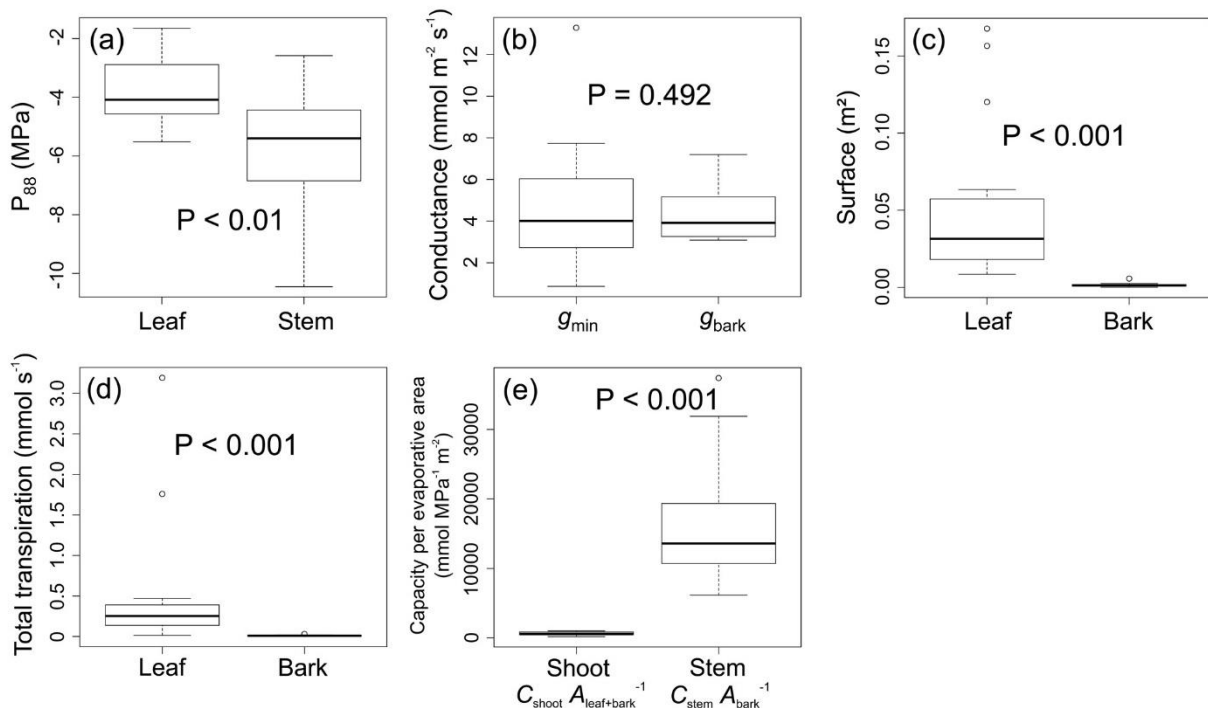


Fig. 3. Leaf-stem comparison in traits underlying vulnerability segmentation. (a) Comparison in P_{88} between leaf and stem across species. (b) Comparison in minimum conductance between leaf (g_{min}) and bark (g_{bark}) across species. (c) Comparison in surface area between leaves and bark across species. (d) Comparison between total transpiration between leaves and bark across species. (e) Comparison in capacity per evaporative area between the entire shoot (leaf + stem) and stem only. All abbreviations are presented in Table 1.

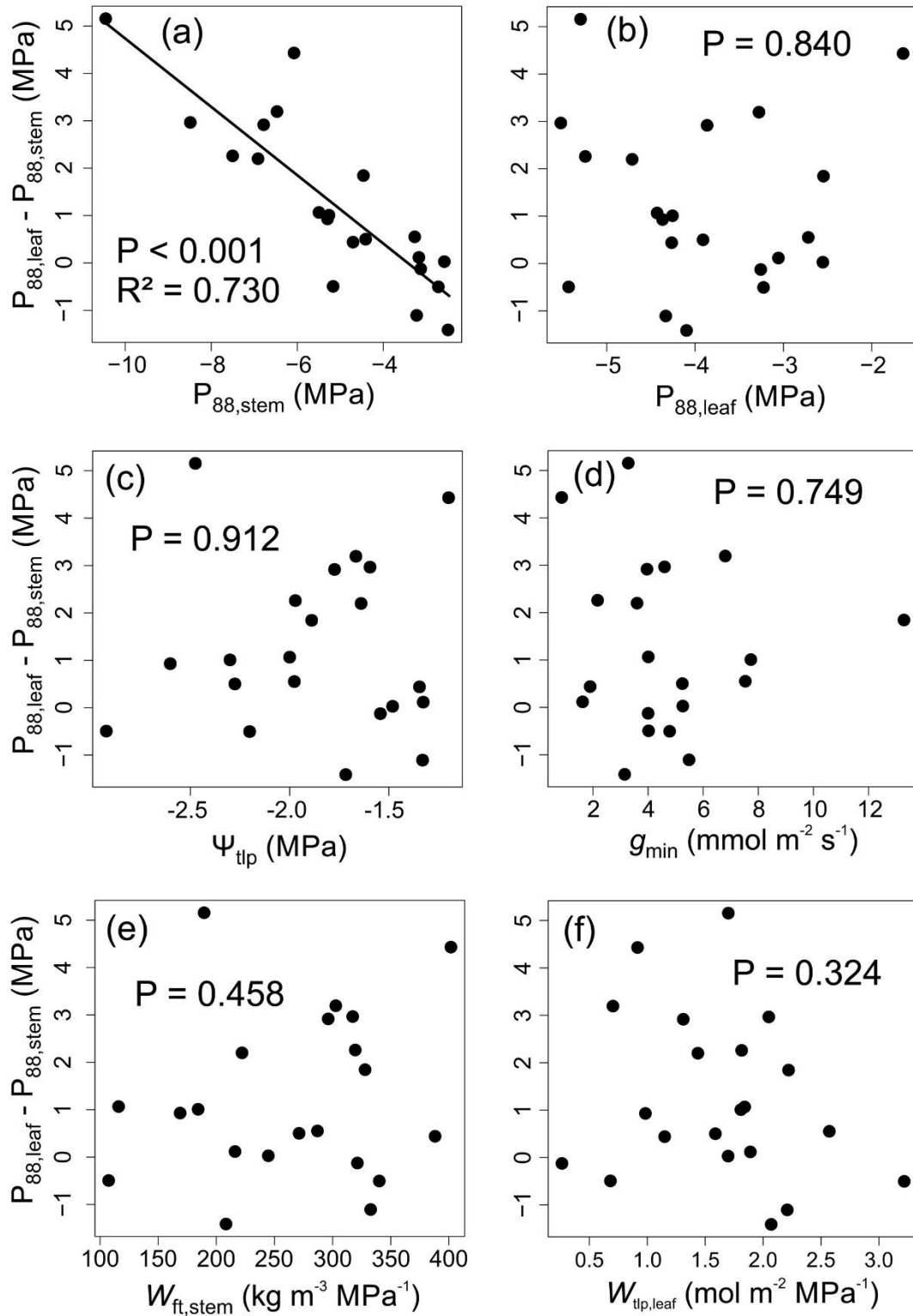


Fig. 4. Relationships between vulnerability segmentation and main drought resistance traits. (a) P_{88} vulnerability segmentation according to $P_{88,stem}$. (b) P_{88} vulnerability segmentation according to $P_{88,leaf}$. (c) P_{88} vulnerability segmentation according to the turgor loss point. (d) P_{88} vulnerability segmentation according to the minimum leaf conductance. (e) P_{88} vulnerability segmentation according to the estimated stem capacitance at full turgor. (f) P_{88} vulnerability segmentation according to the leaf capacitance after turgor loss point. All abbreviations are presented in Table 1.

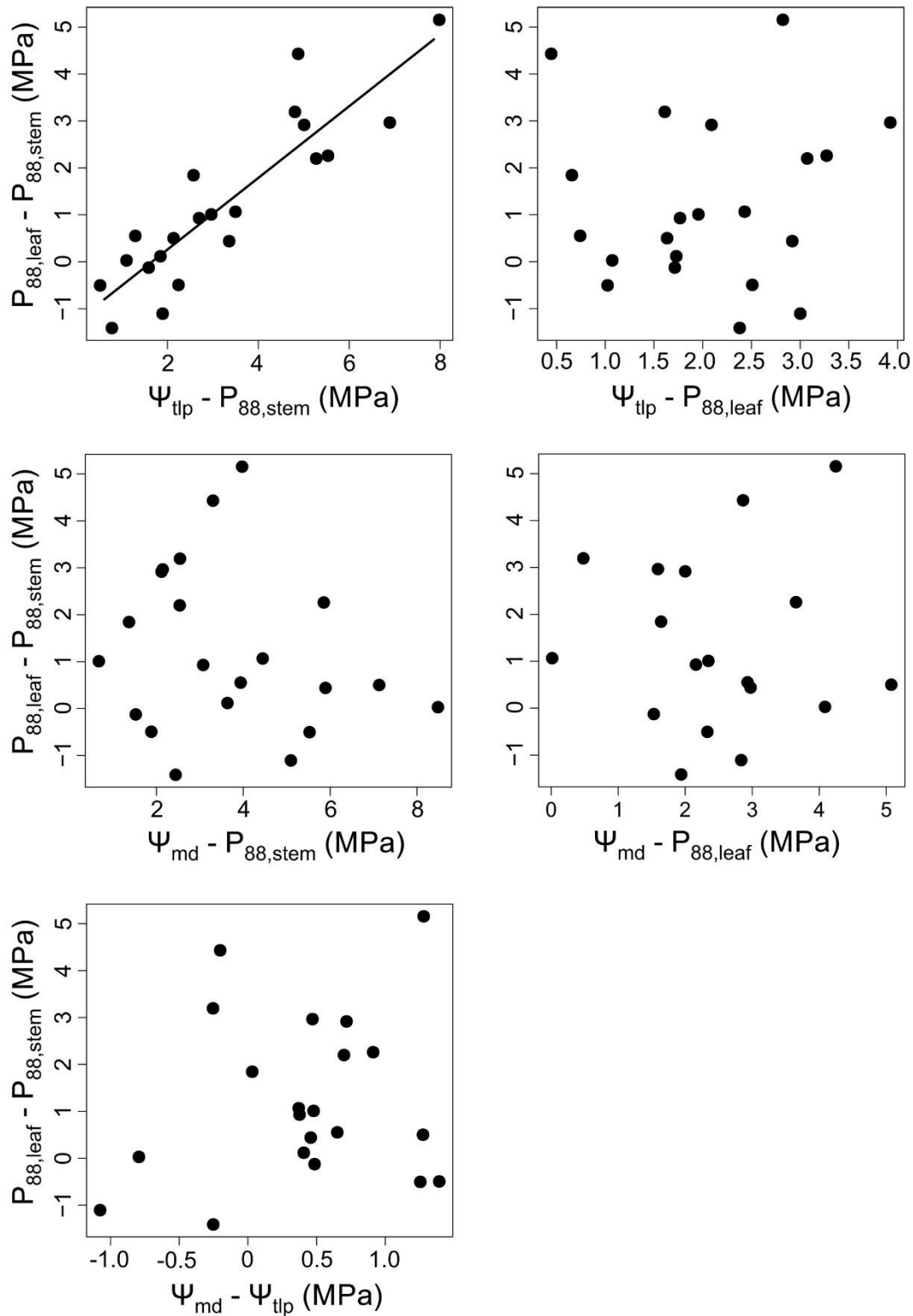


Fig. 5. Relationships between vulnerability segmentation and safety margins. (a) $P_{88,leaf} - P_{88,stem}$ according to the stomatal-hydraulic $P_{88,stem}$ safety margin ($\Psi_{tlp} - P_{88,stem}$). (b) $P_{88,leaf} - P_{88,stem}$ according to the stomatal-hydraulic $P_{88,leaf}$ safety margin ($\Psi_{tlp} - P_{88,leaf}$). (c) $P_{88,leaf} - P_{88,stem}$ according to the hydraulic $P_{88,stem}$ safety margin ($\Psi_{md} - P_{88,stem}$). (d) $P_{88,leaf} - P_{88,stem}$ according to the hydraulic $P_{88,leaf}$ safety margin ($\Psi_{md} - P_{88,leaf}$). (e) $P_{88,leaf} - P_{88,stem}$ according to the leaf hydraulic safety margin ($\Psi_{md} - \Psi_{tlp}$). All abbreviations are presented in Table 1.

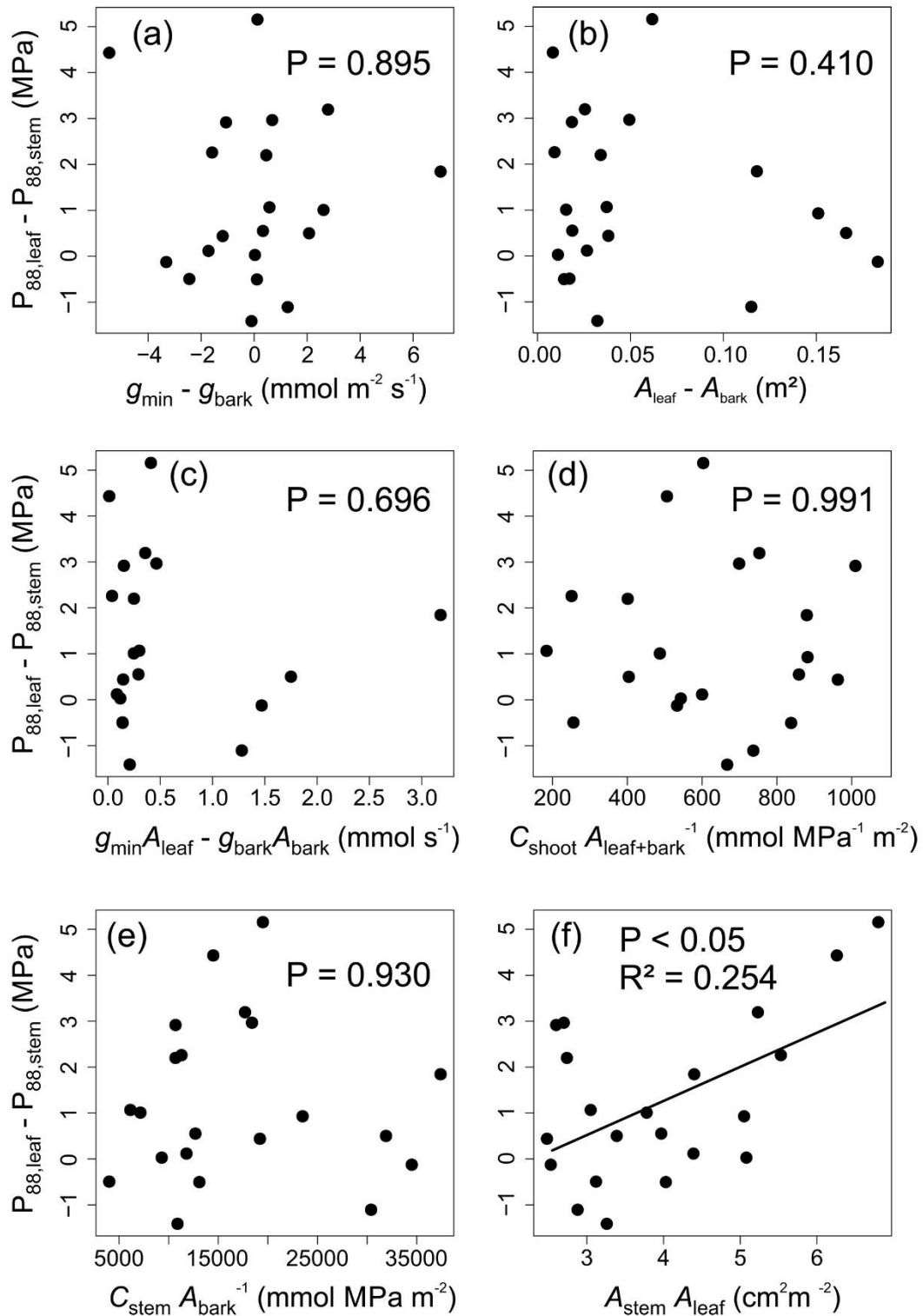


Fig. 6. Relationships between vulnerability segmentation and leaf-stem difference in structures and functions. (a) P_{88} vulnerability segmentation according to the leaf-bark difference in minimum conductance ($g_{\min} - g_{\text{bark}}$). (b) P_{88} vulnerability segmentation according to leaf-bark difference in surface area. (c) P_{88} vulnerability segmentation according to the leaf-bark difference in total transpiration. (d) P_{88} vulnerability segmentation according to the total shoot capacity per total evaporative surface area. (e) P_{88} vulnerability segmentation according to the stem capacity per bark area. (f) P_{88} vulnerability segmentation according to the ratio between stem cross-sectional area and shoot leaf area. All abbreviations are presented in Table 1.

and stem capacity ($W_{ft,stem} * V_{stem}$) per bark area (Fig. 3e; $P < 0.001$), such that the total capacity per evaporative surface was higher after leaf embolism.

For species exhibiting a positive vulnerability segmentation, t_{crit_seg} was positively related to the degree of P_{88} segmentation ($P_{88,leaf} - P_{88,stem}$; Fig. S1a; $P < 0.001$), such that a high degree of positive segmentation was associated with a longer shoot desiccation time. For the same species, t_{crit_seg} was not related either with the difference between g_{min} and g_{bark} (Fig. S1b; $P = 0.788$), the difference between A_{leaf} and A_{bark} (Fig. S1c; $P = 0.579$), or the difference between $g_{min} * A_{leaf}$ and $g_{bark} * A_{bark}$ (Fig. S1d; $P = 0.704$). For the same species, t_{crit_seg} was not related either to the total shoot capacity ($W_{ft,stem} * V_{stem} + W_{tp,leaf} * A_{leaf}$; $mmol\ MPa^{-1}$) divided by the total evaporative area ($A_{leaf} + A_{bark}$) (Fig. S1e; $P = 0.740$), or to the stem capacity ($W_{ft,stem} * V_{stem}$; $mmol\ MPa^{-1}$) divided by the bark area (Fig. S1f; $P = 0.269$). However, the Fig. S1f suggested that a long desiccation time cannot be associated with a low stem capacity per bark area. t_{crit_seg} was positively related to the stem cross-sectional area divided by the shoot leaf area (Fig. S1g; $P < 0.05$; $R^2 = 0.267$).

Correlation between segmentation and other drought resistance traits

When considering both positively and negatively segmented species, the degree of P_{88} -segmentation was negatively related to $P_{88,stem}$ (Fig. 4a; Table 3; $P < 0.001$; $R^2 = 0.730$), such that a high positive segmentation was associated with a high stem embolism resistance. The degree of P_{88} segmentation was neither related to $P_{88,leaf}$ (Fig. 4b; Table 3; $P = 0.840$) nor related to Ψ_{tp} (Fig. 4c; Table 3; $P = 0.912$). However, the Fig. 4c suggested that high P_{88} -segmentation degree was not associated with low Ψ_{tp} . The degree of P_{88} segmentation was not related to g_{min} (Fig. 4d; $P = 0.749$). However, the Fig. 4d suggested that high P_{88} -segmentation degree was associated with low g_{min} . The degree of P_{88} segmentation was not related to our estimated $W_{ft,stem}$ (Fig. 4e; Table 3; $P = 0.458$), as also not related to $W_{tp,leaf}$ (Fig. 4f; Table 3; $P = 0.324$).

When considering all species (positively and negatively segmented), the degree of P_{88} segmentation was positively related to the stem stomatal-hydraulic safety margin ($\Psi_{tp} - P_{88,stem}$) (Fig. 5a; Table 3; $P < 0.001$; $R^2 = 0.782$), but not related to the leaf stomatal-hydraulic safety margin ($\Psi_{tp} - P_{88,leaf}$) (Fig. 5b; Table 3; $P = 0.777$). The degree of P_{88} -segmentation was not related to (i) the stem hydraulic safety margin ($\Psi_{md} - P_{88,stem}$) (Fig. 5c; Table 3; $P = 0.379$), (ii) the leaf hydraulic safety margin ($\Psi_{md} - P_{88,leaf}$) (Fig. 5d; Table 3; $P = 0.943$), and (iii) the leaf stomatal safety margin ($\Psi_{md} - \Psi_{tp}$) (Fig. 5e; Table 3; $P = 0.467$).

Table 3. Relationships between vulnerability segmentation (in column) and all drought resistance traits (in lines).

	Species with positive and negative segmentation				Species with positive segmentation only			
	P _{88,leaf} -P _{88,stem}		P _{50,leaf} -P _{50,stem}		P _{88,leaf} -P _{88,stem}		P _{50,leaf} -P _{50,stem}	
	P-value	R ²	P-value	R ²	P-value	R ²	P-value	R ²
P _{88,stem}	< 0.001	0.730	< 0.001	0.595	< 0.001	0.692	< 0.01	0.486
P _{88,leaf}	0.840	0.000	0.766	0.000	0.539	0.000	0.463	0.000
P _{50,stem}	< 0.001	0.530	< 0.001	0.669	< 0.01	0.407	< 0.001	0.612
P _{50,leaf}	0.930	0.000	0.966	0.000	0.739	0.000	0.792	0.000
Ψ _{tlp}	0.912	0.000	0.702	0.000	0.966	0.000	0.623	0.000
g _{min}	0.749	0.000	0.940	0.000	0.527	0.000	0.859	0.000
C _{ft,stem}	0.456	0.000	0.440	0.000	0.378	0.000	0.335	0.000
C _{tlp,leaf}	0.324	0.001	0.339	0.000	0.256	0.026	0.248	0.029
SHSM _{P88,stem}	< 0.001	0.782	< 0.001	0.664	< 0.001	0.738	< 0.001	0.568
SHSM _{P88,leaf}	0.777	0.000	0.599	0.000	0.504	0.000	0.301	0.010
SHSM _{P50,stem}	< 0.001	0.560	< 0.001	0.735	< 0.01	0.411	< 0.001	0.686
SHSM _{P50,leaf}								
HSM _{P88,stem}	0.379	0.000	0.149	0.059	0.147	0.083	< 0.05	0.284
HSM _{P88,leaf}	0.943	0.000	0.400	0.000	0.783	0.000	0.170	0.080
HSM _{P50,stem}	0.710	0.000	0.321	0.002	0.420	0.000	0.088	0.136
HSM _{P50,leaf}	0.883	0.000	0.470	0.000	0.996	0.000	0.317	0.007
HSM _{Ψ_{tlp}}	0.467	0.000	0.730	0.000	0.605	0.000	0.788	0.000
g _{min} -g _{bark}	0.895	0.000	0.769	0.000	0.463	0.000	0.859	0.000
A _{leaf} -A _{bark}	0.410	0.000	0.484	0.000	0.527	0.000	0.726	0.000
g _{min} *A _{leaf} -g _{bark} *A _{bark}	0.696	0.000	0.824	0.000	0.761	0.000	0.961	0.000
Shoot capacity to evaporative surface	0.991	0.000	0.567	0.000	0.994	0.000	0.472	0.000
Stem capacity to bark surface	0.930	0.000	0.979	0.000	0.868	0.000	0.658	0.000
Stem cross-sectional area to leaf area	< 0.05	0.253	0.067	0.122	0.077	0.150	0.339	0.000

Bold values represent significant relationships ($P < 0.05$). All abbreviations are presented in Table 1.

When considering all species (positively and negatively segmented), the degree of P₈₈ segmentation was not related to the difference between g_{min} and g_{bark} (Fig. 6a; Table 3; $P = 0.895$). The degree of P₈₈ segmentation was not related to the difference between A_{leaf} and A_{bark} (Fig. 6b; Table 3; $P = 0.410$). However, the Fig. 6b suggested that high degree of P₈₈-segmentation was not associated with high difference between A_{leaf} and A_{bark}. The degree of P₈₈ segmentation was not related the difference between g_{min}*A_{leaf} and g_{bark}*A_{bark} (Fig. 6c; Table 3; $P = 0.696$). The degree of P₈₈ segmentation was not related to the total shoot capacity ($W_{ft,stem}*V_{stem} + W_{tlp,leaf}*A_{leaf}$) divided by the total evaporative area ($A_{leaf} + A_{bark}$)(Fig. 6d; Table 3; $P = 0.991$), or either to the stem capacity ($W_{ft,stem}*V_{stem}$; mmol MPa⁻¹) divided by the bark area (Fig. 6e; Table 3; $P = 0.930$). The degree of P₈₈ segmentation was positively related to the stem cross-sectional area divided by the shoot leaf area (Fig. 6f; Table 3; $P < 0.05$; R² = 0.254).

DISCUSSION

Our results suggest that the segmentation of vulnerabilities between stems and leaves is a key feature in the desiccation time t_{crit} of leaf shoots, suggesting that vulnerability segmentation can be considered as a drought resistance mechanism. The effect of vulnerability segmentation on t_{crit} is mainly due to the strong difference in leaf area vs. bark area at the shoot level, and not to any difference in leaf vs. bark conductance. Vulnerability segmentation is not related to other drought resistance mechanisms, such as the hydraulic safety margin, turgor loss point, leaf minimum conductance, and capacitance, potentially defining multiple drought resistance strategies at the shoot level. Our results are based on theoretical calculates, and the model assumes that no more water movement occurs from stem to leaf after leaf xylem embolism. Further empirical tests of this assumption are needed, but we argue that omitting to integrate vulnerability segmentation can largely underestimate plant drought resistance assessment.

Leaf-stem vulnerability segmentation is a drought resistance mechanism

If we do not take into account the segmentation of vulnerability in the model for positively segmented species, shoot desiccation time t_{crit} loose one order of magnitude, shifting from 232.8 hrs.VPD to 10.28 hrs.VPD (Fig. 1). Moreover, t_{crit} was strongly related to the $P_{88,\text{leaf}} - P_{88,\text{stem}}$ segmentation degree, for both when only considering positively segmented species, and when considering all species (Fig. 2a; S1a). This finding strongly suggests that leaf-stem vulnerability segmentation can be a strong determinant of shoot drought resistance quantified as desiccation time. This finding is in agreement with Blackman, Li, *et al.* (2019), who found a relationship between the leaf-stem segmentation degree and observed t_{crit} across 8 *Eucalyptus* species in a controlled experiment. Furthermore, the degree of vulnerability segmentation seems to be a stronger driver of t_{crit} than the stomatal-hydraulic safety margin (SHSM; $\Psi_{\text{tlp}} - P_{\text{crit,stem}}$) in the context of our study (Fig. 2c,d). This finding is also in agreement with Blackman, Li, *et al.* (2019), who also found a higher coefficient of determination for $P_{50,\text{leaf}} - P_{50,\text{stem}}$ than SHSM for predicting their observed t_{crit} . SHSM is an important drought resistance parameter, as it defines the complete phase of drought stress, from stomatal closure to plant death, reflecting the water potential drop the plant is able to sustain. SHSM has already been shown to directly determine desiccation time in other studies, either based on the integrative SurEau model (Martin-StPaul *et al.* 2017), or based on observations of desiccation time in controlled conditions (Blackman, Creek, *et al.* 2019). All these elements suggest that vulnerability segmentation can be an independant drought resistance mechanism as is SHSM.

We argue that future trait-based assessment of plant drought resistance should incorporate measurements of both $P_{50,\text{leaf}}$ and $P_{50,\text{stem}}$. Omitting $P_{50,\text{leaf}}$ and assuming no vulnerability segmentation can lead to strong underestimation of plant drought resistance. This can be an issue if such hydraulic trait data are used in vegetation prediction models. However, future works are still needed to fully characterise vulnerability segmentation, desiccation time, and drought resistance together, in a long-term perspective. Indeed, the way we consider drought resistance is a maximisation of survival during a given water shortage, e.g. an exceptional long dry season. But maximisation of desiccation time through vulnerability segmentation comes at the cost of the functional crown, and carbon uptake. Relying repeatedly on vulnerability segmentation in front of exceptional events should deplete carbon reserves for instance. Overall, the resilience of trees and forests in the perspective of repetitive drought stress in time is particularly unknown.

Future directions should also alleviate the assumptions on which our model is based. First of all, the model assumes that after leaf xylem embolism, no more water transport occurs from stem to leaf. This assumption defines the abrupt loss of total evaporative surface after leaf embolism, shifting from shoot leaf area *plus* bark area, to bark area alone. This assumption directly determines the effectiveness of the model to extent t_{crit} for positively segmented species. Therefore, if this assumption is wrong, t_{crit} is probably critically overestimated. To our knowledge, no study has monitored the water mass loss of a shoot or a branch before and after leaf embolism, or leaf shedding. It is probable that, even if leaf transpiration is strongly reduced after leaf embolism, some remaining water losses occur at the leaf level. Scoffoni, Albuquerque, *et al.* (2017) suggest that the leaf outside-xylem compartment has almost totally lost hydraulic conductance with dehydration when leaf xylem embolism starts. This means that the outside-xylem compartment would suffer from water deficit. In addition with the closed dry atmosphere, this can drive water vapour movement from leaf xylem vessels to the atmosphere, especially if pit membranes are shrunken with dehydration. For instance Wolfe *et al.* (2016) have shown for one species on six, that leaf shedding was not associated with a protection against water potential drop in a tropical dry forest. Then, future directions should monitor total transpiration flow of shoot or a branch, over desiccation time, and empirically assess if the hypothesised mechanism behind segmentation (reduction of the evaporative surface thanks to leaf embolism) is true.

Second, the model assumes that $P_{\text{crit,leaf}}$ is homogenous across leaves within the shoot, and consequently that all leaves embolise together. However, it seems more probable that $P_{\text{crit,leaf}}$ exhibits a certain degree of variation within a species, a crown, or a shoot. For instance

Hochberg *et al.* (2017) have shown that old leaves are more vulnerable than young leaves for vines. Third, the loss of evaporative surface, either driven by leaf embolism or leaf shedding, can be progressive and gradual in space and time, rather than sudden as assumed by the model. This has been shown for leaf shedding by Blackman, Li, *et al.* (2019), and for leaf shedding mediated by vulnerability segmentation by Hochberg *et al.* (2017). Not taking such progressive loss of evaporative surface in our model should overestimate t_{crit} , however this should come at the benefit of the plant carbon balance. Then, future investigations should (i) try to quantify intra-branch or intra-crown $P_{50,leaf}$ variability, and (ii) to monitor the dynamic of leaf embolism or shedding over time, and its impact on desiccation time across species for instance.

Why leaf-stem vulnerability segmentation is effective?

In its first enunciation (Tyree and Ewers 1991; Tyree and Zimmermann 2002), vulnerability segmentation was thinking as a mechanism enabling to preserve expansive and perennial organs such as stems and trunk. One implicit implication of the preservation of perennial organs is that survival time is enhanced. The further metaphor of “safety valves”, or “safety fuse” has more explicitly presented the VSH as a potential mechanism related to drought resistance (Chen *et al.* 2009, 2010). As the transpiration flow is directly proportional to the leaf area, diminishing the evaporative leaf area by “cracking up” the water column in leaves can alleviate the water potential drop during a drought.

When only considering positively segmented species, leaf xylem is more vulnerable to embolism than stem xylem across species (Fig. 3a). Moreover, the segmentation degree $P_{88,leaf} - P_{88,stem}$ is directly related to t_{crit} (Fig. 2a; S1a). At the shoot level, the shoot leaf area is 30-fold higher than the stem bark area (Fig. 3c). However, there is no difference between leaf minimum conductance and bark conductance (Fig. 3b). The difference between leaf and bark surface is sufficient to drive a different overall transpiration rate (mmol s^{-1}) between the leaf compartment and the bark compartment at the shoot level (Fig. 3d). Even if the difference in surface or transpiration rate between leaf and bark are not directly related to t_{crit} (Fig. S1c,d), these findings suggest that the effect of vulnerability segmentation on t_{crit} is firstly driven by the difference in evaporative surface between leaf and bark, and not any difference in conductance.

Contrary to some expectations, g_{bark} is not particularly low, as it is not different from g_{min} , with a mean of $4.41 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. This is comparable to the g_{min} mean of $4.9 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ found by Duursma *et al.* (2019) across 221 species based on a meta-analysis. This is also in agreement with g_{bark} measurements of Wittmann and Pfanz (2008) for 5 temperate European species. On the one hand, at the shoot level as our study, bark surface represents a small fraction

of the total evaporative surface. However, for higher structural levels (i.e. branch, trunk), the leaf area to bark area ratio may decrease, as the leaf area to stem volume ratio generally decreases (Scholz *et al.* 2011). At these levels, bark area in combination with g_{bark} may drive a larger fraction of the total plant transpiration (g s^{-1}), further playing a more important role on t_{crit} . On the other hand, g_{bark} may be prone to dramatic ontogenetic effects with secondary growth (Lendzian 2006). Our g_{bark} measurements were based on relatively young stems, of ~0.5-to-1-cm diameter. At this stage, the bark is relatively thin, even still green and poorly lignified for some species. As the tree grows in diameter, the cortex and the periderm also get thicker. Therefore, for large trees, lower g_{bark} may alleviate the effect of bark transpiration on t_{crit} despite larger bark surface. Future directions should integrate g_{bark} measurements, as also potential ontogenetic effects, and assess the sensitivity of the model to these parameters (g_{bark} ; A_{leaf} to A_{bark} ratio) when scaling up, from shoot to branch and to tree levels.

The hydraulic capacity C (kg MPa^{-1}) expresses the capacity of a given structure (e.g. leaves, stem, shoot) to release water per unit of water potential drop. Then, the capacity expressed per unit of evaporative surface is a more integrated trait reflecting the water source-to-sink balance of a structure per unit of water potential drop. Under the assumption that leaf embolism occurs suddenly for all leaves, leaf embolism triggers an instantaneous increasing shift in the shoot capacity per evaporative surface by ~2 orders of magnitude (Fig. 3e).

However, the shoot capacity or the stem capacity expressed per evaporative surface is not related to t_{crit} , despite a 7-to-8-fold variation in these parameters (Fig. S1e,f). This finding suggests a relatively poor role of capacitance in controlling t_{crit} at the shoot level. Indeed, at the shoot level, stem volume, and thus the total stored water volume, are critically low. It is well known that stem volume and total stem water content to leaf area ratio increase with plant size (Scholz *et al.* 2011). Therefore, the role of capacitance and water reservoirs in controlling t_{crit} should be more important for higher levels, such as adult canopy trees for which wood volume is several cubic meters. Moreover, in the model, we considered the shoot as hydraulically independent and closed from the rest of the tree, whereas capacitive effects of older and larger stems upstream of the shoot may have role in supplying water to the shoot, then extending the shoot desiccation time.

The results presented in Fig. 3 confirm the precise mechanisms by which vulnerability segmentation can potentially strongly extend shoot desiccation time. If we assume that leaves are no more evaporative after leaf embolism, the total evaporative surface is reduced to the bark area, driving a drastically reduced total evaporative flow. Moreover, even if leaves display a certain capacitance, the total capacity per evaporative area is far higher after leaf embolism.

Vulnerability segmentation relation to the other drought resistance mechanisms

Overall, vulnerability segmentation is not related to the other drought resistance traits in the context of our study (Fig. 4,5,6; Table 3). Among all the studied traits (leaf and stem embolism resistance, Ψ_{tlp} , g_{min} , leaf and stem capacitance, SHSM, HSM), vulnerability segmentation is only related to $P_{88,\text{stem}}$ and $P_{50,\text{stem}}$, SHSM relative to $P_{88,\text{stem}}$ ($\Psi_{\text{tlp}} - P_{88,\text{stem}}$) and SHSM relative to $P_{50,\text{stem}}$ ($\Psi_{\text{tlp}} - P_{50,\text{stem}}$), and the stem cross-sectional area to leaf area ratio ($A_s:A_l$). However, the relation to stem embolism resistance is evident due to the variation in stem embolism resistance being stronger than the variation in leaf embolism resistance, further controlling for the variation in vulnerability segmentation. Conversely, the variation in Ψ_{tlp} is relatively low, as already discussed by Ziegler *et al.* (2019) for these data. However, in Ziegler *et al.* Ψ_{tlp} was estimated from the relationship between leaf osmotic potential at full turgor and turgor loss point from Bartlett *et al.* (2012), by measuring osmotic potential with an osmometer. In contrast, Ψ_{tlp} was measured from pressure-volume curves in this study. If Ψ_{tlp} values are relatively identical at species level between the two studies, some Ψ_{tlp} values are lower in our study, slightly reducing SHSM for some species (*results not shown*). Thus, the variation in SHSM is firstly controlled by the variation in stem embolism resistance, explaining why vulnerability segmentation is related to SHSM. At least for the investigated species, this finding strengthens the use of stem embolism resistance as a direct proxy of drought resistance, since vulnerability segmentation and SHSM strongly control for shoot desiccation time.

Contrary to Johnson *et al.* (2016), we do not find a relationship between vulnerability segmentation and leaf hydraulic safety margin (HSM; $\Psi_{\text{md}} - P_{88,\text{leaf}}$). However, our result suggests that high positive vulnerability segmentation is not feasible with a high positive leaf HSM, in agreement with the negative relationship found by Johnson *et al.* (2016). The relationship between vulnerability segmentation and leaf HSM assessed by Johnson *et al.* (2016) was based on a compilation of data from 10 studies. For all these studies, it is not leaf xylem embolism resistance that was measured, but the resistance to the loss of leaf conductance incorporating both outside-xylem and xylem pathways. According to the conclusion of Scoffoni, Albuquerque, *et al.* (2017), the $P_{50,\text{leaf}}$ of Johnson *et al.* (2016) is certainly firstly controlled by the loss of conductance of the outside-xylem pathway, thus overestimating $P_{50,\text{leaf}}$ in comparison to our measurements focusing on xylem. This makes the comparison between the study of Johnson *et al.* (2016) and our study weakly valuable.

Vulnerability segmentation is positively coordinated with $A_s:A_l$, maximising drought resistance toward high positive values of segmentation. Indeed, high $A_s:A_l$ reflects a water-

conservative strategy, since it is a structural proxy of the ratio between water transport and storage capacity, and the evaporative demand. This result is partially in agreement with Pivovarov *et al.* (2016) who found a negative relationship between $P_{50,stem}$ and the xylem area to leaf area ratio.

Overall, the findings of a lack of relationship between vulnerability segmentation and other drought resistance traits suggest multiple strategies of drought resistance across species. This is in agreement with Pivovarov *et al.* (2016) and Santiago *et al.* (2018) who also suggested that multiple strategies are possible, by investigating major drought resistance traits, especially $P_{50,stem}$. This is also in agreement with Ziegler *et al.* (2019) who found a lack of coordination between $P_{50,stem}$ and Ψ_{tlp} , based on the same field work of our study but for a more extended dataset. Multiple strategies can be enhanced since the desiccation time model and our study does not integrate rooting depth, which is a major drought resistance trait (Martin-StPaul *et al.* 2017; Brum *et al.* 2017).

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the Paracou research station and CIRAD for field work permission. We thank the climbing team for canopy sampling: Jocelyn Cazal, Valentine Alt, Samuel Council, Anthony Percevaux, and Elodie Courtois. We thank all the technical assistance for field work: Oscar Affholder, Louise Authier, Anne Baranger, Maxime Bellifa, Benoit Burban, Maëlle Cario, Bruno Clair, Maxime Corbin, Elia Dardevet, Emilien Fort, Frederic Fung Fong You, Eva Gril, Thomas Saint-Germain, Ruth Tchana Wandji. We thank Hervé Cochard for discussions and suggestions on this work.

S.L. was supported by a doctoral fellowship from CEBA. This study benefited from an *Investissement d'Avenir* grant managed by the *Agence Nationale de la Recherche* (CEBA, ref. ANR-10-LABX-0025).

LITERATURE CITED

- Allen CD, Macalady AK, Chenchouni H, *et al.* 2010. A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests. *Forest Ecology and Management* **259**: 660–684.
- Bartlett, Klein, Jansen, Choat, Sack L. 2016. The correlations and sequence of plant stomatal, hydraulic, and wilting responses to drought. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **113**: 13098–13103.
- Bartlett MK, Scoffoni C, Ardy R, *et al.* 2012. Rapid determination of comparative drought tolerance traits: using an osmometer to predict turgor loss point. *Methods in Ecology and Evolution* **3**: 880–888.
- Blackman CJ, Creek D, Maier C, *et al.* 2019. Drought response strategies and hydraulic traits contribute to mechanistic understanding of plant dry-down to hydraulic failure. *Tree Physiology*.
- Blackman CJ, Li X, Choat B, *et al.* 2019. Desiccation time during drought is highly predictable across species of Eucalyptus from contrasting climates. *New Phytologist* **0**.
- Blackman CJ, Pfautsch S, Choat B, Delzon S, Gleason SM, Duursma RA. 2016. Toward an index of desiccation time to tree mortality under drought. *Plant, Cell & Environment* **39**: 2342–2345.
- Brienen RJW, Phillips OL, Feldpausch TR, *et al.* 2015. Long-term decline of the Amazon carbon sink. *Nature* **519**: 344–348.
- Brodribb TJ, Bienaimé D, Marmottant P. 2016. Revealing catastrophic failure of leaf networks under stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **113**: 4865–4869.
- Brodribb TJ, Cochard H. 2009. Hydraulic Failure Defines the Recovery and Point of Death in Water-Stressed Conifers. *Plant Physiology* **149**: 575–584.
- Brodribb TJ, Holbrook NM, Edwards EJ, Gutiérrez MV. 2003. Relations between stomatal closure, leaf turgor and xylem vulnerability in eight tropical dry forest trees. *Plant, Cell & Environment* **26**: 443–450.
- Brodribb TJ, Skelton RP, McAdam SAM, Bienaimé D, Lucani CJ, Marmottant P. 2016. Visual quantification of embolism reveals leaf vulnerability to hydraulic failure. *New Phytologist* **209**: 1403–1409.
- Brum M, Teodoro GS, Abrahão A, Oliveira RS. 2017. Coordination of rooting depth and leaf hydraulic traits defines drought-related strategies in the campos rupestres, a tropical montane biodiversity hotspot. *Plant and Soil* **420**: 467–480.
- Charrier G, Torres-Ruiz JM, Badel E, *et al.* 2016. Evidence for hydraulic vulnerability segmentation and lack of xylem refilling under tension. *Plant Physiology*: pp.01079.2016.
- Chen J-W, Zhang Q, Li X-S, Cao K-F. 2009. Independence of stem and leaf hydraulic traits in six Euphorbiaceae tree species with contrasting leaf phenology. *Planta* **230**: 459–468.
- Chen J-W, Zhang Q, Li X-S, Cao K-F. 2010. Gas exchange and hydraulics in seedlings of *Hevea brasiliensis* during water stress and recovery. *Tree Physiology* **30**: 876–885.
- Choat B, Jansen S, Brodribb TJ, *et al.* 2012. Global convergence in the vulnerability of forests to drought. *Nature* **491**: 752–755.
- Duffy PB, Brando P, Asner GP, Field CB. 2015. Projections of future meteorological drought and wet periods in the Amazon. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **112**: 13172–13177.
- Duursma RA, Blackman CJ, López R, Martin-StPaul NK, Cochard H, Medlyn BE. 2019. On the minimum leaf conductance: its role in models of plant water use, and ecological and environmental controls. *New Phytologist* **221**: 693–705.
- Esquivel-Muelbert A, Baker TR, Dexter KG, *et al.* 2019. Compositional response of Amazon forests to climate change. *Global Change Biology* **25**: 39–56.
- Falster DS, Warton DI, Wright II. 2006. User's guide to SMATR: Standardised Major Axis Tests & Routines Version 2.0, Copyright 2006. *R instructions*.
- Gourlet-Fleury S, Guehl JM, Laroussine O. 2004. *Ecology and management of a neotropical rainforest : lessons drawn from Paracou, a long-term experimental research site in French Guiana*. Paris: Elsevier.
- Harvey PH, Pagel MD. 1991. *The comparative method in evolutionary biology*. Oxford University Press.
- Hochberg U, Albuquerque C, Rachmilevitch S, *et al.* 2016. Grapevine petioles are more sensitive to drought induced embolism than stems: evidence from in vivo MRI and microcomputed tomography observations of hydraulic vulnerability segmentation. *Plant, Cell & Environment* **39**: 1886–1894.
- Hochberg U, Windt CW, Ponomarenko A, *et al.* 2017. Stomatal Closure, Basal Leaf Embolism, and Shedding Protect the Hydraulic Integrity of Grape Stems. *Plant Physiology* **174**: 764–775.
- Johnson DM, Wortemann R, McCulloh KA, *et al.* 2016. A test of the hydraulic vulnerability segmentation hypothesis in angiosperm and conifer tree species. *Tree Physiology* **36**: 983–993.
- Jupa R, Plavcová L, Gloser V, Jansen S. 2016. Linking xylem water storage with anatomical parameters in five temperate tree species. *Tree Physiology* **36**: 756–769.
- Klepsch M, Zhang Y, Kotowska MM, *et al.* 2018. Is xylem of angiosperm leaves less resistant to embolism than branches? Insights from microCT, hydraulics, and anatomy. *Journal of Experimental Botany* **69**: 5611–5623.

- Koide RT, Robichaux RH, Morse SR, Smith CM. 1989.** Plant water status, hydraulic resistance and capacitance In: Pearcy RW, Ehleringer JR, Mooney HA, Rundel PW, eds. *Plant Physiological Ecology: Field methods and instrumentation*. Dordrecht: Springer Netherlands, 161–183.
- Lendzian KJ. 2006.** Survival strategies of plants during secondary growth: barrier properties of phellements and lenticels towards water, oxygen, and carbon dioxide. *Journal of Experimental Botany* **57**: 2535–2546.
- Li S, Feifel M, Karimi Z, Schuldt B, Choat B, Jansen S. 2016.** Leaf gas exchange performance and the lethal water potential of five European species during drought. *Tree Physiology* **36**: 179–192.
- Martin-StPaul N, Delzon S, Cochard H. 2017.** Plant resistance to drought depends on timely stomatal closure. *Ecology Letters* **20**: 1437–1447.
- Mcculloh KA, Johnson DM, Meinzer FC, Voelker SL, Lachenbruch B, Domec J-C. 2012.** Hydraulic architecture of two species differing in wood density: opposing strategies in co-occurring tropical pioneer trees. *Plant, Cell & Environment* **35**: 116–125.
- Mcculloh KA, Johnson DM, Meinzer FC, Woodruff DR. 2014.** The dynamic pipeline: hydraulic capacitance and xylem hydraulic safety in four tall conifer species. *Plant, Cell & Environment* **37**: 1171–1183.
- McDowell N, Allen CD, Anderson-Teixeira K, et al. 2018.** Drivers and mechanisms of tree mortality in moist tropical forests. *New Phytologist* **219**: 851–869.
- Pivovarov AL, Cook VMW, Santiago LS. 2018.** Stomatal behaviour and stem xylem traits are coordinated for woody plant species under exceptional drought conditions. *Plant, Cell & Environment* **41**: 2617–2626.
- Pivovarov AL, Pasquini SC, Guzman D, et al. 2016.** Multiple strategies for drought survival among woody plant species. *Functional Ecology* **30**: 517–526.
- Resco V, Ewers BE, Sun W, Huxman TE, Weltzin JF, Williams DG. 2009.** Drought-induced hydraulic limitations constrain leaf gas exchange recovery after precipitation pulses in the C3 woody legume, *Prosopis velutina*. *New Phytologist* **181**: 672–682.
- Richards AE, Wright IJ, Lenz TI, Zanne AE. 2014.** Sapwood capacitance is greater in evergreen sclerophyll species growing in high compared to low-rainfall environments. *Functional Ecology* **28**: 734–744.
- Rodriguez-Dominguez CM, Buckley TN, Egea G, et al. 2016.** Most stomatal closure in woody species under moderate drought can be explained by stomatal responses to leaf turgor. *Plant, Cell & Environment* **39**: 2014–2026.
- Rodriguez-Dominguez CM, Murphy MRC, Lucani C, Brodribb TJ. 2018.** Mapping xylem failure in disparate organs of whole plants reveals extreme resistance in olive roots. *New Phytologist* **218**: 1025–1035.
- Santiago LS, Bonal D, De Guzman ME, Ávila-Lovera E. 2016.** Drought Survival Strategies of Tropical Trees In: Goldstein G, Santiago LS, eds. *Tree Physiology. Tropical Tree Physiology: Adaptations and Responses in a Changing Environment*. Cham: Springer International Publishing, 243–258.
- Santiago LS, Guzman MED, Baraloto C, et al. 2018.** Coordination and trade-offs among hydraulic safety, efficiency and drought avoidance traits in Amazonian rainforest canopy tree species. *New Phytologist* **218**: 1015–1024.
- Scholz FG, Phillips NG, Bucci SJ, Meinzer FC, Goldstein G. 2011.** Hydraulic Capacitance: Biophysics and Functional Significance of Internal Water Sources in Relation to Tree Size In: Meinzer FC, Lachenbruch B, Dawson TE, eds. *Tree Physiology. Size- and Age-Related Changes in Tree Structure and Function*. Dordrecht: Springer Netherlands, 341–361.
- Scoffoni C, Albuquerque C, Brodersen C, et al. 2017.** Outside-xylem vulnerability, not xylem embolism, controls leaf hydraulic decline during dehydration. *Plant Physiology*: pp.01643.2016.
- Scoffoni C, Sack L, Ort D. 2017.** The causes and consequences of leaf hydraulic decline with dehydration. *Journal of Experimental Botany* **68**: 4479–4496.
- Skelton RP, Brodribb TJ, Choat B. 2017.** Casting light on xylem vulnerability in an herbaceous species reveals a lack of segmentation. *New Phytologist* **214**: 561–569.
- Skelton RP, Dawson TE, Thompson SE, Shen Y, Weitz AP, Ackerly D. 2018.** Low Vulnerability to Xylem Embolism in Leaves and Stems of North American Oaks. *Plant Physiology* **177**: 1066–1077.
- Sperry JS. 2004.** Coordinating stomatal and xylem functioning – an evolutionary perspective. *New Phytologist* **162**: 568–570.
- Tyree MT, Ewers FW. 1991.** The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *New Phytologist* **119**: 345–360.
- Tyree MT, Sperry JS. 1989.** Vulnerability of Xylem to Cavitation and Embolism. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **40**: 19–36.
- Tyree MT, Zimmermann MH. 2002.** *Xylem Structure and the Ascent of Sap*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- Urli M, Porté AJ, Cochard H, Guengant Y, Burrett R, Delzon S. 2013.** Xylem embolism threshold for catastrophic hydraulic failure in angiosperm trees. *Tree Physiology* **33**: 672–683.
- Voltaire F. 2018.** A unified framework of plant adaptive strategies to drought: Crossing scales and disciplines. *Global Change Biology* **24**: 2929–2938.

- Warton DI, Wright IJ, Falster DS, Westoby M. 2006.** Bivariate line-fitting methods for allometry. *Biological Reviews* **81**: 259–291.
- Wittmann C, Pfanz H. 2008.** Antitranspirant functions of stem periderms and their influence on cortical photosynthesis under drought stress. *Trees* **22**: 187–196.
- Wolfe BT, Sperry JS, Kursar TA. 2016.** Does leaf shedding protect stems from cavitation during seasonal droughts? A test of the hydraulic fuse hypothesis. *New Phytologist* **212**: 1007–1018.
- Zhu S-D, Liu H, Xu Q-Y, Cao K-F, Ye Q. 2016.** Are leaves more vulnerable to cavitation than branches? *Functional Ecology* **30**: 1740–1744.
- Ziegler C, Coste S, Stahl C, Delzon S, Levionnois S, Cazal J, Cochard H, Esquivel-Muelbert A, Goret J-Y, Heuret P, Jaouen G, Santiago LS, Bonal D. Submitted.** Large hydraulic safety margins protect Neotropical canopy rainforest tree species against hydraulic failure during drought.

SUPPORTING INFORMATION LEGENDS

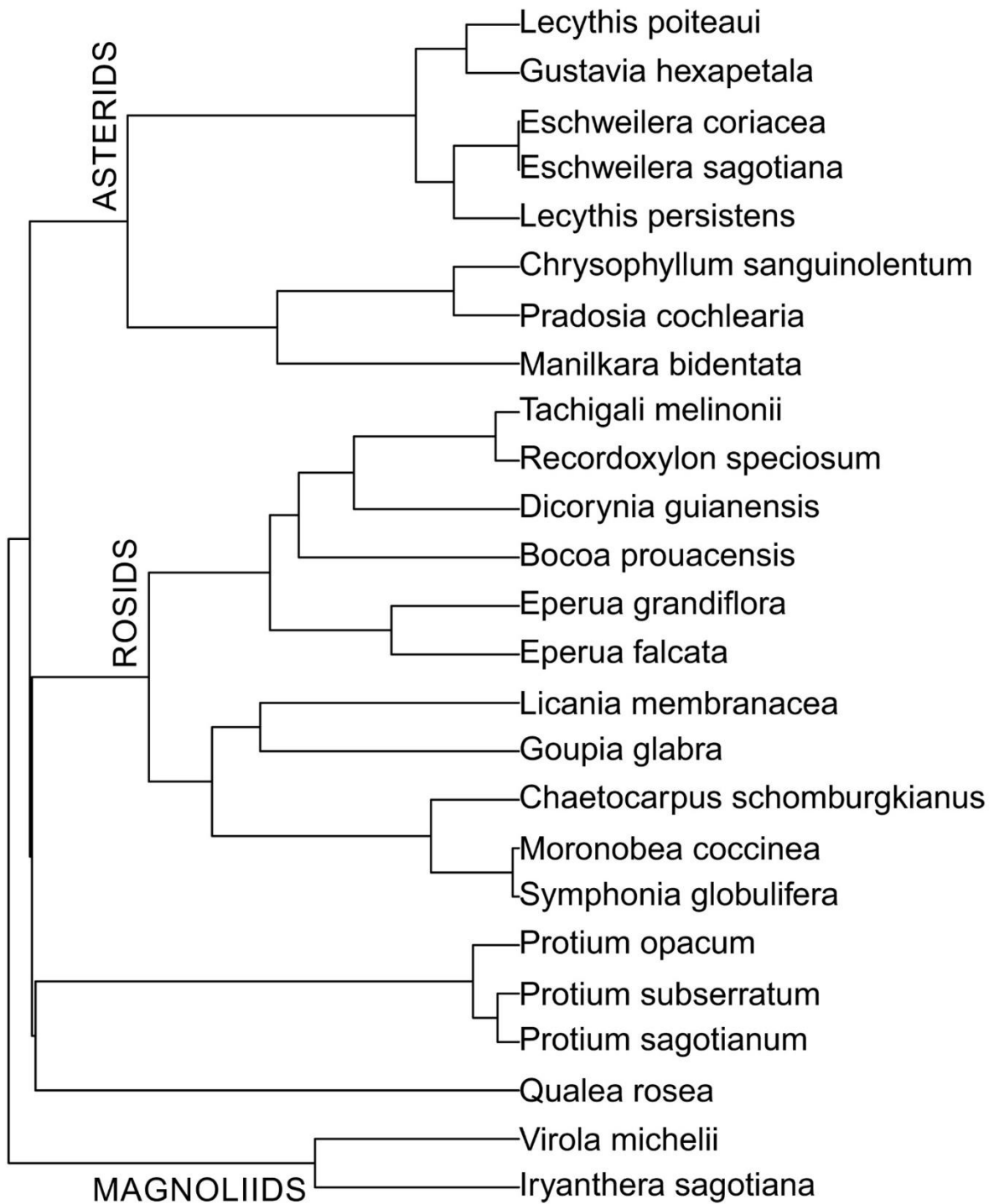


Fig. S1. Phylogenetic tree of studied species.

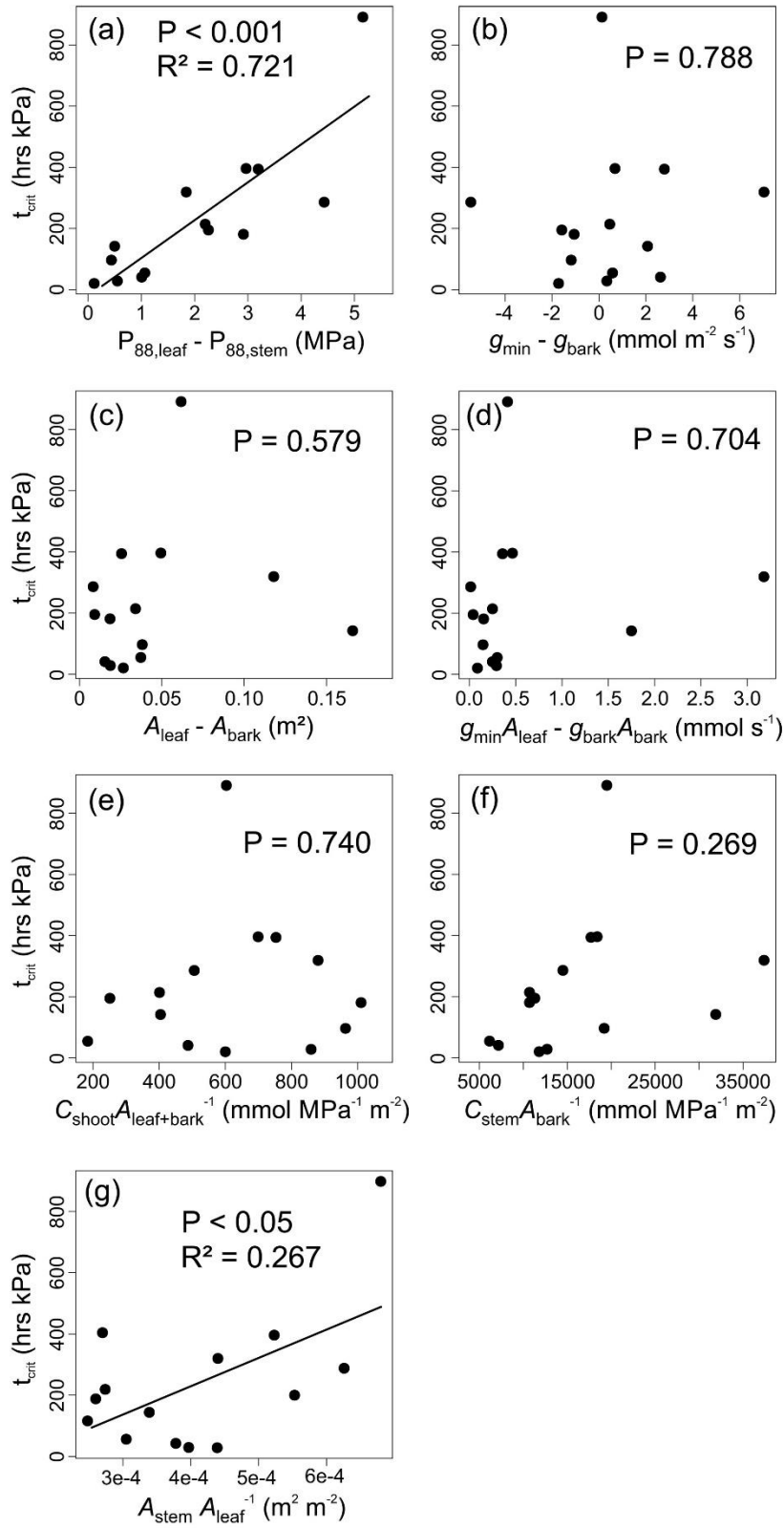


Fig. S2. Relationships between shoot desiccation time and drought resistance traits. (a) Shoot desiccation time according to the P88 vulnerability segmentation. (b) Shoot desiccation time according to the leaf-bark difference in minimum conductance. (c) Shoot desiccation time according to the leaf-bark difference in surface area. (d) Shoot desiccation time according to the leaf-bark difference in evapotranspiration. (e) Shoot desiccation time according to the total shoot capacity per total evaporative surface area. (f) Shoot desiccation time according to the stem capacity per bark area. (g) Shoot desiccation time according to the ratio of the stem cross-sectional area per shoot leaf area. All abbreviations are presented in Table 1.

CHAPITRE 8

Does the anatomical and hydraulic traits of leaves and stems predict the ecology and water-stress impacts on tree growth in a local-scale tropical rainforest?

Chapitre 8

Est-ce que les traits anatomiques et hydrauliques des feuilles et des tiges prédisent l'écologie et l'impact du stress hydrique sur la croissance des arbres en forêt tropicale humide ?

RÉSUMÉ

1. L'écologie fonctionnelle s'intéresse aux traits chez les plantes dont les distributions permettent de caractériser des processus et patrons écologiques, tels que le filtrage environnemental, l'abondance des espèces, et la croissance. Le changement climatique (i) devant impacter ces processus et patrons, et (ii) se matérialisant en un rallongement et une intensification des évènements de sécheresses, il y a nécessité de prédire la réponse des arbres aux stress hydriques. La distribution environnementale de l'eau ayant été montrée comme un déterminant majeur des processus et patrons écologiques, les traits hydrauliques sont fortement attendus comme prédicteur de la réponse des espèces aux gradients environnementaux et aux stress hydriques.

2. Nous avons testé le pouvoir prédictif de traits hydrauliques en forêt tropicale humide à une échelle locale, sur la station de recherche de Paracou, en Guyane française. Nous avons rassemblé un large jeu de données original combinant des traits foliaires et de la tige liés à la fois au transport de l'eau et à la résistance à la sécheresse pour 37 espèces d'arbres de canopée. Les parcelles permanentes de Paracou nous ont permis d'avoir des données sur l'abondance des espèces, la croissance absolue en diamètre, et leur distribution par rapport à la topographie locale. Sur la base d'un travail récent de modélisation à Paracou, nous avons également estimé l'impact du stress hydrique sur la croissance en diamètre de chaque espèce.

3. Les traits hydrauliques sont dans l'ensemble peu prédictifs des processus et patrons écologiques mesurés. Seuls les traits hydrauliques liés au transport de l'eau sont prédictifs de la distribution topographique des espèces. Les traits de résistance à la sécheresse, dont la résistance à l'embolie, ne sont pas prédictifs des processus et patrons écologiques mesurés. Cependant, la surface de la feuille est le meilleur prédicteur de la distribution topographique, ainsi que de l'impact du stress hydrique sur la croissance en diamètre.

4. La dimension de la feuille est théoriquement liée à l'hydraulique de la plante par la contrainte de thermorégulation, les grandes feuilles ayant besoin de plus d'eau due à une couche limite plus épaisse à leur surface. Les raisons potentielles expliquant le faible pouvoir prédictif des traits hydrauliques dans le contexte de cette étude sont discutées.

Mots-clés: arbres tropicaux, traits hydrauliques, résistance à la sécheresse, transport de l'eau, réponse au stress hydrique par la croissance, Paracou.

Chapter 8

Does the anatomical and hydraulic traits of leaves and stems predict the ecology and water-stress impacts on tree growth in a local-scale tropical rainforest?

ABSTRACT

1. Functional ecology seeks for plant traits predictive of ecological processes and patterns, such as environmental filtering, species abundance, and biomass growth. As climate change (i) should impact these processes and patterns, and (ii) materialise as strengthening and lengthening of drought events in tropical areas, there is a need to predict tree response to water stress. As water distribution has been shown to drive ecological processes and patterns, hydraulic traits are strongly expected to predict species response to environmental gradient and water stress.

2. We tested the predictive power of hydraulic traits in a local-scale tropical rainforest, at Paracou, French Guiana. We merged an original extensive dataset combining leaf and stem traits related to both water transport and drought resistance for 37 canopy tree species. Permanent plots at Paracou allowed to derive data on species abundance, absolute diameter-growth rate, and local topographic distribution. Based on a recent modelling work, we estimated the impact of water stress on diameter-growth for each species.

3. Hydraulic traits were overall poorly predictive of ecological processes and patterns. Only hydraulic traits related to water transport were predictive of species topographic distribution. Drought resistance traits, among other embolism resistance, were not predictive. However, mean leaf area was the best predictor of topographic distribution, as well as modelled growth-response to water stress.

4. Leaf size is theoretically linked to hydraulics by thermoregulation, larger leaves requiring more water due to a larger boundary layer. Potential reasons explaining the weak predictive power of hydraulic traits in the context of this study are discussed.

Keywords: tropical trees, hydraulic traits, drought resistance, water transport, growth-response to water stress, Paracou.

INTRODUCTION

Increasing extreme drought events worldwide with climate change is inducing tree death and forest dieback (Allen *et al.* 2010). Current climate predictions suggest these droughts and mortality phenomenon to increase in space and time (Duffy *et al.* 2015), probably leading to significant impacts in the future on community species assemblages, functioning and productivity (Brienen *et al.* 2015; Esquivel-Muelbert *et al.* 2019). On the one hand, forest and vegetation recomposition due to climate change will be mediated by ecological processes and patterns at individual and community levels, such as environmental filtering and niche differentiation, tree growth and mortality, and species relative abundance. On the other hand, as climate change materialises as drought, the tree response will be mediated by the manner the tree deals with water availability, suggesting that hydraulic traits could be strongly involved in such response. For instance, hydraulic failure of the water transport system due to too high water stress is now consensually recognised as the main cause of drought-induced tree mortality (Urli *et al.* 2013). However, the extent in which the tree hydraulic traits are involved in ecological processes and patterns are still not well understood. Such knowledge would determine if tree hydraulic traits can effectively be used in dynamic global vegetation models (DGVM) for prediction of future vegetation with climate for instance.

This agenda is particularly urging for tropical rainforest. First, tropical forests host a disproportionally important part of the worldwide biodiversity (Turner 2001; ter Steege *et al.* 2006), and also play a disproportional role in ecosystem processes such as carbon cycle (Field *et al.* 1998; Bonan 2008; Saatchi *et al.* 2011; Pan *et al.* 2011). Second, it is now consensual that climate change materialises in changes in rainfall patterns in these areas, with a general trend in lengthening and strengthening of drought periods (Gloor *et al.* 2015; Duffy *et al.* 2015; Aleixo *et al.* 2019), as also a diminution in total annual rainfall in some regions such as southern and south-eastern Amazon (Hilker *et al.* 2014). Third, knowledge on species distribution-environmental gradient association are well-established, with numerous studies suggesting that hydrology is a primary driver of forest species composition (Engelbrecht *et al.* 2007; Allié *et al.* 2015; Esquivel-Muelbert, Baker, *et al.* 2017; Esquivel-Muelbert, Galbraith, *et al.* 2017) and forest dynamic (Wagner *et al.* 2012, 2014, 2016; Aubry-Kientz *et al.* 2015). But four, the quantification of hydraulic and drought-related traits for these forests are still lacking (see Rowland *et al.* 2015; Powell *et al.* 2017; Oliveira *et al.* 2019), hindering our capacity to understand the likely fate of tropical forests.

The functional approach in community ecology has already been applied in tropical forests, with promising results. In the lowland Amazon forest for instance, the environmental

heterogeneity at the local scale is mainly explained by topography, with a strong spatial turnover in seasonally inundated bottomlands –characterised by low relative elevation above nearest streams and low slope angle deviation from the horizontal plane- and well-drained plateaus –characterised by high relative elevation and/or high slope angle (Allié *et al.* 2015). The topography further underlines a strong hydrographic gradient, linking to water drainage, water table depth, and seasonal flooding (Ferry *et al.* 2010; Allié *et al.* 2015; Oliveira *et al.* 2019). Fortunel *et al.* (2012, 2014) have demonstrated that *soft* functional traits such as wood specific gravity (WSG) and leaf mass area (LMA) respond to the topography, despite a lack of consistency across sites. Indeed, LMA and WSG are very integrated traits, offering a poor mechanistic understanding. WSG and LMA were demonstrated to respond to the topography (Ferry *et al.* 2010; Cosme *et al.* 2017), as also trunk vasculature measured as the vessel hydraulic diameter (Cosme *et al.* 2017). But even if the vessel diameter is related to the water transport capacity, vessel diameter is not a trait directly linked to drought resistance (**Chapitre 5**). Among these drought resistance traits, P_{50} -the stem water potential (MPa) inducing 50 % loss of stem conductivity due to drought- is a quantification of drought-induced embolism resistance, or xylem hydraulic failure, and is the most common index for drought resistance (Choat *et al.* 2012). Oliveira *et al.* (2019) have recently demonstrated that P_{50} was related to the distance to the water table across 28 Amazon tree species at a local scale. Then, the studies of Cosme *et al.* (2017) and Oliveira *et al.* (2019) demonstrate that hydraulic traits can predict tropical rainforest species ecology, even at local scale where ecological signatures on traits are generally less noticeable in comparison to regional scales. For instance, it is well-known that P_{50} correlates with mean annual temperature or mean annual precipitation at a global scale (Maherali *et al.* 2004). Trueba *et al.* (2017) have also shown that P_{50} correlated with elevation for tropical rainforest, but for a 500-m-elevation range.

Another layer of difficulty emerges from the fact that drought resistance is a complex phenotype to define and to measure. First, drought resistance can be defined in a survival perspective, as the time a plant is able to withstand a water stress before dying. Drought resistance would be quantified as the desiccation time between the onset of a water stress and plant death (Blackman *et al.* 2016; Martin-StPaul *et al.* 2017), or as the rate of mortality within a species after a water stress (Engelbrecht *et al.* 2007). Second, drought tolerance refers more to the ability of a plant to maintain important physiological processes such as growth during a water stress. These measurements are feasible in controlled experiments such as greenhouse (Urli *et al.* 2013; Blackman, Creek, *et al.* 2019; Blackman, Li, *et al.* 2019; Hammond *et al.* 2019), but are challenging to be applied in natural forests. However, through-fall exclusion

experiments or long-term growth-monitoring offer this possibility. Rowland *et al.* (2015) suggested that xylem hydraulic failure triggers tree mortality based on a through-fall exclusion experiment in a tropical rainforest. Moreover, numerous studies have linked desiccation time to xylem hydraulic failure based on controlled experiments (Brodrribb and Cochard 2009; Urli *et al.* 2013; Blackman, Creek, *et al.* 2019; Blackman, Li, *et al.* 2019). However, studies quantifying drought tolerance regarding an important process in forest dynamic such as tree growth, and further linking drought tolerance to hydraulic traits, are lacking. Fargeon *et al.* (2016) recently developed a framework to quantify the impact of water stress on tree growth based on the Paracou experimental station where a growth-monitoring of all trees is conducted for more than 30 years in a tropical rainforest. Such framework offers the possibility to test for the association between drought tolerance and traits for canopy trees in an undisturbed tropical rainforest.

As a complex phenotype, drought resistance is determined by the association of several traits (Blackman *et al.* 2016; Martin-StPaul *et al.* 2017), which can potentially be implied in ecological processes and patterns. Plant water status is firstly controlled by stomata, and stomatal closure is generally the first plant response to a water stress. Comparison of stomatal closure across species is allowed by measuring the leaf water potential inducing ~90-95 % loss of maximum stomatal conductance (Ψ_{closure} ; MPa). The earlier the stomatal closure, and the more the water potential drop in the xylem is delayed (Martin-StPaul *et al.* 2017). Therefore, the difference between Ψ_{closure} and P_{crit} (i.e. the water potential inducing a critical percentage loss of xylem conductivity) is positively correlated to the desiccation time (Blackman, Li, *et al.* 2019). However, when stomata close, transpiration is not null because the leaf cuticle is not fully permeable, and some leaky stomata can remain, both determining the leaf minimum conductance (g_{min} ; $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; Duursma *et al.* 2019). Thus, residual water transpiration mediated by g_{min} determines the rate of depletion of plant and soil water stocks after stomatal closure. Plant water stocks are determined by tissue capacitances C ($\text{kg m}^{-3} \text{MPa}^{-1}$), which is the measure of the capacity of a tissue to release water per unit of tissue volume and per unit of pressure drop (Tyree and Ewers 1991). Rooting depth and root biomass determine water absorption capacity, and has been shown to be drought resistance traits (Martin-StPaul *et al.* 2017; Brum *et al.* 2017). Finally, Levionnois *et al.* (**Chapitre 7**) have recently demonstrated that the difference in embolism resistance between leaf and stem, i.e. vulnerability segmentation, can strongly enhance shoot desiccation time, suggesting vulnerability segmentation to be a drought resistance trait. Thus, even if Oliveira *et al.* (2019) have

demonstrated a P_{50} -topography association for a tropical rainforest, it is still unknown how other drought resistance traits could be involved in ecological processes and patterns.

Ziegler *et al.* (2019) and Levionnois *et al.* (**Chapitres 2, 5, 6, 7**) recently merged experimental efforts at the Paracou experimental station to quantify an exceptional array of leaf and stem vasculature-anatomical and hydraulic traits, linking to both water transport capacity and drought resistance. Here, we aim at merging all the trait data, covering 37 canopy tree species, and testing if these traits can predict ecological processes and patterns at a local scale. We took advantage of the Paracou research station to compute ecological data for the studied species: (i) species abundance, (ii) species absolute growth rates in diameter, (iii) species topographic association (relative elevation, slope angle, flow accumulation which estimates surface runoff, wetness index which estimates soil moisture content). Moreover, we relied on the modelling framework of Fargeon *et al.* (2016) to compute indices on the impact of water stress on species growth, thus quantifying drought tolerance for an important process of forest dynamic.

- (i) We hypothesise that the species abundance is a niche-based process rather than a neutral process, therefore we expect to find trait-abundance relationships. Moreover, as water is relatively non-limiting for tree growth in comparison to other biomes, we hypothesise to find high species abundance associated with traits reflecting high conduction efficiency.
- (ii) We hypothesise to find a positive relationship between growth rates and traits reflecting high conduction efficiency, since these traits are generally associated with productivity. We hypothesise to find a negative relationship between growth rates and drought resistance traits, as we assume that drought resistance is associated to a physiological cost (Eller *et al.* 2018)
- (iii) We hypothesise to find traits reflecting high drought resistance but low water conduction efficiency on environment locally dry (high relative elevation, high slope angle, low wetness index, low flow accumulation), in agreement with a strategy privileging water conservation.
- (iv) We hypothesise to find traits reflecting high drought resistance but low water conduction efficiency for species exhibiting low water-stress impact on growth, in agreement with a strategy privileging a parsimonious use of water (thus not too high flow and transpiration rates) but maintaining the water transport capacity during a water stress (low P_{50} , low Ψ_{tp}).

MATERIALS AND METHODS

Study site, species, and design

The experiment was conducted in French Guiana, at the Paracou experimental station (<https://paracou.cirad.fr/>; 5°16'26''N, 52°55'26''W), in a lowland tropical rainforest (Gourlet-Fleury *et al.* 2004). The warm and wet tropical climate of French Guiana is highly seasonal due to the north-south movement of the Inter-Tropical Convergence Zone. Annual rainfall is 3,041 mm year⁻¹ and annual mean air temperature is 25.7 °C. There is a dry season lasting from mid-August to mid-November, during which rainfall is < 100 mm month⁻¹. Only canopy, dominant, adult trees were sampled. A total of 37 tree species and 121 trees were sampled. The species covered a large phylogenetic diversity, with the main clades of the flowering plants represented, i.e. magnoliids, rosids, and asterids (see the phylogenetic tree in Fig. S1).

We compiled an original dataset based on previous studies realised on these species in Paracou (Ziegler *et al.*, 2019; **Chapitres 2, 5, 6, 7**). The dataset combined (i) leaf morphological traits related to leaf size (**Chapitre 2**), (ii) petiole anatomical traits (**Chapitre 2**), (iii) anatomical traits of shoot stem (**Chapitre 2**), (iv) leaf hydraulic and drought resistance traits (Ziegler *et al.*, 2019; **Chapitres 6, 7**), (v) stem drought resistance traits (Ziegler *et al.*, 2019; **Chapitre 5**), and (vi) an array of hydraulic safety margin indices (Ziegler *et al.*, 2019; **Chapitres 6, 7**). We tested how these traits can potentially be associated to the ecology and the growth-mediated drought response of trees, by taking advantage of the large Paracou dataset, assembling 37.5 ha of permanent undisturbed plots, and totalising 16,681 individuals for the species we considered in this study.

Leaf morphological traits

The method and the data for leaf size traits are available and discussed in a separate publication (**Chapitre 2**). Here, we considered 4 traits: **mean shoot leaf area** (cm²), **mean individual leaf area** (cm²), **mean blade area** (cm²) and **blade length** (cm). We define the blade as the entire leaf for simple-leaved species, and the leaflet for compound-leaved species. These traits were measured for 37 species and 82 trees. As there are 23 simple-leaved species and 14 compound-leaved species, the blade refers to the entire simple leaf for simple-leaved species and to the leaflet for compound-leaved species. The shoot is defined as an unbranched and leafy stem, with the largest number of leaves as possible, and with all nodes bearing a leaf.

Leaf anatomical traits

The method and the data for leaf anatomical traits are available and discussed in a separate publication (**Chapitre 2**). These traits were measured on the same 37 species and the same 82 trees than those for leaf morphological traits. Anatomical traits were measured on petioles for simple-leaved species and on petiolule for compound-leaved species. We considered tissue cross-sectional traits: **section area** (mm²), **pith area** (mm²), **xylem area** (mm²), **phloem area** (mm²), and **cortex area** (mm²). We considered vascular traits related to the xylem: the vessel mean hydraulic diameter ($\mathbf{D}_h = (\Sigma(D^4/n))^{1/4}$, where D is the hydraulic diameter of a given vessel determined from the Hagen-Poiseuille equation; μm), **vessel density** (n mm⁻²), the **conductive area** ($\pi(D_h/2)^2 \cdot \text{vessel density} \cdot \text{xylem area}$; mm²), the theoretical hydraulic conductivity determined from the Hagen-Poiseuille equation (\mathbf{K}_{th} ; kg m s⁻¹ MPa⁻¹), the theoretical xylem-specific hydraulic conductivity ($\mathbf{K}_s = \mathbf{K}_{th}/\text{xylem area}$; kg m⁻¹ s⁻¹ MPa⁻¹), and the leaf specific conductivity ($\mathbf{LSC}_{leaf} = \mathbf{K}_{th}/\text{blade area}$; kg m⁻¹ s⁻¹ MPa⁻¹).

Stem anatomical traits

The method and the data for stem anatomical traits are available and discussed in separate publications (**Chapitres 2, 6**). These traits were measured on the same 37 species and the same 82 trees than those for leaf morphological traits. Anatomical traits were measured on stem, at the base of the shoot for both simple- and compound-leaved species. We considered tissue cross-sectional traits: **section area** (mm²), **pith area** (mm²), **xylem area** (mm²), **phloem area** (mm²), and **cortex area** (mm²). We considered vascular traits related to the xylem: the vessel mean hydraulic diameter (\mathbf{D}_h ; μm), **vessel density** (n mm⁻²), the **conductive area** (mm²), the theoretical hydraulic conductivity determined from the Hagen-Poiseuille equation (\mathbf{K}_{th} ; kg m s⁻¹ MPa⁻¹), the theoretical xylem-specific hydraulic conductivity (\mathbf{K}_s), and the shoot specific conductivity ($\mathbf{LSC}_{shoot} = \mathbf{K}_{th}/\text{shoot leaf area}$; kg m⁻¹ s⁻¹ MPa⁻¹). As discussed and tested by Levionnois *et al.* (**Chapitre 6**), we quantified the hydraulic segmentation at the leaf-stem interface as $\mathbf{LSC}_{shoot} - \mathbf{LSC}_{leaf}$.

Leaf hydraulic traits

The method and the data for leaf hydraulic traits are available and discussed in separate publications (Ziegler *et al.*, 2019; **Chapitres 2, 7**). We considered the leaf water potential at solar midday measured during the dry season (Ψ_{md} ; MPa), as a proxy of the conservation of the water status during a seasonal water stress (Ziegler *et al.*, 2019), measured for 27 species and 92 trees. We also considered leaf minimum conductance (g_{min} ; mmol m⁻² s⁻¹), which is a measure of leaf residual loss after stomatal closure, measured for 29 species and 96 trees. We

also considered leaf xylem embolism resistance measured as the water potential $P_{x,leaf}$ (MPa) inducing x % loss of leaf xylem conductivity. Then, we considered $P_{12,leaf}$, $P_{50,leaf}$, and $P_{88,leaf}$ measured for 21 species and 53 trees (**Chapitre 6**). Leaf embolism resistance was measured with the optical light transmission method (Brodrribb, Skelton, *et al.* 2016; Brodrribb, Bienaimé, *et al.* 2016). We also considered the water potential at the turgor loss point (Ψ_{tip} ; MPa), which can be used as a surrogate for the water potential at stomatal closure (Martin-StPaul *et al.* 2017). We also considered leaf capacitance at full turgor ($C_{ft,leaf}$; mmol m⁻² MPa⁻¹) and after the turgor loss point ($C_{tip,leaf}$; mmol m⁻² MPa⁻¹), which are a measure of the capacity of a structure to release stored water per unit of water potential drop to buffer a water stress. Ψ_{tip} and leaf capacitance traits were based on pressure-volume curves (**Chapitre 7**), measured for 24 species and 58 trees.

Stem hydraulic traits

The method and the data for stem hydraulic traits are available and discussed in separate publications (Ziegler *et al.*, 2019; **Chapitre 5**). We considered stem xylem embolism resistance measured as the water potential $P_{x,stem}$ (MPa) inducing x % loss of stem xylem conductivity. Then, we considered $P_{12,stem}$, $P_{50,stem}$, and $P_{88,stem}$, and the slope of the vulnerability curve (% MPa⁻¹; Fig. 1a; Ziegler *et al.*, 2019), measured for 25 species and 92 trees. Stem embolism resistance was measured with the flow-centrifugation technique (Cochard *et al.* 2013). During this experiment (Ziegler *et al.*, 2019), we controlled for open vessels by measuring the maximum vessel length (cm) following the air-injection method. During this experiment, we also measured branch wood specific gravity (**WSG**; g cm⁻³) as the dry mass divided by the fresh volume.

Integrated hydraulic traits

The method and the data for integrated hydraulic traits are available and discussed in separate publications (Ziegler *et al.*, 2019; **Chapitres 6, 7**). We considered the leaf-stem vulnerability segmentation as $P_{88,leaf}-P_{88,stem}$ (MPa; **Chapitre 6**). We considered two stomatal-hydraulic safety margin (SHSM; MPa) as $\Psi_{tip}-P_{88,stem}$ and $\Psi_{tip}-P_{88,leaf}$. We considered two hydraulic safety margin (HSM; MPa) as $\Psi_{md}-P_{88,stem}$ and $\Psi_{md}-P_{88,leaf}$. We considered the stomatal safety margin (MPa) as $\Psi_{md}-\Psi_{tip}$. Finally, based on the framework and trait-based model of Blackman *et al.* (2016), we calculated a desiccation time of shoot (t_{crit} ; hrs kPa) as used in Levionnois *et al.* (**Chapitre 7**). We calculated a first t_{crit} in same way of Blackman *et al.* (2016) as :

$$t_{crit} = \frac{(\Psi_{tlp} - P_{88,stem}) * C_{ft,stem} * V_{stem}}{g_{min} * 2A_{leaf} * VPD}$$

where t_{crit} (hrs) is the desiccation time, $C_{ft,stem}$ ($\text{kg m}^{-3} \text{MPa}^{-1}$) is the stem capacitance at full turgor estimated from branch wood specific gravity and the relationship found between $C_{ft,stem}$ and stem wood specific gravity by Santiago *et al.* (2018) for 14 Paracou canopy tree species, V_{stem} (m^3) the volume of stem of the considered shoot, A_{leaf} (m^2) the shoot leaf area, VPD is the vapour pressure deficit (kPa). We also considered t_{crit} taking into account the leaf-stem vulnerability segmentation (**Chapitre 7**), as:

$$t_{crit_seg} = \frac{(\Psi_{tlp} - P_{88,leaf}) * (C_{ft,stem} V_{stem} + C_{tlp,leaf} A_{leaf})}{(A_{leaf} g_{min} + A_{bark} g_{bark}) * VPD} + \frac{(P_{88,leaf} - P_{88,stem}) * C_{ft,stem} V_{stem}}{A_{bark} g_{bark} * VPD}$$

with Ψ_{tlp} the water potential (MPa) at turgor loss point used as a surrogate of stomatal closure; $P_{88,leaf}$ the leaf water potential (MPa) at 88% loss of leaf xylem conductivity; $P_{88,stem}$ the water potential (MPa) at 88% loss of stem xylem conductivity; $C_{ft,stem}$ the stem capacitance ($\text{mmol m}^{-3} \text{MPa}^{-1}$) at full turgor; $C_{tlp,leaf}$ the leaf capacitance ($\text{mmol m}^{-2} \text{MPa}^{-1}$) after turgor loss point; V_{stem} the stem volume (m^3); A_{leaf} the shoot leaf area (m^2); g_{min} the leaf minimum conductance ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); g_{bark} the bark conductance ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); VPD the vapour pressure deficit (kPa). For species exhibiting no vulnerability segmentation, t_{crit} was calculated as:

$$t_{crit_noseg} = \frac{(\Psi_{tlp} - P_{88,stem}) * (C_{ft,stem} V_{stem} + C_{tlp,leaf} A_{leaf})}{(A_{leaf} g_{min} + A_{bark} g_{bark}) * VPD}$$

Ecological parameters

Six 6.25 ha and one 25 ha permanent plots of undisturbed forests have been inventoried bi-annually since the mid-1990's (Fig. 2; <https://paracou.cirad.fr/>). They spread over $\sim 50 \text{ km}^2$ (Fig. 1). All the species with $> 10 \text{ cm}$ in diameter at breast height are identified. In 2016, 41,064 trees were identified for ~ 500 species. We used these data for computing quantification of the abundance of the studied species (Fig. 1c). On these 7 plots, three 6.25 ha permanent plots are monitored for diameter growth for trees with $> 10 \text{ cm}$ in diameter at breast height. Diameter growth-monitoring was conducted every year between 1984 and 1995, and every two years thereafter. We used these data for computing an average absolute growth rate (AGR; Fig. 1d) in diameter per studied species, as also the 95th centile of AGR.

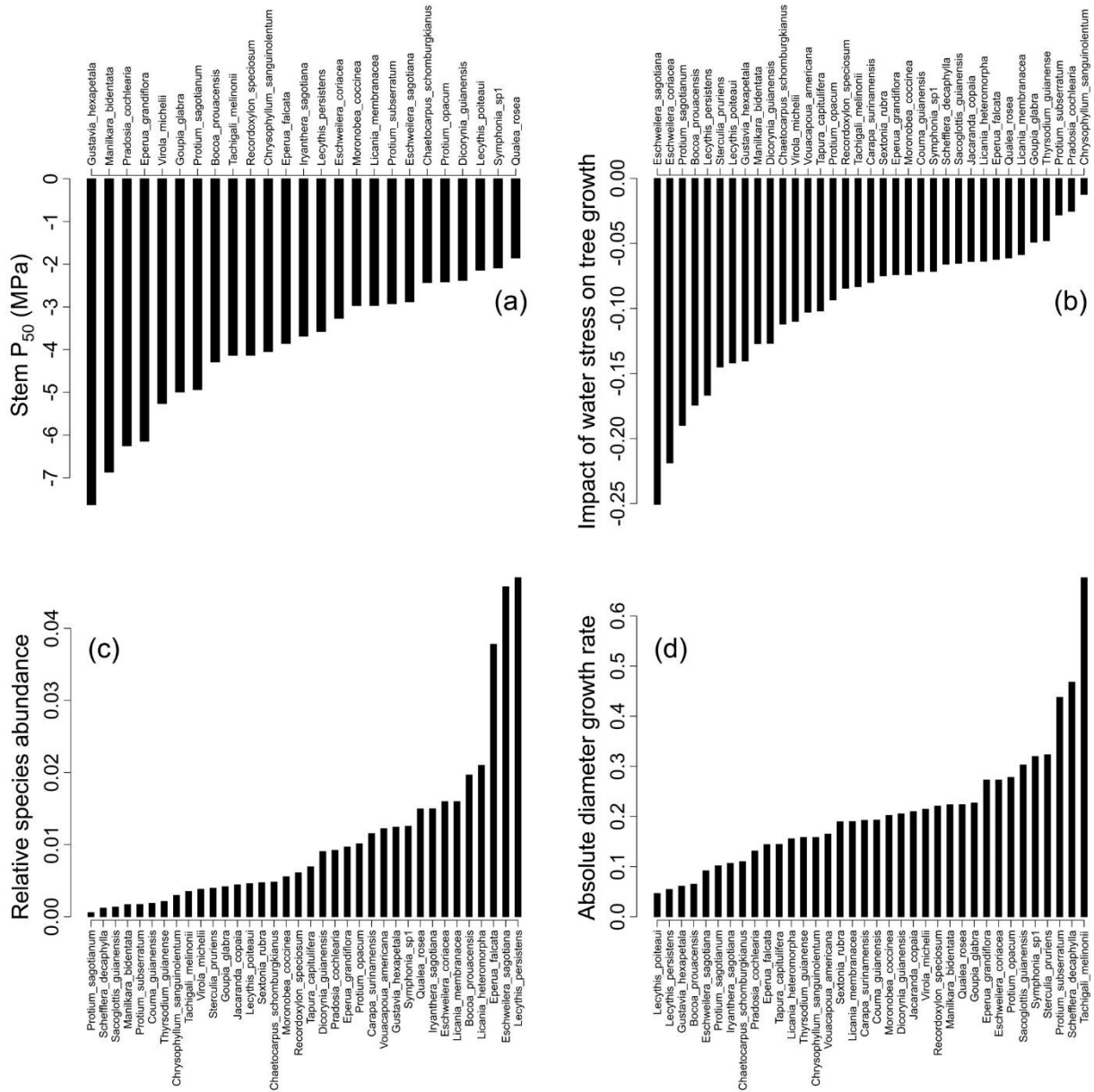


Fig. 1. Distribution of embolism resistance and main ecological variables across species. (a) Distribution of the stem xylem water potential inducing 50% loss of conductivity across species. (b) Distribution of the impact of water stress on tree growth across species, based on Fargeon et al. 2016. (c) Distribution of the relative abundance of the species. (d) Distribution of the absolute diameter-growth rate across species.

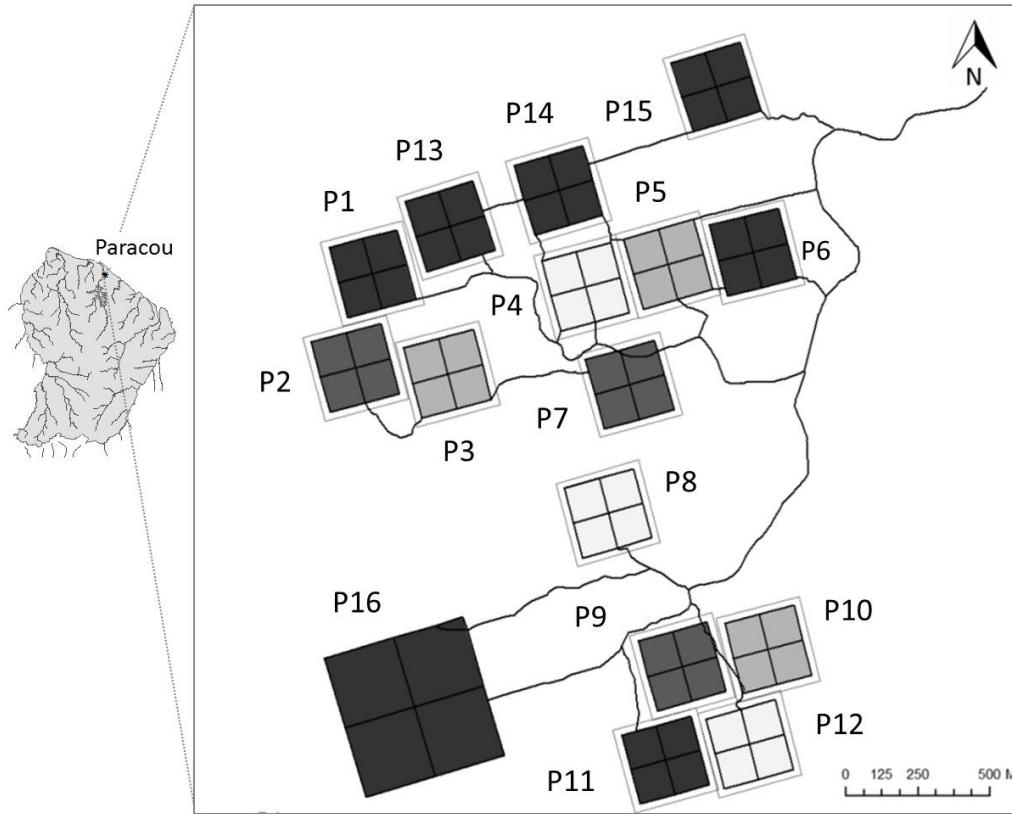


Fig. 2. The study site at the Paracou experimental station, French Guiana, in a lowland tropical rainforest. The 7 plots of undisturbed forest (black box), inventoried since the mid-1990's, were used for abundance data. P1, P6, P11, monitored since 1984, were used for diameter-growth rates. From Allié *et al.* 2015 and <https://paracou.cirad.fr/>.

Based on the extensive Paracou growth-monitoring dataset Fargeon *et al.* (2016) computed an index of the impact of water stress on tree growth. The model was firstly applied on 14 tree species found in Paracou, with actual or potential commercial interest for wood production. Quantification of water stress $Water_t$ was based on the daily relative extractable water (REW; Fargeon *et al.* 2016), estimated with a soil water balance model calibrated for the Paracou forest at the stand level (Wagner *et al.* 2011). Then, the index was computed using daily rainfall. We extended the exact same framework used by Fargeon *et al.* (2016) to our species to compute an index of growth-mediated impact of water stress for each species (or growth-mediated drought response; Fig. 1b). The impact of water stress on growth was then calculated from a sub-model, which is a non-linear hump-shaped growth model developed by Hérault *et al.* (2011) in which the growth trajectory depends on the maximum growth rate, the diameter at maximum growth and the kurtosis of the curve defining the shape of the ontogenetic variation in the growth rate, for the species i :

$$\log(\widehat{AGR}_{i,t-1} + 1) = (\theta_7 + \theta_8 \times Water_{t-1}) \times \exp\left(-\frac{1}{2}\left(\frac{\log\left(\frac{D_{i,t-2}}{\theta_{11}}\right)}{\theta_{12}}\right)^2\right) + \varepsilon$$

where: $\varepsilon \sim N(0, \theta_{13})$; θ are all unknown parameters that are inferred; ε is an error term following a normal distribution. $Water_t$ was here a covariate related to the water stress undergone by trees at time t , and has the same range for all the species (Fargeon *et al.* 2016). The parameters were estimated from the implementation of a Bayesian Monte-Carlo Markov chain method. A random walk was used as the proposed distribution to sample new values of parameters that were or were not selected, using the ratio of Metropolis–Hastings. The only parameter that was not sampled this way was the standard deviation of the growth model θ_7 , for which an inverse-gamma posterior distribution with a Gibbs sampler was used because the θ_7 a posteriori law was mathematically tractable. More details on the sampling of parameters are provided by Fargeon *et al.* (2016). The parameter θ_7 described the maximum growth rate if the parameter θ_8 is null. The parameter θ_8 was always negative. Finally, the impact of water stress on growth was calculate as:

$$Impact\ on\ growth = \frac{\theta_8}{\theta_7}$$

We also tested for the effect of traits on the distribution of our species on hydro-topographic gradients, as Paracou exhibit a strong local environmental heterogeneity (Allié *et al.* 2015). Based on LIDAR(Light Detection And Ranging)-derived topographical data and the Paracou dataset for species abundance, Allié *et al.* (2015) demonstrated a strong species-habitat association, with the relative elevation above the nearest stream and slope angle deviation from the horizontal plane explaining 73.4% and 24.4% of species abundance variation respectively. Allié *et al.* (2015) firstly calculated digital terrain model (DTM) of absolute elevation, derived from LIDAR data acquired across the Paracou site in October 2009; Fig. 3; <https://paracou.cirad.fr/>). Then, they derived continuous environmental maps related to topography (<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141488.s001a>) and soil hydrology (<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141488.s002>). Allié *et al.* (2015) computed an index of species-habitat association (for each species, and for relative elevation and slope respectively), as p-values of Monte Carlo tests of species density and environmental raster maps (<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141488.s006>). Thus, we extracted these data for a first test of association between our traits and species environmental distribution (Fig. 3). We also used the continuous environmental maps related to topography and soil hydrology for extracting relative elevation as a proxy of soil hydromorphy and fertility (Allié *et al.* 2015), slope angle, wetness index (estimation of soil moisture content, computed as a function of local slope angle and the neighbouring maximum values of the drainage area; Böhner 2006), and flow accumulation (estimation of surface runoff with the Mass-Flux Method; Gruber and Peckham

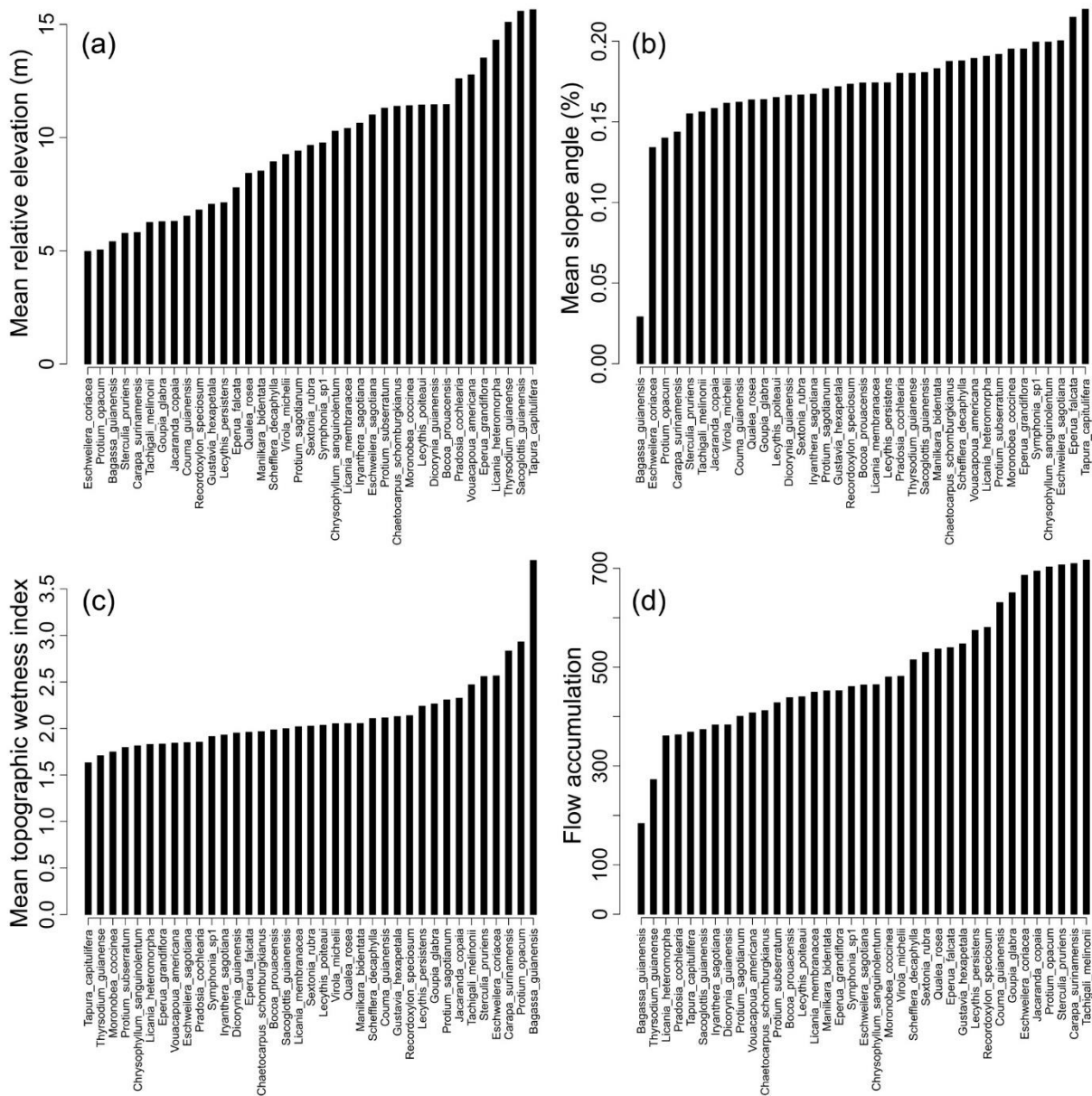


Fig. 4. Distribution of the species along hydro-topographical gradients. (a) Distribution of the mean relative elevation per species. (b) Distribution of the mean slope angle per species. (c) Distribution of the mean topographic wetness index per species. (d) Distribution of the mean flow accumulation per species.

Statistical analyses

All statistical analyses were performed with the R software (<http://CRAN-R-project.org>). For the extraction of relative elevation, local slope angle, wetness index, and flow accumulation, we used the R package raster (Hijmans 2014). For the trait-environment analysis, we used SMA (Standardised Major Axis regression; Warton *et al.* 2006), which allows measurement of the error on both *x*-axis and *y*-axis (Harvey and Pagel 1991), with the R package SMATR (Falster *et al.* 2006).

RESULTS

Leaf morphological traits

No leaf morphological trait were related to species abundance or absolute growth rate ($P > 0.05$; Table 1). Blade area and blade length were negatively related to the growth-mediated drought response ($P < 0.05$; Table 1), such that large-bladed species were more impacted by water stress. No trait was related to the relative elevation- and slope angle-species density association ($P > 0.05$; Table 1). Blade area and blade length were negatively related to mean relative elevation ($P < 0.01$ and 0.05 respectively; Table 1), such that large-bladed species were associated to low elevation. Blade area was negatively related to the mean slope angle ($P < 0.001$; Table 1). Shoot area was positively related to the mean flow accumulation ($P < 0.05$; Table 1). Shoot area, leaf area, blade area, and blade length were all positively related to the mean wetness index ($P < 0.05$; Table), such that large-leaved species were associated to locally wet environments.

Leaf anatomical traits

No leaf anatomical trait was related to species abundance or absolute growth rate ($P > 0.05$; Table 2). No trait were also related to the growth-mediated drought response or to the relative elevation-species density association ($P > 0.05$; Table 2). Petiole and petiolule vessel density were negatively related to the slope angle-species density association ($P > 0.05$; Table 2), such that high vessel density was related to weak slope. Petiole and petiolule phloem cross-sectional area, vessel D_h , and K_s were all negatively related to the mean relative elevation ($P < 0.05$; Table 2), such that high phloem area, large vessels, and high K_s were associated to low elevation. Vessel D_h and K_s were also negatively related to the mean slope angle ($P < 0.01$; Table 2), such that large vessels and high K_s were associated to low slope angle. Petiole and petiolule cross-sectional area, pith area, and cortex area, were positively associated with flow accumulation ($P < 0.05$; Table 2). Most of petiole and petiolule anatomical and vascular traits were associated with the mean wetness index ($P < 0.05$; Table 2), such that large cross-sectional tissue area and large D_h and conductivities were associated to locally wet environments. LSC_{leaf} was not related to any ecological variable ($P > 0.05$; Table 2).

Stem anatomical traits

No stem anatomical traits was related to species abundance or to the growth-mediated drought response ($P > 0.05$; Table 3). Stem cross-sectional area, pith area, cortex area, and the vessel conductive area were positively related to the 95th-centile of absolute growth rate ($P < 0.05$; Table 3), such that large cross-sectional tissue and vessel area were associated to fast growing

Table 1. Relationships between ecological processes and patterns (in columns) and **leaf morphological traits** (in lines) based on linear models.

Trait	Species abundance	95th-centile AGR	Mean AGR	Growth-mediated drought response (Aubry-Kientz et al. 2016)	Log (Relative elevation index) (Allié et al. 2015)	Log (Slope angle index) (Allié et al. 2015)	Mean relative elevation	Mean slope angle	Mean flow accumulation	Mean wetness index
Shoot area									+0.097*	+0.182**
Leaf area										+0.156**
Blade area				-0.157*			-0.207**	-0.213**		+0.229**
Blade length				-0.125*			-0.117*			+0.147*

Only significant relationships ($P < 0.05$) are shown. When the relationship is significant, the coefficient of regression R^2 is displayed. .***: $P < 0.001$; **: $P < 0.01$; *: $P < 0.05$.

Table 2. Relationships between ecological processes and patterns (in columns) and **leaf anatomical traits** (in lines) based on linear models.

Trait	Species abundance	95th-centile AGR	Mean AGR	Growth-mediated drought response (Aubry-Kientz et al. 2016)	Log(Relative elevation index) (Allié et al. 2015)	Log(Slope angle index) (Allié et al. 2015)	Mean relative elevation	Mean slope angle	Mean flow accumulation	Mean wetness index
Section area									+0.101*	+0.133*
Pith area									+0.106*	+0.174**
Xylem area										+0.121*
Phloem area							-0.103*		+0.082*	+0.199**
Cortex area										
Vessel D _h							-0.097*	-0.163**		+0.181**
Vessel density					-0.190*					
Conductive area										+0.131*
K _{th}										+0.113*
K _s							-0.098*	-0.371***		
LSC _{leaf}										

Only significant relationships ($P < 0.05$) are shown. When the relationship is significant, the coefficient of regression R^2 is displayed. .***: $P < 0.001$; **: $P < 0.01$; *: $P < 0.05$.

species. Pith and cortex area were also positively related to the mean absolute growth rate ($P < 0.05$; Table 3). Only stem vessel density was related to the relative elevation- and the slope angle-species density association ($P < 0.05$; Table 3), such that high vessel density was associated to high elevation and low slope angle. Phloem cross-sectional area, vessel D_h , and K_s were negatively related to the mean relative elevation ($P < 0.05$; Table 3), such that large phloem area and vessel diameter, and high K_s were associated to low elevation. Only K_s was negatively related to the mean slope angle ($P < 0.05$; Table 3). No trait was related to the mean flow accumulation ($P > 0.05$; Table 3). Xylem and phloem cross-sectional area, vessel D_h , and K_s were positively related to the mean wetness index ($P < 0.05$; Table 3), such that large xylem and phloem area, as also high K_s were associated to locally wet environments. LSC_{stem} and $LSC_{stem}-LSC_{leaf}$ were not related to any ecological variable was not related to any ecological variable ($P > 0.05$; Table 3).

Leaf hydraulic traits

Most of leaf hydraulic traits were not related to ecological variables (Table 4). Leaf minimum conductance g_{min} was positively related to the growth-mediated drought response ($P < 0.05$; Table 4), such that high residual water losses were associated with low impact of water stress on growth. Leaf capacitance at full turgor $C_{ft,leaf}$ was positively related with the relative elevation-species density association ($P < 0.01$; Table 4), such that high leaf capacitance was associated with high elevation. Leaf embolism resistance ($P_{12,leaf}$, $P_{50,leaf}$, $P_{88,leaf}$) was not related to any ecological variable ($P > 0.05$; Table 4).

Stem hydraulic traits

Most of stem hydraulic traits were not related to ecological variables (Table 5). The slope of the stem vulnerability curve was negatively related to the growth-mediated drought response ($P < 0.05$; Table 5), such that high slope, reflecting high speed of conductivity loss, was related to high impact of water stress on growth. $P_{88,stem}$ was positively related to the slope angle-species density association ($P < 0.05$; Table 5), but this relationship was strongly determined by one outlier, since *Manilkara bidentata* exhibited a very low $P_{88,stem}$ in comparison to other species.

Integrated hydraulic traits

Most of integrated hydraulic traits were not related to ecological variables (Table 6). Only the desiccation time integrating vulnerability segmentation (**Chapitre 7**) was negatively related to the slope angle-species density association ($P < 0.05$; Table 6). However, like for $P_{88,stem}$ for the

Table 3. Relationships between ecological processes and patterns (in columns) and **stem anatomical traits** (in lines) based on linear models.

Trait	Species abundance	95th-centile AGR	Mean AGR	Growth-mediated drought response (Aubry-Kientz et al. 2016)	Log(Relative elevation index) (Allié et al. 2015)	Log(Slope angle index) (Allié et al. 2015)	Mean relative elevation	Mean slope angle	Mean flow accumulation	Mean wetness index
Stem area		+0.168**								
Pith area		+0.181**	+0.090*							
Xylem area										+0.140*
Phloem area							-0.094*			+0.176**
Cortex area		+0.190**	+0.095*							
Vessel D _h							-0.148*			+0.219**
Vessel density					+0.136*	-0.151*				
Conductive area		+0.133*								
K _{th}										
K _s							-0.173**	-0.189**		+0.169**
LSC _{shoot}										
LSC _{shoot} -										
LSC _{leaf}										

Only significant relationships ($P < 0.05$) are shown. When the relationship is significant, the coefficient of regression R^2 is displayed. .***: $P < 0.001$; **: $P < 0.01$; *: $P < 0.05$.

Table 4. Relationships between ecological processes and patterns (in columns) and **leaf hydraulic traits** (in lines) based on linear models.

Trait	Species abundance	95th-centile AGR	Mean AGR	Growth-mediated drought response (Aubry-Kientz et al. 2016)	Log(Relative elevation index) (Allié et al. 2015)	Log(Slope angle index) (Allié et al. 2015)	Mean relative elevation	Mean slope angle	Mean flow accumulation	Mean wetness index
Ψ_{md}										
g_{min}				+ 0.152*						
$P_{12,leaf}$										
$P_{50,leaf}$										
$P_{88,leaf}$										
Ψ_{tip}										
$C_{ft,leaf}$					+ 0.412**					
$C_{tip,leaf}$										

Only significant relationships ($P < 0.05$) are shown. When the relationship is significant, the coefficient of regression R^2 is displayed. .***: $P < 0.001$; **: $P < 0.01$; *: $P < 0.05$.

Table 5. Relationships between ecological processes and patterns (in columns) and **stem hydraulic traits** (in lines) based on linear models.

Trait	Species abundance	95th-centile AGR	Mean AGR	Growth-mediated drought response (Aubry-Kientz et al. 2016)	Log(Relative elevation index) (Allié et al. 2015)	Log(Slope angle index) (Allié et al. 2015)	Mean relative elevation	Mean slope angle	Mean flow accumulation	Mean wetness index
$P_{12,stem}$										
$P_{50,stem}$										
$P_{88,stem}$						0.188*				
Vulnerability curve slope				-0.211*						
Maximum vessel length										
Wood specific gravity										

Only significant relationships ($P < 0.05$) are shown. When the relationship is significant, the coefficient of regression R^2 is displayed. .***: $P < 0.001$; **: $P < 0.01$; *: $P < 0.05$.

Table 6. Relationships between ecological processes and patterns (in columns) and **safety margin traits** (in lines) based on linear models.

Trait	Species abundance	95th-centile AGR	Mean AGR	Growth-mediated drought response (Aubry-Kientz et al. 2016)	Log(Relative elevation index) (Allié et al. 2015)	Log(Slope angle index) (Allié et al. 2015)	Mean relative elevation	Mean slope angle	Mean flow accumulation	Mean wetness index
$P_{88,leaf} - P_{88,stem}$										
$\Psi_{tip} - P_{88,stem}$										
$\Psi_{tip} - P_{88,leaf}$										
$\Psi_{md} - P_{88,stem}$										
$\Psi_{md} - P_{88,leaf}$										
$\Psi_{md} - \Psi_{tip}$										
t_{crit} (Blackman et al. 2016)										
t_{crit} (Levionnois et al.)						0.303*				

Only significant relationships ($P < 0.05$) are shown. When the relationship is significant, the coefficient of regression R^2 is displayed. .***: $P < 0.001$; **: $P < 0.01$; *: $P < 0.05$.

same ecological variable, this relationship was strongly determined by one outlier, since *Manilkara bidentata* exhibited a very high t_{crit} in comparison to other species.

DISCUSSION

Species abundance

A first major finding is that none of the measured traits was related to species abundance, which contradicts our hypothesis to find a niche-based mechanism explaining species abundance. Explaining species abundance and understanding the trait-abundance relationship has always been a main focus in plant community ecology (Mouillot *et al.* 2007; Cornwell and Ackerly 2010; Yan *et al.* 2013; ter Steege *et al.* 2013). A trait-abundance relationship has been generally found (Reader 1998; Suding *et al.* 2003; Cornwell and Ackerly 2010; Yan *et al.* 2013), but this relationship is not an absolute rule (Reader 1998) and seems highly context and scale dependent (Murray *et al.* 2002; Suding *et al.* 2003; Mouillot *et al.* 2007; Cornwell and Ackerly 2010). Our result is in agreement with ter Steege *et al.* (2013) who did not find a relationship between abundance and wood density or seed mass for hyperdominant tree species across the Amazon basin. To our knowledge Trueba *et al.* (2017) are the only ones to have investigated a hydraulic trait, P_{50} , in relation with species abundance. They found a significant relationship such that abundant species were more embolism vulnerable, which is not in agreement with our study. However, the trait-abundance relationship in this study also confounds a strong environmental gradient linking to altitude. Even if we cover a wider range of species relative abundance in comparison to Trueba *et al.* (2017; 0.06 to 4.7% in our study, against 0.2 to 0.9%), we failed to account for rare species. Indeed, our study is already based on the most common species and accounts for most of hyperdominant species: our study accounts for 36% of the total tree abundance based on 37 species, whereas the local community is composed of more than 500 tree species. We also do not account for trait intraspecific variability, increasing the risk to do not have species trait mean representative of real trait distribution for a given species (Violle *et al.* 2012).

Growth rates

Only stem anatomical traits are predictive of the absolute growth rate, such that large shoot stems with large pith, cortex, and conductive areas are associated with high growth. This finding partially supports our hypothesis to find high growth rates associated with high productivity, and thus high conduction efficiency. Indeed, high conductive area is probably associated to a higher water transport capacity, which generally mediates higher gas exchanges (Brodribb *et*

al. 2005; Brodribb 2009). This result is quite surprising since the shoot stem anatomy has been shown to be tightly related to leaf area for the same set of species (**Chapitre 2**), whereas shoot area, leaf area, and blade area are not predictive of the growth rate in this study. But independently of leaf size, large stems with large pith and cortex areas (and by extension also proportions) are structures with a high flexural stiffness but cheap carbon cost as demonstrated by Levionnois *et al.* (**Chapitre 2**), allowing for higher growth rates (Olson *et al.* 2018).

As the concept of functional trait is based on its capacity to predict organism performance (i.e. growth, survival, and reproduction; Violle *et al.* 2007), the growth-trait relationship is a central focus and an important issue in plant community ecology (Shipley *et al.* 2016). Such relationship has already been demonstrated for common traits such as plant size, WSG, or LMA, especially for tropical regions (Poorter *et al.* 2008, 2018; Poorter 2008; Hérault *et al.* 2011). Contrary to past findings, our measurement of WSG was not predictive of the growth rate, suggesting that the measurement of WSG on branches for adult trees is not pertinent in this perspective. However, this finding contradicts the fact that branch WSG and trunk WSG are sufficiently coordinated across species in French Guiana to use one as a proxy of the other (Sarmiento *et al.* 2011), and trunk WSG is predictive of tree growth in French Guiana (Hérault *et al.* 2011). Hydraulic traits in relation to growth rates for tropical areas have been investigated by Poorter *et al.* (2010), who found that traits determining higher water transport capacity were associated with higher growth rates. This is in agreement with our measurements relating to shoot stem anatomy. Eller *et al.* (2018) found a relationship between embolism resistance and growth rates across 9 tropical cloud forest tree species. They found that high embolism resistance was associated with low growth rate, confirming a growth-survival trade-off. Contrary to our study, they proceeded to a more integrated monitoring of the growth rate, by measuring a daily aboveground biomass increment. Moreover, we failed to have a sufficient representativeness of high-growth species, since we displayed a mean range of 0.05- to 0.7 cm y⁻¹, but with only three species above 0.3 cm y⁻¹. This hinders our ability to confirm such embolism resistance-growth rate relationship. But it remains noticeable that the highest-growth rate species in our study (*Tachigali melinonii*) exhibits a relatively high safety margin of ~2 MPa ($\Psi_{md} - P_{50,stem}$), comparable to the highest values found by Eller *et al.* (2018).

Growth-mediated drought tolerance

Just some few traits were able to predict the growth-mediated drought tolerance of trees: blade area, minimum leaf conductance, and the slope of the vulnerability curve for stems. First, our results suggest that small-leaved species are less sensitive to drought, and more able to maintain

growth during a water stress. It is important to note that what is of important functional value is the blade, i.e. the leaflet for compound-leaved species and the leaf for simple-leaved species, and not the total leaf area integrating all the leaflets for a compound leaf. It is well-known that small leaves are generally associated with xeric or dry environments, with low annual mean temperatures and/or precipitations (Halloy and Mark 1996; Ackerly *et al.* 2002; Peppe *et al.* 2011; Moles *et al.* 2014). This is mainly explained by the higher exposure of large leaves to heat, due to a larger boundary layer (Leigh *et al.* 2017). Large leaves generally need higher transpiration rates for cooling, explaining why they cannot be selected in too dry environments. Then, small-leaved species would control for leaf temperature, and thus for the integrity of the photosynthetic apparatus, at lower costs of water expenditure. Species able to maintain growth during a water stress are those able to maintain stomata not completely closed, as stomatal conductance is tightly linked to photosynthetic assimilation (Brodribb *et al.* 2005; Brodribb 2009). Therefore, low stomatal conductance and total leaf transpiration would be required to do not deplete plant and soil water reserve too fast (Martin-StPaul *et al.* 2017), but to maintain a leaf cooling.

Second, our results suggest that species with a high leaf minimum conductance (g_{\min}) are less sensible to drought, and more able to maintain growth during a water stress. This result is in disagreement with our hypothesis of traits promoting drought resistance associated growth-sensitivity to drought. This is counterintuitive since low g_{\min} allows for low residual losses of water after stomatal closure, and thus maximises drought resistance seen as desiccation time (Blackman *et al.* 2016; Blackman, Li, *et al.* 2019; Duursma *et al.* 2019). But even if we do find a relationship between g_{\min} and the growth-mediated drought response, observed g_{\min} range is relatively low in comparison to the global meta-dataset computed by Duursma *et al.* (2019). Moreover, some preliminary results suggest that g_{\min} variation is not determinant for the desiccation time variation (Blackman, Li, *et al.* 2019; **Chapitre 7**). We hypothesise here that high g_{\min} allowed for a higher leaf minimum transpiration, further allowing for cooling despite stomatal closure and the maintenance of the photosynthetic apparatus. However, we do not know in what extent g_{\min} ($2\text{-}12 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) can contribute to cooling since routine stomatal conductance can reach one hundred to 100 $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ for Paracou canopy tree species (Stahl *et al.* 2013).

Third, our results suggest that low slope of stem vulnerability curves favours the maintenance of growth during a water stress, thus partially supporting our hypothesis. The slope of the vulnerability curve reflects the rate of accumulation of embolism into the xylem, such that a steep curve would indicate a sudden, or even a complete, loss of conductivity for a very

small water potential drop. Inversely, a high slope indicates that a relatively high conductivity is maintained despite some embolism start to occur. Therefore, the finding of this correlation is coherent, since low slopes of vulnerability curve should maintain water transport, and then gas exchange and growth, since water transport and gas exchange are tightly linked (Brodribb *et al.* 2005; Brodribb 2009). This is a strong finding in support of the slope of the vulnerability curve as a trait with a strong functional significance, especially in the perspective of drought tolerance. Indeed, the current hydraulic theory emphasises on P_{50} or P_{88} as the main parameter of the vulnerability curve (e.g. Choat *et al.* 2012; Bartlett *et al.* 2016), and since the current theory also emphasises on other traits (leaf turgor loss point, capacitance) as important for drought tolerance (Delzon 2015). Finally, this result suggests that drought resistance and drought tolerance as we defined it could be two decoupled aptitude. It is now well-established that P_{50} is a determinant trait for drought resistance, measured as desiccation time for instance (Martin-StPaul *et al.* 2017; Blackman, Li, *et al.* 2019; **Chapitre 7**), but our results suggest that P_{50} is not involved in drought tolerance.

Hydro-topographic gradients

The traits predicting the species distribution along topographic gradients according to the indices of Allié *et al.* (2015) are very few. Regarding traits related to the water transport capacity, the vessel density of the shoot stem is positively related to the relative elevation. Vessel density for petiole and shoot stem is negatively related to the slope angle. High vessel density is generally associated with low water transport capacity because of the trade-off with vessel diameter (Zanne *et al.* 2010), consistent with the relative water scarcity found on hilltops, and the high water drainage on steep slopes (Fortunel *et al.* 2014; Allié *et al.* 2015). Regarding drought tolerance and resistance traits, high leaf capacitance at full turgor is strongly associated with high relative elevation. A high leaf capacitance may allow to endure daily fluctuations in VPD and leaf water potential (Sack *et al.* 2003), in combination to a relatively lower soil water potential –and therefore Ψ_{md} – for hilltop trees, especially during the dry season (Ziegler *et al.*, 2019). $P_{88,stem}$ and t_{crit} are positively related to the slope angle, such that embolism and drought-resistant trees are found on steep drained slopes. However, this result is fragile and needs to be replicated since the slope angle- $P_{88,stem}$ relationship is really driven by the lowest $P_{88,stem}$ value (*Manilkara bidentata*), and since $P_{88,stem}$ is a strong determinant of t_{crit} (**Chapitre 7**).

The traits predicting the species distribution along topographic gradients according to a mean per species in relative elevation, slope angle, flow accumulation, and wetness index are relatively important. First, all leaf size traits are related to at least one topographic descriptor,

with a small blade found on hilltops and dry local environments. As discussed above, this is consistent with the well-established knowledge that small-leaved species are generally found on dry and xeric environments (Halloy and Mark 1996; Ackerly *et al.* 2002; Peppe *et al.* 2011; Moles *et al.* 2014), probably linking to the issue of leaf thermoregulation (Leigh *et al.* 2017). Second, most of the petiole anatomical traits (except cortex area, vessel density, LSC_{leaf}) are associated to at least one topographic parameter, generally the relative elevation or the wetness index. Accordingly, xylem and phloem areas, vessel hydraulic diameter, and xylem-specific conductivity in shoot stems are also related to relative elevation or wetness index. These results suggest that species exhibiting small tissue surfaces and lower water transport capacity are found on hilltops and dry local environments, in agreement with our hypothesis. However, Levionnois *et al.* (**Chapitre 2**) have demonstrated that vascular and hydraulic properties at the shoot level are tightly linked to leaf and blade area. This suggests that leaf and blade areas, rather than water transport properties, are the primary driver of species distribution along the hydro-topographic gradient. Moreover, LSC_{shoot} and LSC_{leaf} which reflect the water transport efficiency (i.e. water conduction per unit of leaf area), are not related to any topographic descriptor.

Finally, none of the hydraulic traits linking to drought resistance are associated to topographic descriptors, in disagreement with our hypothesis of drought resistance traits associated with locally dry environments. This result particularly contradicts the study of Oliveira *et al.* (2019), who found a relationship between $P_{50,\text{stem}}$ and relative elevation. They covered a larger range of elevation in comparison to us (5-35 m and 5-16 m respectively), potentially hindering our ability to detect the effect of the environment on the trait spatial distribution. This also contradicts the study of Bartlett, Zhang, *et al.* (2016) who found a spatial signature on the distribution of Ψ_{tip} . However, they investigated a largely more seasonal tropical forest, probably strengthening the effect of water availability with topography on trait composition during the dry season. As already discussed by Ziegler *et al.* (2019), this raises the question of what drives the variation of drought resistance traits in this forest. Particularly, embolism resistance (Ziegler *et al.*, 2019) and other related traits (stomatal-hydraulic safety margin, hydraulic safety margin, vulnerability segmentation) theoretically convey high drought resistance to these trees, which seem to be “over-calibrated” to the hydro-topographical environment. Therefore, in the perspective of predicting forest composition and dynamic with climate change and extreme drought events, confronting hydraulic traits to survival rates after a prominent water stress (e.g. through-fall exclusion experiment; long-term monitoring of undisturbed forest and climate) seems more relevant.

CONCLUSION

Overall, water transport and drought resistance traits are poor predictors of ecological processes and patterns for the Paracou forest. In particular, embolism resistance is not related to any ecological factor we investigated: species abundance, growth rates, growth-mediated drought response, hydro-topographical gradients. This contradicts the idea that embolism resistance is a highly mechanistic trait for ecology (Larter *et al.* 2017), at least at a local scale for a tropical rainforest poorly seasonal or dry in comparison to biomes like tropical dry forests and Mediterranean vegetation. However, blade area and other related traits (shoot stem and petiole anatomy and vasculature) are more predictive of these ecological processes and patterns. This suggests that the regulation of leaf temperature against damage of the photosynthetic apparatus is a more important constraint for tree drought tolerance and species spatial distribution in the Paracou forest. Moreover, the functional significance of leaf area and size in the perspective of plant economics are still poorly understood (Westoby *et al.* 2002; Reich 2014; **Chapitre 2**).

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the climbing team for canopy sampling: Jocelyn Cazal, Valentine Alt, Samuel Council, Anthony Percevaux, and Elodie Courtois. We thank all the technical assistance for field work: Oscar Affholder, Louise Authier, Anne Baranger, Maxime Bellifa, Benoit Burban, Maëlle Cario, Bruno Clair, Maxime Corbin, Elia Dardevet, Emilien Fort, Frederic Fung Foong You, Eva Gril, Thomas Saint-Germain, Ruth Tchana Wandji.

This study was funded by the GFelim project (FEDER 20142020, Project GY0006894) and an “Investissement d’Avenir” grant from the Agence Nationale de la Recherche (CEBA: ANR-10-LABX-0025; ARBRE, ANR-11-LABX-0002-01). S.L. was supported by a doctoral fellowship from CEBA.

LITERATURE CITED

- Ackerly D, Knight C, Weiss S, Barton K, Starmer K. 2002. Leaf size, specific leaf area and microhabitat distribution of chaparral woody plants: contrasting patterns in species level and community level analyses. *Oecologia* **130**: 449–457.
- Aleixo I, Norris D, Hemerik L, et al. 2019. Amazonian rainforest tree mortality driven by climate and functional traits. *Nature Climate Change* **9**: 384.
- Allen CD, Macalady AK, Chenchouni H, et al. 2010. A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests. *Forest Ecology and Management* **259**: 660–684.
- Allié E, Péliissier R, Engel J, et al. 2015. Pervasive Local-Scale Tree-Soil Habitat Association in a Tropical Forest Community. *PLOS ONE* **10**: e0141488.
- Aubry-Kientz M, Rossi V, Wagner F, Hérault B. 2015. Identifying climatic drivers of tropical forest dynamics. *Biogeosciences* **12**: 5583–5596.
- Bartlett, Klein, Jansen, Choat, Sack L. 2016. The correlations and sequence of plant stomatal, hydraulic, and wilting responses to drought. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **113**: 13098–13103.
- Bartlett, Zhang, Yang, et al. 2016. Drought tolerance as a driver of tropical forest assembly: resolving spatial signatures for multiple processes. *Ecology* **97**: 503–514.
- Blackman CJ, Creek D, Maier C, et al. 2019. Drought response strategies and hydraulic traits contribute to mechanistic understanding of plant dry-down to hydraulic failure. *Tree Physiology*.
- Blackman CJ, Li X, Choat B, et al. 2019. Desiccation time during drought is highly predictable across species of Eucalyptus from contrasting climates. *New Phytologist* **0**.
- Blackman CJ, Pfautsch S, Choat B, Delzon S, Gleason SM, Duursma RA. 2016. Toward an index of desiccation time to tree mortality under drought. *Plant, Cell & Environment* **39**: 2342–2345.
- Böhner. 2006. *{SAGA – Analysis and Modelling Applications}*. Verlag Erich Goltze GmbH.
- Bonan GB. 2008. Forests and Climate Change: Forcings, Feedbacks, and the Climate Benefits of Forests. *Science* **320**: 1444–1449.
- Brienen RJW, Phillips OL, Feldpausch TR, et al. 2015. Long-term decline of the Amazon carbon sink. *Nature* **519**: 344–348.
- Brodribb TJ. 2009. Xylem hydraulic physiology: The functional backbone of terrestrial plant productivity. *Plant Science* **177**: 245–251.
- Brodribb TJ, Bienaimé D, Marmottant P. 2016. Revealing catastrophic failure of leaf networks under stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **113**: 4865–4869.
- Brodribb TJ, Cochard H. 2009. Hydraulic Failure Defines the Recovery and Point of Death in Water-Stressed Conifers. *Plant Physiology* **149**: 575–584.
- Brodribb TJ, Holbrook NM, Zwieniecki MA, Palma B. 2005. Leaf hydraulic capacity in ferns, conifers and angiosperms: impacts on photosynthetic maxima. *New Phytologist* **165**: 839–846.
- Brodribb TJ, Skelton RP, McAdam SAM, Bienaimé D, Lucani CJ, Marmottant P. 2016. Visual quantification of embolism reveals leaf vulnerability to hydraulic failure. *New Phytologist* **209**: 1403–1409.
- Brum M, Teodoro GS, Abrahão A, Oliveira RS. 2017. Coordination of rooting depth and leaf hydraulic traits defines drought-related strategies in the campos rupestres, a tropical montane biodiversity hotspot. *Plant and Soil* **420**: 467–480.
- Choat B, Jansen S, Brodribb TJ, et al. 2012. Global convergence in the vulnerability of forests to drought. *Nature* **491**: 752–755.
- Cochard H, Badel E, Herbette S, Delzon S, Choat B, Jansen S. 2013. Methods for measuring plant vulnerability to cavitation: a critical review. *Journal of Experimental Botany*: ert193.
- Cornwell WK, Ackerly DD. 2010. A link between plant traits and abundance: evidence from coastal California woody plants. *Journal of Ecology* **98**: 814–821.
- Cosme LHM, Schiatti J, Costa FRC, Oliveira RS. 2017. The importance of hydraulic architecture to the distribution patterns of trees in a central Amazonian forest. *New Phytologist* **215**: 113–125.
- Delzon S. 2015. New insight into leaf drought tolerance. *Functional Ecology* **29**: 1247–1249.
- Duffy PB, Brando P, Asner GP, Field CB. 2015. Projections of future meteorological drought and wet periods in the Amazon. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **112**: 13172–13177.
- Duursma RA, Blackman CJ, López R, Martin-StPaul NK, Cochard H, Medlyn BE. 2019. On the minimum leaf conductance: its role in models of plant water use, and ecological and environmental controls. *New Phytologist* **221**: 693–705.
- Eller C, de V. Barros F, R.L. Bittencourt P, Rowland L, Mencuccini M, S. Oliveira R. 2018. Xylem hydraulic safety and construction costs determine tropical tree growth. *Plant, Cell & Environment*: n/a-n/a.
- Engelbrecht BMJ, Comita LS, Condit R, et al. 2007. Drought sensitivity shapes species distribution patterns in tropical forests. *Nature* **447**: 80–82.

- Esquivel-Muelbert A, Baker TR, Dexter KG, et al. 2017.** Seasonal drought limits tree species across the Neotropics. *Ecography* **40**: 618–629.
- Esquivel-Muelbert A, Baker TR, Dexter KG, et al. 2019.** Compositional response of Amazon forests to climate change. *Global Change Biology* **25**: 39–56.
- Esquivel-Muelbert A, Galbraith D, Dexter KG, et al. 2017.** Biogeographic distributions of neotropical trees reflect their directly measured drought tolerances. *Scientific Reports* **7**: 8334.
- Falster DS, Warton DI, Wright II. 2006.** User's guide to SMATR: Standardised Major Axis Tests & Routines Version 2.0, Copyright 2006. *R instructions*.
- Fargeon H, Aubry-Kientz M, Brunaux O, et al. 2016.** Vulnerability of Commercial Tree Species to Water Stress in Logged Forests of the Guiana Shield. *Forests* **7**: 105.
- 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. *Journal of Ecology* **98**: 106–116.
- Field CB, Behrenfeld MJ, Randerson JT, Falkowski P. 1998.** Primary Production of the Biosphere: Integrating Terrestrial and Oceanic Components. *Science* **281**: 237–240.
- Fortunel C, Fine PVA, Baraloto C. 2012.** Leaf, stem and root tissue strategies across 758 Neotropical tree species. *Functional Ecology* **26**: 1153–1161.
- 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 Phytologist* **202**: 79–94.
- Gloor M, Barichivich J, Ziv G, et al. 2015.** Recent Amazon climate as background for possible ongoing and future changes of Amazon humid forests. *Global Biogeochemical Cycles* **29**: 1384–1399.
- Gourlet-Fleury S, Guehl, O (ed) Laroussinie. 2004.** *Ecology and management of a neotropical rainforest : lessons drawn from Paracou, a long-term experimental research site in French Guiana*. Paris: Elsevier.
- Gruber S, Peckham S. 2009.** Chapter 7 Land-Surface Parameters and Objects in Hydrology In: Hengl T, Reuter HI, eds. *Geomorphometry. Developments in Soil Science*. Elsevier, 171–194.
- Halloy SRP, Mark AF. 1996.** Comparative leaf morphology spectra of plant communities in New Zealand, the Andes and the European Alps. *Journal of the Royal Society of New Zealand* **26**: 41–78.
- Hammond WM, Yu K, Wilson LA, Will RE, Anderegg WRL, Adams HD. 2019.** Dead or dying? Quantifying the point of no return from hydraulic failure in drought-induced tree mortality. *New Phytologist* **223**: 1834–1843.
- Harvey PH, Pagel MD. 1991.** *The comparative method in evolutionary biology*. Oxford University Press.
- Héroult B, Bachelot B, Poorter L, et al. 2011.** Functional traits shape ontogenetic growth trajectories of rain forest tree species. *Journal of Ecology* **99**: 1431–1440.
- Hijmans R. 2014.** raster: Geographic data analysis and modeling. R package version 2.2-31.
- Hilker T, Lyapustin AI, Tucker CJ, et al. 2014.** Vegetation dynamics and rainfall sensitivity of the Amazon. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **111**: 16041–16046.
- Larter M, Pfautsch S, Domec J-C, Trueba S, Nagalingum N, Delzon S. 2017.** Aridity drove the evolution of extreme embolism resistance and the radiation of conifer genus *Callitris*. *New Phytologist* **215**: 97–112.
- Leigh A, Sevanto S, Close JD, Nicotra AB. 2017.** The influence of leaf size and shape on leaf thermal dynamics: does theory hold up under natural conditions? *Plant, Cell & Environment* **40**: 237–248.
- Maherali H, Pockman WT, Jackson RB. 2004.** Adaptive radiation in the vulnerability of woody plants to xylem cavitation. *Ecology* **85**: 2184–2199.
- Martin-StPaul N, Delzon S, Cochard H. 2017.** Plant resistance to drought depends on timely stomatal closure. *Ecology Letters* **20**: 1437–1447.
- Moles AT, Perkins SE, Laffan SW, et al. 2014.** Which is a better predictor of plant traits: temperature or precipitation? *Journal of Vegetation Science* **25**: 1167–1180.
- Mouillot D, Mason NWH, Wilson JB. 2007.** Is the abundance of species determined by their functional traits? A new method with a test using plant communities. *Oecologia* **152**: 729–737.
- Murray BR, Thrall PH, Gill AM, Nicotra AB. 2002.** How plant life-history and ecological traits relate to species rarity and commonness at varying spatial scales. *Austral Ecology* **27**: 291–310.
- Oliveira RS, Costa FRC, Baalen E van, et al. 2019.** Embolism resistance drives the distribution of Amazonian rainforest tree species along hydro-topographic gradients. *New Phytologist* **221**: 1457–1465.
- Olson ME, Rosell JA, Zamora Muñoz S, Castorena M. 2018.** Carbon limitation, stem growth rate and the biomechanical cause of Corner's rules. *Annals of Botany* **122**: 583–592.
- Pan Y, Birdsey RA, Fang J, et al. 2011.** A Large and Persistent Carbon Sink in the World's Forests. *Science* **333**: 988–993.
- Peppe DJ, Royer DL, Cariglino B, et al. 2011.** Sensitivity of leaf size and shape to climate: global patterns and paleoclimatic applications. *New Phytologist* **190**: 724–739.

- Poorter L. 2008.** The relationships of wood-, gas- and water fractions of tree stems to performance and life history variation in tropical trees. *Annals of Botany* **102**: 367–375.
- Poorter L, Castilho CV, Schietti J, Oliveira RS, Costa FRC. 2018.** Can traits predict individual growth performance? A test in a hyperdiverse tropical forest. *New Phytologist* **0**.
- Poorter L, McDonald I, Alarcón A, et al. 2010.** The importance of wood traits and hydraulic conductance for the performance and life history strategies of 42 rainforest tree species. *New Phytologist* **185**: 481–492.
- Poorter L, Wright SJ, Paz H, et al. 2008.** Are Functional Traits Good Predictors of Demographic Rates? Evidence from Five Neotropical Forests. *Ecology* **89**: 1908–1920.
- Powell TL, Wheeler JK, Oliveira AAR de, et al. 2017.** Differences in xylem and leaf hydraulic traits explain differences in drought tolerance among mature Amazon rainforest trees. *Global Change Biology* **23**: 4280–4293.
- Reader RJ. 1998.** Relationship between species relative abundance and plant traits for an infertile habitat. *Plant Ecology* **134**: 43–51.
- Reich PB. 2014.** The world-wide ‘fast–slow’ plant economics spectrum: a traits manifesto. *Journal of Ecology* **102**: 275–301.
- Rowland L, Costa ACL da, Galbraith DR, et al. 2015.** Death from drought in tropical forests is triggered by hydraulics not carbon starvation. *Nature* **528**: 119–122.
- Saatchi SS, Harris NL, Brown S, et al. 2011.** Benchmark map of forest carbon stocks in tropical regions across three continents. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **108**: 9899–9904.
- Sack L, Cowan PD, Jaikumar N, Holbrook NM. 2003.** The ‘hydrology’ of leaves: co-ordination of structure and function in temperate woody species. *Plant, Cell & Environment* **26**: 1343–1356.
- Santiago LS, Guzman MED, Baraloto C, et al. 2018.** Coordination and trade-offs among hydraulic safety, efficiency and drought avoidance traits in Amazonian rainforest canopy tree species. *New Phytologist* **218**: 1015–1024.
- Sarmiento C, Patiño S, Paine CET, Beauchêne J, Thibaut A, Baraloto C. 2011.** Within-individual variation of trunk and branch xylem density in tropical trees. *American Journal of Botany* **98**: 140–149.
- Shipley B, Bello FD, Cornelissen JHC, Laliberté E, Laughlin DC, Reich PB. 2016.** Reinforcing loose foundation stones in trait-based plant ecology. *Oecologia* **180**: 923–931.
- Stahl C, Burban B, Wagner F, Goret J-Y, Bompy F, Bonal D. 2013.** Influence of Seasonal Variations in Soil Water Availability on Gas Exchange of Tropical Canopy Trees. *Biotropica* **45**: 155–164.
- ter Steege H, Pitman NCA, Phillips OL, et al. 2006.** Continental-scale patterns of canopy tree composition and function across Amazonia. *Nature* **443**: 444–447.
- ter Steege H, Pitman NCA, Sabatier D, et al. 2013.** Hyperdominance in the Amazonian Tree Flora. *Science* **342**: 1243092.
- Suding KN, Goldberg DE, Hartman KM. 2003.** Relationships Among Species Traits: Separating Levels of Response and Identifying Linkages to Abundance. *Ecology* **84**: 1–16.
- Trueba S, Pouteau R, Lens F, et al. 2017.** Vulnerability to xylem embolism as a major correlate of the environmental distribution of rain forest species on a tropical island. *Plant, Cell & Environment* **40**: 277–289.
- Turner IM. 2001.** *The Ecology of Trees in the Tropical Rain Forest*. Cambridge University Press.
- Tyree MT, Ewers FW. 1991.** The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *New Phytologist* **119**: 345–360.
- Urli M, Porté AJ, Cochard H, Guengant Y, Burrell R, Delzon S. 2013.** Xylem embolism threshold for catastrophic hydraulic failure in angiosperm trees. *Tree Physiology* **33**: 672–683.
- Violle C, Enquist BJ, McGill BJ, et al. 2012.** The return of the variance: intraspecific variability in community ecology. *Trends in Ecology & Evolution* **27**: 244–252.
- Violle C, Navas M-L, Vile D, et al. 2007.** Let the concept of trait be functional! *Oikos* **116**: 882–892.
- Wagner FH, Hérault B, Bonal D, et al. 2016.** Climate seasonality limits leaf carbon assimilation and wood productivity in tropical forests. *Biogeosciences* **13**: 2537–2562.
- Wagner F, Hérault B, Stahl C, Bonal D, Rossi V. 2011.** Modeling water availability for trees in tropical forests. *Agricultural and Forest Meteorology* **151**: 1202–1213.
- Wagner F, Rossi V, Aubry-Kientz M, et al. 2014.** Pan-Tropical Analysis of Climate Effects on Seasonal Tree Growth. *PLOS ONE* **9**: e92337.
- Wagner F, Rossi V, Stahl C, Bonal D, Hérault B. 2012.** Water Availability Is the Main Climate Driver of Neotropical Tree Growth. *PLOS ONE* **7**: e34074.
- Warton DI, Wright IJ, Falster DS, Westoby M. 2006.** Bivariate line-fitting methods for allometry. *Biological Reviews* **81**: 259–291.
- Westoby M, Falster DS, Moles AT, Vesk PA, Wright IJ. 2002.** Plant Ecological Strategies: Some Leading Dimensions of Variation between Species. *Annual Review of Ecology and Systematics* **33**: 125–159.

- Yan E-R, Yang X-D, Chang SX, Wang X-H. 2013.** Plant Trait-Species Abundance Relationships Vary with Environmental Properties in Subtropical Forests in Eastern China. *PLOS ONE* **8**: e61113.
- Zanne AE, Westoby M, Falster DS, et al. 2010.** Angiosperm wood structure: Global patterns in vessel anatomy and their relation to wood density and potential conductivity. *American Journal of Botany* **97**: 207–215.
- Ziegler C, Coste S, Stahl C, Delzon S, Levionnois S, Cazal J, Cochard H, Esquivel-Muelbert A, Goret J-Y, Heuret P, Jaouen G, Santiago LS, Bonal D. Submitted.** Large hydraulic safety margins protect Neotropical canopy rainforest tree species against hydraulic failure during drought.

SUPPORTING INFORMATION LEGENDS

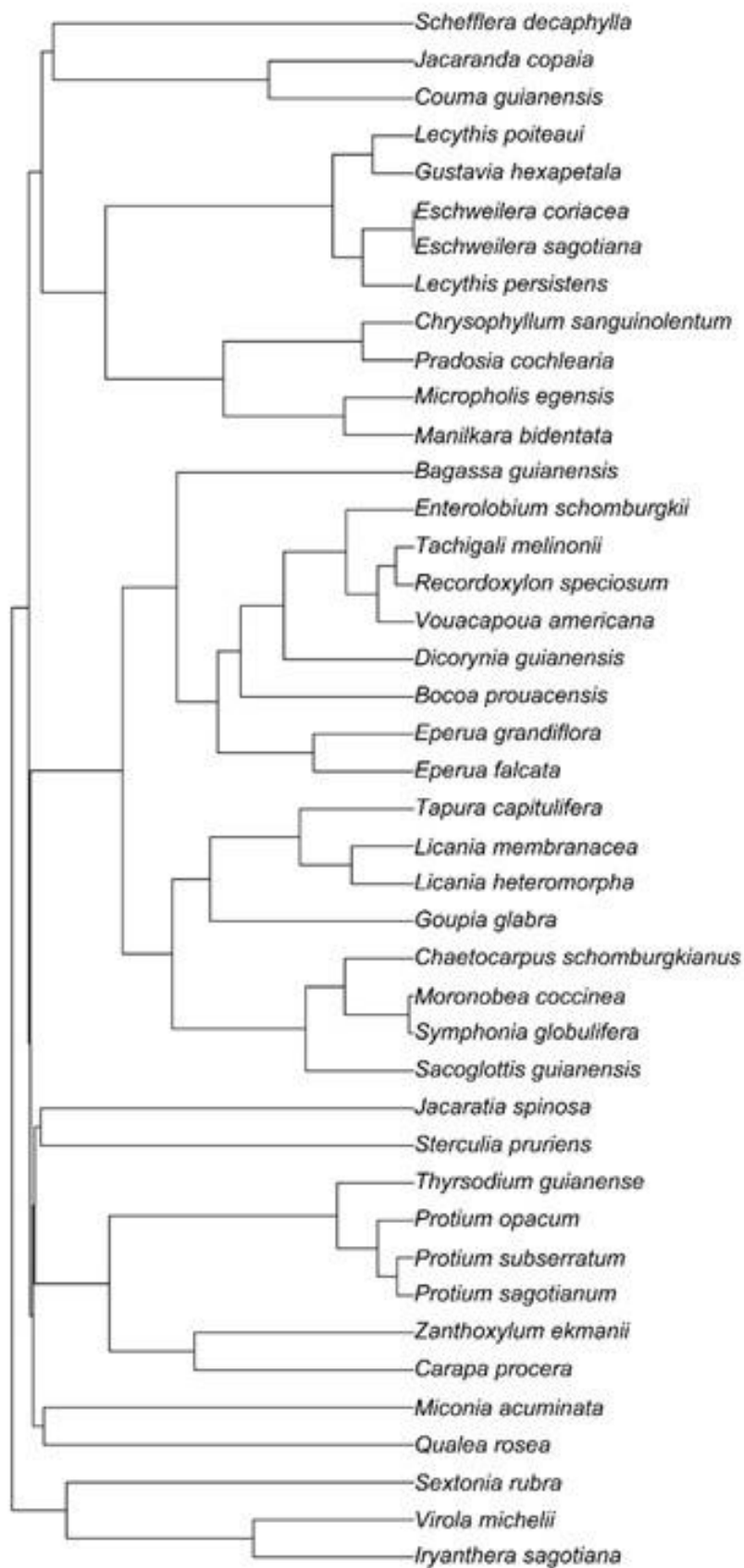


Fig. S1. Phylogenetic tree of the investigated species.

Table S1. Relationships between ecological processes and patterns (in columns) and leaf morphological traits (in lines) based on linear models.

Trait	Species abundance	95th-centile AGR	Mean AGR	Growth-mediated drought response (Aubry-Kientz et al. 2016)	Log(Relative elevation index) (Allié et al. 2015)	Log(Slope angle index) (Allié et al. 2015)	Mean relative elevation	Mean slope angle	Mean flow accumulation	Mean wetness index
Shoot area	0.481	0.190	0.355	0.600	0.601	0.792	0.057	0.301	0.034	0.005
Leaf area	0.950	0.943	0.959	0.935	0.499	0.885	0.110	0.287	0.080	0.009
Blade area	0.105	0.105	0.154	0.011	0.837	0.353	0.003	0.002	0.245	0.002
Blade length	0.228	0.163	0.146	0.021	0.842	0.554	0.022	0.226	0.086	0.011

Bold values represent significant relationships ($P < 0.05$). P-values are displayed.***: $P < 0.001$; **: $P < 0.01$; *: $P < 0.05$.

Table S2. Relationships between ecological processes and patterns (in columns) and leaf anatomical traits (in lines) based on linear models.

Trait	Species abundance	95th-centile AGR	Mean AGR	Growth-mediated drought response (Aubry-Kientz et al. 2016)	Log(Relative elevation index) (Allié et al. 2015)	Log(Slope angle index) (Allié et al. 2015)	Mean relative elevation	Mean slope angle	Mean flow accumulation	Mean wetness index
Section area	0.653	0.373	0.364	0.897	0.971	0.710	0.057	0.385	0.031	0.015
Pith area	0.958	0.785	0.755	0.829	0.659	0.889	0.058	0.197	0.028	0.006
Xylem area	0.957	0.833	0.793	0.762	0.709	0.972	0.157	0.319	0.062	0.020
Phloem area	0.845	0.631	0.620	0.896	0.777	0.935	0.029	0.085	0.047	0.003
Cortex area	0.320	0.090	0.102	0.410	0.561	0.346	0.141	0.940	0.150	0.264
Vessel D_h	0.428	0.985	0.832	0.810	0.533	0.484	0.034	0.008	0.183	0.005
Vessel density	0.652	0.884	0.837	0.558	0.158	0.014	0.528	0.227	0.329	0.068
Conductive area	0.913	0.859	0.808	0.694	0.715	0.945	0.109	0.202	0.074	0.016
K_{th}	0.994	0.940	0.892	0.720	0.701	0.950	0.178	0.293	0.085	0.024
K_s	0.067	0.207	0.461	0.627	0.582	0.389	0.034	0.000	0.558	0.088
LSC	0.378	0.618	0.756	0.392	0.849	0.269	0.250	0.611	0.127	0.227

Bold values represent significant relationships ($P < 0.05$). P-values are displayed.***: $P < 0.001$; **: $P < 0.01$; *: $P < 0.05$.

Table S3. Relationships between ecological processes and patterns (in columns) and stem anatomical traits (in lines) based on linear models.

Trait	Species abundance	95th-centile AGR	Mean AGR	Growth-mediated drought response (Aubry-Kientz et al. 2016)	Log(Relative elevation index) (Allié et al. 2015)	Log(Slope angle index) (Allié et al. 2015)	Mean relative elevation	Mean slope angle	Mean flow accumulation	Mean wetness index
Stem area	0.245	0.008	0.051	0.469	0.912	0.673	0.292	0.914	0.319	0.233
Pith area	0.205	0.006	0.042	0.520	0.930	0.693	0.469	0.953	0.634	0.458
Xylem area	0.373	0.166	0.335	0.534	0.668	0.572	0.063	0.335	0.046	0.013
Phloem area	0.304	0.159	0.306	0.534	0.722	0.647	0.036	0.164	0.051	0.006
Cortex area	0.273	0.005	0.038	0.478	0.818	0.801	0.463	0.832	0.483	0.467
Vessel D _h	0.309	0.184	0.391	0.406	0.224	0.175	0.011	0.055	0.053	0.002
Vessel density	0.685	0.498	0.929	0.294	0.041	0.031	0.825	0.680	0.742	0.297
Conductive area	0.258	0.016	0.084	0.451	0.694	0.480	0.166	0.659	0.175	0.097
K _{th}	0.309	0.053	0.162	0.376	0.764	0.345	0.167	0.679	0.105	0.098
K _s	0.087	0.079	0.208	0.310	0.319	0.190	0.006	0.004	0.234	0.007
LSC _{shoot}	0.143	0.120	0.308	0.235	0.573	0.126	0.187	0.401	0.315	0.204
LSC _{shoot} - LSC _{leaf}	0.149	0.084	0.263	0.242	0.521	0.113	0.183	0.380	0.399	0.215

Bold values represent significant relationships ($P < 0.05$). P-values are displayed.***: $P < 0.001$; **: $P < 0.01$; *: $P < 0.05$.

Table S4. Relationships between ecological processes and patterns (in columns) and leaf hydraulic traits (in lines) based on linear models.

Trait	Species abundance	95th-centile AGR	Mean AGR	Growth-mediated drought response (Aubry-Kientz et al. 2016)	Log(Relative elevation index) (Allié et al. 2015)	Log(Slope angle index) (Allié et al. 2015)	Mean relative elevation	Mean slope angle	Mean flow accumulation	Mean wetness index
Ψ_{md}	0.115	0.183	0.184	0.156	0.499	0.476	0.592	0.901	0.679	0.911
g_{min}	0.421	0.944	0.864	0.023	0.873	0.457	0.058	0.391	0.087	0.193
$P_{12,leaf}$	0.655	0.356	0.210	0.693	0.893	0.332	0.515	0.249	0.864	0.682
$P_{50,leaf}$	0.547	0.904	0.688	0.933	0.933	0.176	0.716	0.881	0.970	0.962
$P_{88,leaf}$	0.723	0.798	0.947	0.529	0.860	0.158	0.951	0.812	0.924	0.958
Ψ_{tip}	0.119	0.933	0.869	0.827	0.496	0.751	0.487	0.969	0.427	0.393
$C_{ft,leaf}$	0.667	0.471	0.653	0.457	0.002	0.268	0.895	0.140	0.985	0.517
$C_{tip,leaf}$	0.671	0.832	0.868	0.757	0.579	0.874	0.635	0.555	0.642	0.420

Bold values represent significant relationships ($P < 0.05$). P-values are displayed.***: $P < 0.001$; **: $P < 0.01$; *: $P < 0.05$.

Table**S5.** Relationships between ecological processes and patterns (in columns) and stem hydraulic traits (in lines) based on linear models.

Trait	Species abundance	95th-centile AGR	Mean AGR	Growth-mediated drought response (Aubry-Kientz et al. 2016)	Log(Relative elevation index) (Allié et al. 2015)	Log(Slope angle index) (Allié et al. 2015)	Mean relative elevation	Mean slope angle	Mean flow accumulation	Mean wetness index
$P_{12,stem}$	0.695	0.418	0.428	0.681	0.639	0.503	0.835	0.693	0.874	0.871
$P_{50,stem}$	0.384	0.703	0.631	0.911	0.953	0.127	0.863	0.788	0.847	0.647
$P_{88,stem}$	0.261	0.996	0.858	0.622	0.654	0.044	0.903	0.890	0.663	0.534
Vulnerability curve slope	0.256	0.153	0.458	0.014	0.930	0.761	0.571	0.913	0.404	0.495
Maximum vessel length	0.909	0.237	0.240	0.079	0.991	0.588	0.591	0.278	0.807	0.490
Wood specific gravity	0.785	0.887	0.627	0.122	0.831	0.540	0.264	0.293	0.899	0.495

Bold values represent significant relationships ($P < 0.05$). P-values are displayed.***: $P < 0.001$; **: $P < 0.01$; *: $P < 0.05$.

Table S6. Relationships between ecological processes and patterns (in columns) and safety margin traits (in lines) based on linear models.

Trait	Species abundance	95th-centile AGR	Mean AGR	Growth-mediated drought response (Aubry-Kientz et al. 2016)	Relative elevation index (Allié et al. 2015)	Slope angle index (Allié et al. 2015)	Mean relative elevation	Mean slope angle	Mean flow accumulation	Mean wetness index
$P_{88,leaf} - P_{88,stem}$	0.248	0.991	0.888	0.508	0.590	0.138	0.636	0.956	0.840	0.615
$\Psi_{tip} - P_{88,stem}$	0.450	0.973	0.825	0.662	0.752	0.051	0.804	0.880	0.776	0.641
$\Psi_{md} - P_{88,stem}$	0.426	0.807	0.677	0.814	0.535	0.053	0.734	0.883	0.791	0.563
$\Psi_{tip} - P_{88,leaf}$	0.718	0.774	0.864	0.553	0.635	0.148	0.915	0.968	0.709	0.839
$\Psi_{md} - P_{88,leaf}$	0.911	0.590	0.658	0.331	0.866	0.235	0.906	0.939	0.808	0.836
$\Psi_{md} - \Psi_{tip}$	0.922	0.501	0.545	0.506	0.248	0.842	0.737	0.963	0.813	0.691
t_{crit} (Blackman et al. 2016)	0.237	0.265	0.205	0.573	0.766	0.169	0.389	0.768	0.961	0.826
t_{crit} (Levionnois et al.)	0.109	0.947	0.838	0.557	0.066	0.010	0.981	0.519	0.412	0.282

Bold values represent significant relationships ($P < 0.05$). P-values are displayed.***: $P < 0.001$; **: $P < 0.01$; *: $P < 0.05$.

DISCUSSION GÉNÉRALE

I – SYNTHÈSE : STRUCTURE ET FONCTIONNEMENT DE LA POUSSE FEUILLÉE DES ARBRES TROPICAUX

Cette thèse a permis dans un premier temps d'analyser l'organisation morpho-anatomique de la pousse feuillée à une échelle interspécifique (42 espèces), et en considérant ainsi une large gamme de tailles de feuilles (10 à 2100 cm² pour la surface du limbe). Cette analyse a également été menée à une échelle intraspécifique pour le modèle *Cecropia obtusa*, en considérant les relations morpho-anatomiques et fonctionnelles entre le pétiole et le limbe de la feuille. Dans un second temps, j'ai analysé les déterminants anatomiques de la résistance à l'embolie du xylème des tiges. Alors que la résistance à l'embolie tend à être considérée comme l'un des principaux déterminants de la résistance à la sécheresse, cette analyse est la première à ma connaissance qui porte sur des arbres de forêts tropicales humides. Dans un troisième temps, j'ai étudié la segmentation hydraulique (par une approche anatomique) et la segmentation de vulnérabilité (par une approche physiologique) au sein de la pousse feuillée ainsi que leur coordination. J'ai poursuivi ce travail par une analyse sur l'effet théorique de la segmentation de vulnérabilité sur le temps de dessiccation des pousses feuillées. Enfin, dans un dernier chapitre amorçant cette discussion, j'ai synthétisé l'ensemble des traits étudiés dans cette thèse pour étudier leur lien avec l'écologie des arbres tropicaux à une échelle locale.

Cette thèse s'articule ainsi autour de trois axes de recherche : (i) la dimension des organes et l'organisation morphologique de la pousse feuillée, (ii) les traits de résistance à la sécheresse au niveau de la pousse feuillée, et (iii) l'anatomie de la feuille et de la tige (Fig. 1).

Cependant, dans ce cadre général, il y a des points plus faiblement abordés et qui seront en partie discutés dans cette discussion générale. Premièrement, la considération de l'anatomie de la feuille (pétiole, pétiolule, nervure médiane) à l'échelle interspécifique reste marginale dans ce travail. Un chapitre traitant pleinement des déterminants anatomiques de la résistance à l'embolie de la feuille aurait complété judicieusement cette étude, d'autant plus que j'ai réalisé les coupes anatomiques sur l'ensemble de ces structures. Par ailleurs, les résultats concernant les feuilles simples et les feuilles composées soulèvent de nombreuses interrogations quant à leur fonctionnement respectif. Les espèces échantillonnées ayant été choisies selon un cahier des charges collectif au-delà des besoins de cette thèse en particulier, je n'ai pas pu collecter des espèces à feuilles simples et à feuilles composées couvrant des gammes de taille similaire dans la mesure du possible. Dans ce travail, les feuilles les plus grandes sont majoritairement des feuilles composées (Fig. 2) et qui constituent environ un tiers des 42 espèces du **chapitre 2**.

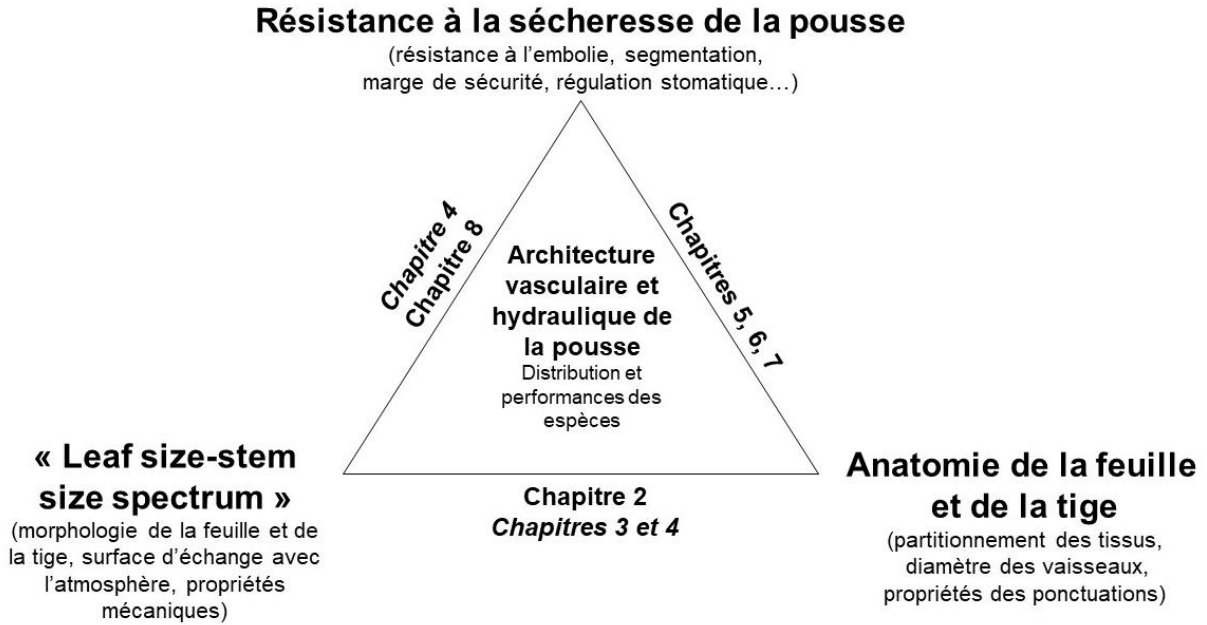


Fig. 1. Schéma récapitulatif de la structure de la thèse. Les chapitres en italiques indiquent les études à l'échelle intraspécifique pour le modèle *Cecropia obtusa*.

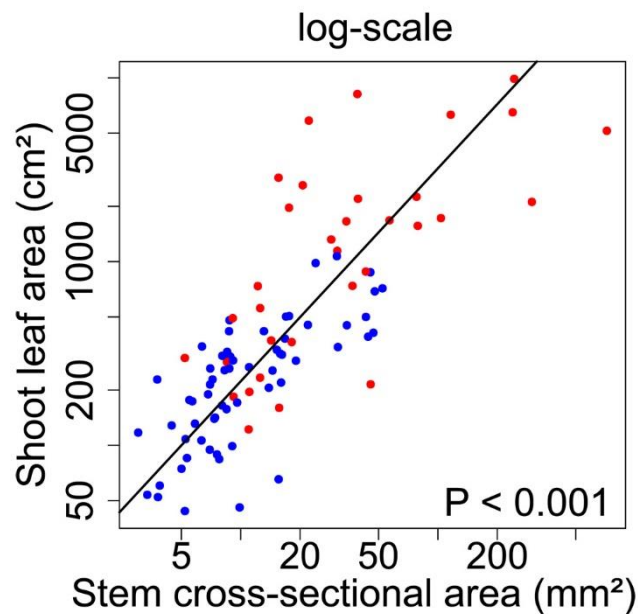


Fig. 2. Relation entre la surface de la pousse feuillée et la surface de section de tige, en fonction du type de feuille (feuille simple et feuille composée). Chaque point représente un individu. Points bleus : feuille simple : points rouges : feuilles composées.

Les **chapitres 2 et 3** se sont attachés à caractériser l'organisation morpho-anatomique de la pousse feuillée en considérant en particulier (i) les relations entre l'extrémité de la tige et la surface foliaire qu'elles portent pour des espèces à petites et grandes feuilles, (ii) les relations entre le pétiole et le limbe associé pour *C. obtusa* pour des feuilles dont la taille est variable en raison du stade ontogénétique de l'arbre échantillonné ou de la saison durant laquelle la feuille a été allongée. Ce travail a mis en avant que la moelle de la tige covarie avec les dimensions foliaires. La moelle étant constituée d'un tissu parenchymateux très peu dense, la mise à distance des tissus rigides du centre de l'axe implique que les grandes feuilles sont portées par des tiges dont la rigidité en flexion est déterminée par le moment d'inertie en flexion plutôt que le module d'élasticité des tissus. Cette rigidité en flexion est disproportionnellement plus élevée pour les axes portant des grandes feuilles par rapport aux axes portant des petites feuilles. Par ailleurs, construire des axes épais avec une grande moelle centrale, permet de minimiser l'investissement en carbone par volume de tige. Ces chapitres ont aussi permis de montrer que les espèces à grandes feuilles étaient associées à une surface de xylème dans leur axe porteur disproportionnellement plus faible que les espèces à petites feuilles. Ceci a pour conséquence (i) de maximiser le rapport entre la surface foliaire et la surface de xylème et (ii) de minimiser les coûts de construction de la tige ou du pétiole dans le cas de *C. obtusa*. Par ailleurs, la dimension des feuilles est fortement corrélée aux diamètres des vaisseaux dans le xylème de la tige. Les plus gros vaisseaux, associés aux grandes feuilles, permettent de maintenir une conductivité dans la tige proportionnelle à la surface de la feuille alimentée, telle que l'alimentation théorique en eau par unité de surface foliaire est indépendante des dimensions de la feuille.

Le **chapitre 3** ayant permis de saisir les effets des dimensions de la feuille chez *Cecropia obtusa*, à la fois sur sa structure et son fonctionnement, j'ai pu dans le **chapitre 4** plus facilement isoler les effets de l'ontogénie, de la saisonnalité, et de la sénescence sur la morpho-anatomie et le fonctionnement des feuilles. Chacun de ses trois paramètres affecte (i) la structure morpho-anatomique de la feuille et son fonctionnement hydraulique théorique et/ou (ii) l'assimilation photosynthétique. Un résultat majeur est que les feuilles mises en place en saison sèche sont plus petites, moins conductives (en termes d'alimentation théorique en eau par unité de surface foliaire), et assimilent moins de carbone par unité de surface et de masse.

Le **chapitre 5** et une partie du **chapitre 6** sont centrés sur la relation entre anatomie et fonctionnement hydraulique à l'échelle de la pousse feuillée pour 25 espèces. Les traits anatomiques pris séparément expliquent peu la variation interspécifique de la résistance à l'embolie du xylème des tiges. Au mieux, la surface moyenne de la membrane des punctuations explique ~25% de la variance de la P_{50} . Par contre, la considération simultanée de plusieurs traits, dans un modèle multiple avec les variables explicatives uniquement en interactions a permis (i) d'expliquer jusqu'à 65% de la variation

(pour la P_{88}) et (ii) d'identifier les traits semblant être directement impliqués dans la résistance à l'embolie (épaisseur, surface moyenne, et densité électronique de la membrane de la ponctuation, groupement des vaisseaux). Sur la base d'une moyenne pour toutes les espèces étudiées, l'épaisseur de la membrane des ponctuations est plus faible dans les feuilles que dans les tiges, ce qui corrobore (i) la segmentation de vulnérabilité trouvée pour une majorité des espèces telles que les feuilles sont plus vulnérables à l'embolie que les tiges, et (ii) la résistance à l'embolie est principalement déterminée par les propriétés ultrastructurales de la membrane des ponctuations.

Les **chapitres 6 et 7** étaient centrés sur la segmentation hydraulique et la segmentation de vulnérabilité à l'interface tige-feuille. Une segmentation hydraulique positive (feuilles avec une plus grande résistance hydraulique que la tige) a été trouvée pour toutes les espèces étudiées, suggérant que la segmentation hydraulique est un patron généralisable à l'ensemble des espèces. Une segmentation de vulnérabilité positive (xylème des feuilles plus vulnérable à l'embolie que celui des tiges) a été trouvée pour environ deux tiers des espèces, posant ainsi la question de l'implication fonctionnelle d'une segmentation de vulnérabilité négative. L'étude particulière de la segmentation de vulnérabilité à partir d'un modèle théorique basé sur des traits physiologiques suggère qu'elle a une forte incidence sur le temps de dessiccation de la pousse feuillée, suggérant par la même que la segmentation de vulnérabilité est un mécanisme de résistance à la sécheresse majeur pour la maximisation de la survie de la plante. Cependant, le renforcement des fondements du modèle théorique utilisé, et davantage d'approches empiriques doivent confirmer ces résultats.

Le **chapitre 8** a permis de montrer que l'ensemble des traits étudiés dans le cadre de cette thèse, et notamment les traits hydrauliques liés à la conduction et à la résistance à la sécheresse, prédisaient que très peu pour une échelle locale la distribution des espèces le long des gradients hydro-topographiques, ainsi que la réponse des arbres aux stress hydriques par la croissance en diamètre. Cependant, il apparaît que la surface de la feuille individuelle est le trait qui permet de mieux prédire la distribution des espèces le long des gradients hydro-topographiques, ainsi que la réponse des arbres aux stress hydriques par la croissance en diamètre. L'implication fonctionnelle de la surface de la feuille, notamment du point de vue hydraulique, est au centre de cette discussion générale.

II – IMPLICATIONS FONCTIONNELLES DE LA SURFACE DE LA FEUILLE

1. La surface de la feuille impacte-t-elle la conduction ?

Perspective dans l'économie du carbone

Les résultats des **chapitres 2 et 3** suggèrent que les gros vaisseaux associés aux grandes feuilles permettent de minimiser le nombre de vaisseaux et donc la surface de xylème, et à la fois permettent d'atténuer les effets de la résistance hydrodynamique. Cependant, ces ajustements vasculaires importants semblent ne pas affecter la conduction foliaire, tel que l'alimentation en eau par unité de surface foliaire est indépendante de la dimension des organes. Ces résultats sont cohérents avec une autre étude montrant que la conductivité spécifique foliaire (mesurée sur la base de flux) n'affecte pas la relation entre surface de la feuille et surface de la tige (Normand *et al.*, 2008).

Ces résultats corroborent l'idée que les dimensions de la feuille sont indépendantes du spectre d'économie de la feuille (*leaf economics spectrum* ; Wright *et al.*, 2004), si l'on assume que la conductance foliaire K_{leaf} est directement liée à la capacité d'assimilation photosynthétique (Brodribb *et al.*, 2005, 2007; Brodribb, 2009; Scoffoni *et al.*, 2016). De plus, la masse foliaire surfacique est indépendante de la surface foliaire entre 25 espèces du **chapitre 2** (résultats non montrés). Pour 668 espèces échantillonnées en Guyane, Baraloto *et al.* (2010b) ont montré que la surface foliaire était indépendante du spectre d'économie foliaire (notamment structuré autour de la masse foliaire surfacique, les concentrations foliaires en potassium et en azote et la dureté de la feuille).

Plusieurs éléments supportent pourtant l'idée que les dimensions foliaires, et notamment la surface foliaire, ont un impact sur l'économie du carbone à l'échelle de la plante. Premièrement, plusieurs études sur l'hypothèse de rendement décroissant (*diminishing return hypothesis*) suggèrent que le coût relatif en carbone d'une feuille augmente plus rapidement que la surface du limbe. Autrement dit, les grandes feuilles seraient disproportionnellement plus coûteuses en carbone que les petites. Ces études sont basées sur la relation allométrique entre la masse foliaire sèche (intégrant le pétiole et quelques fois l'entre-nœud soutenant la feuille) et la surface du limbe à la fois aux échelles intra- en interspécifique (Niklas *et al.*, 2007; Niinemets *et al.*, 2007; Milla and Reich, 2007; Niklas and Cobb, 2008; Niklas *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2010a). Des analyses préliminaires dans la continuité du **chapitre 3**, sur le modèle *Cecropia obtusa* sur la base de ~4000 feuilles, montrent que les grandes feuilles ont une masse sèche disproportionnellement plus importante (intégrant la masse du pétiole), supportant l'hypothèse de rendement décroissant (Fig. 3). De plus, sur la base de ~200 feuilles, ces

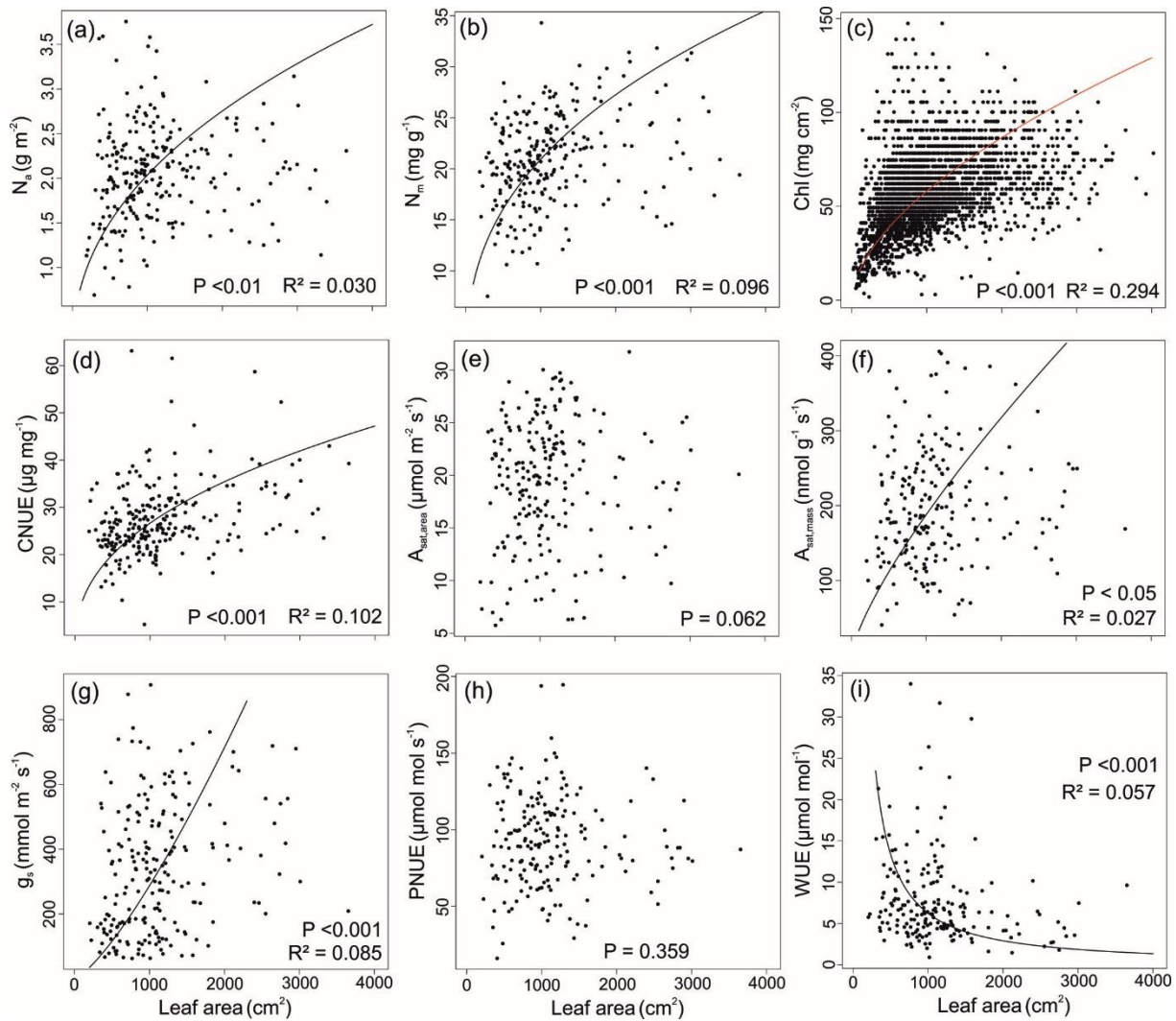


Fig. 3. Effets de la surface du limbe sur les traits chimiques et d'échanges de gaz chez *Cecropia obtusa*. **(a)** Concentration en azote par unité de surface foliaire en fonction de la surface du limbe. **(b)** Concentration en azote par unité de masse sèche foliaire en fonction de la surface du limbe. **(c)** Concentration foliaire en chlorophylle estimée par mesures SPAD en fonction de la surface du limbe. **(d)** Efficacité de l'utilisation de l'azote pour la chlorophylle (N_a/Chl) en fonction de la surface du limbe. **(e)** Assimilation photosynthétique par unité de surface foliaire en fonction de la surface du limbe. **(f)** Assimilation photosynthétique par unité de masse sèche foliaire en fonction de la surface du limbe. **(g)** Conductance stomatique en fonction de la surface du limbe. **(h)** Efficacité de l'utilisation de l'azote dans l'assimilation photosynthétique ($A_{sat,area}/N_a$) en fonction de la surface du limbe. **(i)** Efficacité de l'utilisation de l'eau ($A_{sat,area}/g_s$) en fonction de la surface du limbe. Chaque point représente une feuille.

analyses suggèrent que l'augmentation de la surface du limbe affecte le fonctionnement de la feuille, avec des concentrations en azote et en chlorophylle, et une assimilation photosynthétique et une conductance stomatique qui augmentent, ainsi qu'une efficacité de l'utilisation de l'eau qui diminue (Fig. 3a,b,c,f,g). Ces résultats sont à ma connaissance le premier test de l'hypothèse de rendement décroissant intégrant des données physiologiques. Ces résultats suggèrent que la surface foliaire n'est pas forcément indépendante du spectre d'économie foliaire, et doit dépendre de l'échelle d'analyse

(voir par exemple Milla and Reich, 2007, qui intègrent plusieurs biomes et formes de croissance), ou de la variabilité intraspécifique (Milla and Reich, 2007; Sun Jun *et al.*, 2017).

Si l'hypothèse de rendement décroissant est effectivement vraie dans certains contextes, alors on pourrait s'attendre à ce que la conductance foliaire K_{leaf} augmente avec la surface de la feuille. Nos analyses préliminaires pour *Cecropia obtusa* corroborent partiellement cette idée, en montrant une tendance à ce que la conductance stomatique soit positivement corrélée à la surface de la feuille. Or, la conductance stomatique est généralement positivement corrélée à la conductance foliaire (Küppers, 1984; Meinzer and Grantz, 1990; Aasamaa *et al.*, 2001; Santiago *et al.*, 2004; Sack and Scoffoni, 2012). De plus, Yang *et al.* (2010b) ont montré sur la base d'un modèle que le rendement décroissant (les grandes feuilles sont disproportionnellement plus couteuses en carbone) devrait être associé à des mécanismes de compensation afin de ne pas négativement affecter la balance économique du carbone. Ils suggèrent ainsi, sur la base de leur modèle, que les grandes feuilles devraient avoir soit une assimilation photosynthétique plus importante, soit une durée de vie plus importante. Le premier mécanisme de compensation s'il est vrai, suggère donc que l'on pourrait s'attendre à ce que les grandes feuilles aient une conductance foliaire plus importante, la conductance foliaire déterminant la capacité d'assimilation photosynthétique (Brodribb *et al.*, 2005, 2007; Brodribb, 2009; Scoffoni *et al.*, 2016).

Perspective sur la thermorégulation de la feuille

Une autre hypothèse peut être émise quant à une relation attendue entre la surface foliaire et la conductance foliaire. Une force de sélection s'exerçant sur la surface foliaire est la régulation thermique. Les grandes feuilles possèdent en effet une couche limite plus épaisse à leur surface, empêchant la dissipation de la chaleur par rapport aux petites feuilles (Leigh *et al.*, 2017; Drake *et al.*, 2018), au risque d'altérer l'appareil photosynthétique (Berry and Bjorkman, 1980; Sage and Kubien, 2007; Michaletz *et al.*, 2016; O'sullivan *et al.*, 2017). Ainsi, la conductance stomatique est un mécanisme permettant de dissiper cette chaleur, et pourrait être attendue comme étant positivement corrélée à la surface foliaire, pour un déficit donné en vapeur pression. Par extension, il serait alors attendu que la conductance foliaire K_{leaf} soit aussi corrélée à la surface foliaire, la conductance stomatique et la conductance foliaire étant généralement positivement corrélées (Küppers, 1984; Meinzer and Grantz, 1990; Aasamaa *et al.*, 2001; Santiago *et al.*, 2004; Sack and Scoffoni, 2012). À ma connaissance (i) aucune étude n'analyse la relation entre la surface foliaire et la conductance stomatique, et (ii) le lien entre surface foliaire et conductance foliaire est seulement indirecte. En effet, la densité de la nervation est maintenant bien connue pour être dépendante de la surface du limbe (Sack *et al.*, 2012, 2015), alors que la densité de nervation est positivement corrélée à la conductance foliaire

(Sack and Frole, 2006; Brodribb *et al.*, 2007; McKown *et al.*, 2010; Nardini *et al.*, 2014; Sack *et al.*, 2015).

Cependant, l'importance de la thermorégulation ne signifie pas forcément avoir une grande transpiration à un moment donné, mais plutôt de maintenir un niveau minimum de transpiration aux moments les plus stressants. En effet, la majorité des espèces semblent avoir une forte régulation stomatique diurne, avec une fermeture des stomates intervenant aux moments de la journée avec les plus forts déficits en vapeur pression afin de limiter la chute du potentiel hydrique dans les tissus (Cruziat *et al.*, 2002; Brodribb and Holbrook, 2005; Martínez-Vilalta and Garcia-Forner, 2017). Le problème alors qui se pose pour les espèces à grandes feuilles est de trouver le compromis entre (i) fermer les stomates pour minimiser le stress hydrique et la déshydratation, et (ii) l'ouverture des stomates pour assurer la thermorégulation des feuilles. Dans cette perspective, il semble important d'étudier l'évolution diurne du potentiel hydrique foliaire et de la conductance stomatique entre espèces à grandes feuilles vs petites feuilles.

2. La surface de la feuille impacte-t-elle la résistance à l'embolie ?

Le **chapitre 5** a permis de montrer que la résistance à l'embolie du xylème de la tige était corrélée au diamètre des vaisseaux, les espèces à gros vaisseaux ayant tendance à être plus vulnérables. Des résultats préliminaires sur les espèces étudiées dans le cadre de cette thèse montrent aussi que le diamètre des vaisseaux dans la nervure médiane dans le pétiole ou le pétiolule est corrélé à la résistance à l'embolie de la feuille ou de la foliole, tel que les vaisseaux larges sont associés à une plus forte vulnérabilité (Fig. 4). Ce résultat corrobore d'autres études montrant que le diamètre des vaisseaux peut être lié à la résistance à l'embolie de la tige en lien à la sécheresse (Wheeler *et al.*, 2005; Hacke *et al.*, 2006, 2016; Sperry *et al.*, 2006, 2008). Scoffoni *et al.* (2017b) ont aussi montré une relation positive entre le diamètre des vaisseaux de la nervure primaire de la feuille et la perte de conductance foliaire induite par embolie.

La méthode de visualisation optique pour la quantification de la résistance à l'embolie permet aussi d'observer que pour une feuille donnée, les nervures fines sont plus résistantes à l'embolie que la nervure médiane (Brodribb *et al.*, 2016b,a), les nervures fines possédant les vaisseaux les moins larges au sein de la feuille (Coomes *et al.*, 2008; Scoffoni *et al.*, 2017b; Gleason *et al.*, 2018; Lechthaler *et al.*, 2018). Nous avons aussi fait cette observation pour une majorité d'espèces dans notre étude du **chapitre 6**, dans l'application de la méthode optique pour la quantification de la résistance à l'embolie du xylème des feuilles.

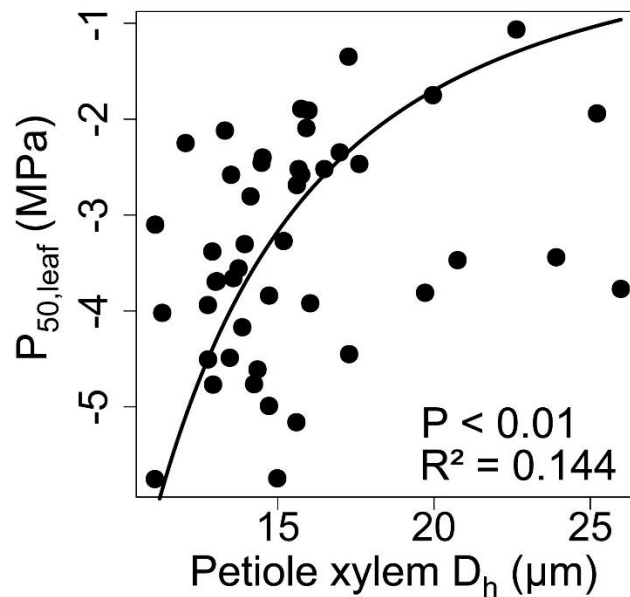


Fig. 4. Relation entre la résistance à l’embolie du xylème de la feuille ($P_{50,leaf}$) et le diamètre hydraulique moyen (D_h) des vaisseaux du xylème du pétiole. Chaque point représente une espèce.

Les **chapitres 2 et 3** ont permis de montrer que la dimension de la feuille était positivement corrélée au diamètre des vaisseaux. Le diamètre des vaisseaux dans la tige à la base de la pousse feuillée est positivement corrélé à la surface foliaire à l’échelle interspécifique, et le diamètre des vaisseaux du pétiole est positivement corrélé à la surface du limbe pour *Cecropia obtusa*. Nos résultats corroborent plusieurs autres études montrant une relation positive entre le diamètre des vaisseaux et les dimensions de la plante entière (Olson *et al.*, 2009, 2014; Olson and Rosell, 2013), des racines (Petit *et al.*, 2009) ou de la feuille (Coomes *et al.*, 2008; Lechthaler *et al.*, 2018).

La relation entre (i) le diamètre des vaisseaux et la résistance à l’embolie, semblant être valable à la fois pour la tige et la feuille, et (ii) la relation entre le diamètre des vaisseaux et les dimensions de l’organe ou de la plante, suggèrent l’existence d’une relation entre la surface de la feuille et la résistance à l’embolie, tel que les grandes feuilles seraient plus vulnérables à l’embolie. Pour nos espèces étudiées, des résultats préliminaires sur la base des données disponibles suite au **chapitre 6**, suggèrent que ni la résistance à l’embolie de la tige ni la résistance à l’embolie de la feuille ne sont corrélées à la surface foliaire de la pousse feuillée, à la surface de la feuille ou de la foliole en particulier, ou à la surface de section de la tige. Par contre, certaines représentations graphiques suggèrent que l’association entre une forte résistance à l’embolie et une grande surface foliaire à l’échelle de la pousse est peu probable (Fig. 5).

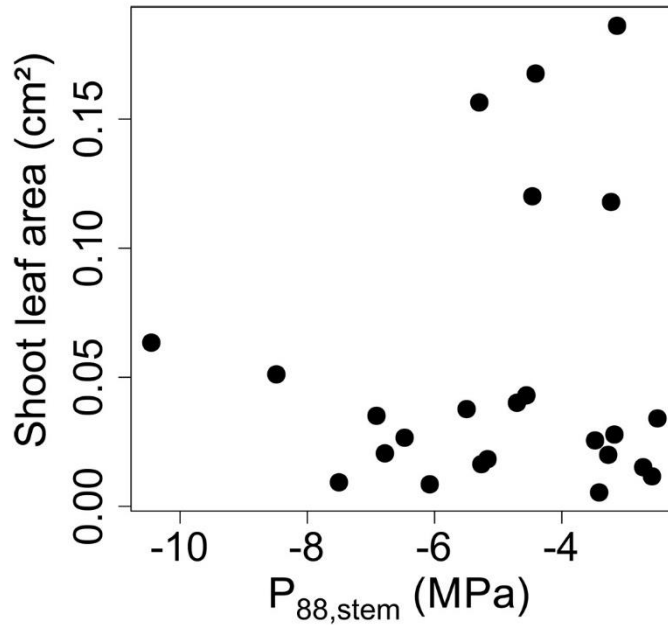


Fig. 5. Relation entre la surface totale de la pousse feuillée et la résistance à l'embolie de la tige ($P_{88,stem}$). Chaque point représente une espèce.

L'idée d'une relation entre résistance à l'embolie et dimensions des organes ou de la plante est corroborée par d'autres études. Sur la base d'une méta-analyse, Olson *et al.* (2018b) suggèrent que la hauteur des arbres explique une part de la variation de la vulnérabilité à l'embolie induite par sécheresse, tel que les grands arbres seraient plus vulnérables. Deux études ont pu montrer que les grandes feuilles étaient plus vulnérables à la sécheresse en termes de perte de conductance foliaire (Scoffoni *et al.*, 2011; Nardini *et al.*, 2014), alors qu'une autre n'a pas confirmé cette relation (Blackman *et al.*, 2018). Par contre, on ne sait pas dans ces études dans quelle mesure cette perte de conductance est associée à l'embolie du xylème, ou au dysfonctionnement du compartiment extraxylémien de la feuille (Scoffoni *et al.*, 2017a).

La relation entre les dimensions de l'organe ou de la plante et la résistance à l'embolie, principalement médiée par le diamètre des vaisseaux, n'est pas infondée, et existe certainement lorsque l'on considère une grande échelle (nombreuses espèces, plusieurs biomes, grande gamme de variation de résistance à l'embolie ou de dimensions ; Olson *et al.*, 2018b). Mais le fait que cette relation ne soit pas significative dans notre cadre d'étude reste aussi très cohérent avec le paradigme d'une résistance à l'embolie principalement déterminée par les propriétés ultrastructurales de la membrane de ponctuation (**Chapitre 5**). De plus, il n'existe pour le moment aucune évidence liant l'épaisseur de la membrane de ponctuation avec le diamètre des vaisseaux. L'ensemble de ces faits suggèrent que la résistance à l'embolie n'est pas nécessairement corrélée aux dimensions de l'organe ou de la plante, voir même sont plutôt indépendantes.

3. La surface foliaire est-elle un trait de résistance à la sécheresse ?

Le **chapitre 8** fait le lien entre l'ensemble de traits mesurés dans le cadre de cette thèse et les processus écologiques (croissance, distribution des espèces avec les gradients environnementaux). Ce chapitre suggère que la surface foliaire est le trait le plus prédictif de ces processus. La surface foliaire (entendue ici comme la surface moyenne de la feuille pour les espèces à feuille simple, ou la surface moyenne de la foliole pour les espèces à feuille composée) est (1) liée à la réponse des arbres à la sécheresse au travers de la croissance (Fargeon *et al.*, 2016), tel que les espèces les plus tolérantes à la sécheresse possèdent les plus petites feuilles, et (2) est liée au gradient hydro-topographique (altitude relative, angle de la pente, index d'humidité) tel que les espèces associées aux environnements localement les plus secs possèdent des petites feuilles. Le **chapitre 4** corrobore légèrement ces résultats, car un des principaux ajustements qui est fait par *Cecropia obtusa* en réponse à la saisonnalité est la mise en place de plus petites feuilles durant la saison sèche. Ces résultats suggèrent ainsi que la surface foliaire est un trait de résistance à la sécheresse, ce qui peut être appuyé par deux principales interprétations.

La surface d'une feuille est positivement corrélée à l'épaisseur de la couche limite à sa surface, affectant négativement la dissipation de la chaleur (Michaletz *et al.*, 2016; Drake *et al.*, 2018). Au risque d'altérer l'appareil photosynthétique (Berry and Bjorkman, 1980; Sage and Kubien, 2007; Michaletz *et al.*, 2016; O'sullivan *et al.*, 2017), les grandes feuilles doivent donc fournir une plus grande transpiration pour assurer la thermorégulation de la feuille. Les arbres à petites feuilles ont donc théoriquement besoin de moins d'eau pour assurer un même niveau de thermorégulation (Okajima *et al.*, 2012; Leigh *et al.*, 2017). Ici, on peut s'attendre à ce que les arbres à petites feuilles aient une efficacité de l'utilisation de l'eau (c.-à-d. unité de CO₂ assimilée par unité de H₂O transpirée) plus importante. Cette interprétation expliquerait la relation entre la surface foliaire et la réponse des arbres à la sécheresse médiée par la croissance. Les arbres à petites feuilles alloueraient ainsi la transpiration majoritairement à l'assimilation photosynthétique, et perdraient relativement peu d'eau à cause de la thermorégulation. De la même manière, les arbres à petites feuilles plutôt présents dans les environnements localement secs comme les plateaux auraient des besoins moindres en eau pour la thermorégulation des feuilles, leur permettant ainsi d'économiser une ressource devenant moins disponible en saison sèche. La démocratisation des modèles pour calculer des bilans énergétiques foliaires, notamment en fonction de la surface, pourra permettre de plus finement tester ces hypothèses (Muir, 2019).

Un ensemble de travaux suggèrent aussi que la surface moyenne d'une feuille est corrélée à la surface foliaire totale de l'arbre, et/ou à la surface de houppier exposée à la lumière, ainsi que la minimisation de l'auto-ombrage (Duursma *et al.*, 2012; Smith *et al.*, 2017). Ainsi, la surface moyenne

d'une feuille serait dans l'ensemble positivement corrélé à la surface foliaire totale, ou la proportion de surface foliaire totale, exposée à d'importantes températures liées à la radiation directe, et donc finalement à de plus grandes transpirations. Ces grandes transpirations seraient ainsi incompatibles avec la conservation de la ressource en eau requise dans les environnements localement secs comme les plateaux (Allié *et al.*, 2015), ou bien le maintien de la croissance durant un évènement de sécheresse relativement long.

4. Le continuum tige-feuille

Analogie entre la relation tige-feuille et la relation pétiole-limbe

Les **chapitres 2 et 3** ont respectivement permis de mettre en évidence que (i) la relation entre sections de tige et surface foliaire de la pousse et (ii) la relation entre section de pétiole et surface du limbe sont toutes les deux allométriques. Dans les deux cas, ces relations sont sous-tendues par de forts ajustements anatomiques qui sont analogues : une moelle proéminente, une diminution de la surface de xylème par unité de surface foliaire, et une augmentation du diamètre des vaisseaux pour les organes à grandes dimensions. Nos résultats suggèrent dans les deux cas (échelle de la pousse feuillée pour le **chapitre 2** ; échelle de la feuille pour le **chapitre 3**) que l'efficacité mécanique –rigidité en flexion par unité de carbone investie- augmente avec de grandes dimensions. Enfin, nos résultats suggèrent dans les deux cas que les dimensions des organes n'affectent pas la conductance foliaire.

L'ensemble de ces résultats appuie l'idée que la différence de fonctionnement entre la pousse feuillée et la feuille est plutôt de degré que de nature. Autrement dit, les pressions de sélection pour la mise en place d'une surface foliaire portée par un axe sont les mêmes entre le limbe avec son pétiole associé, et la feuille avec sa tige associée. Cette vision est cohérente avec l'idée d'un continuum entre feuilles et tiges dans l'histoire évolutive des plantes terrestres (Sattler, 1984, 1996, 2011; Sattler and Jeune, 1992; Lacroix *et al.*, 2005). Cependant, la relation pétiole-limbe n'a été envisagée dans ce travail qu'à l'échelle intraspécifique, avec le modèle *Cecropia obtusa*. La relation pétiole-limbe n'a été que peu investie dans une perspective interspécifique, contrairement à la relation tige-feuille (voir références dans **chapitres 2 et 3**). Enfin, il existe une perspective avec les données actuellement disponibles récoltées dans le cadre de cette thèse. Nous avons étudié 17 espèces à feuilles composées au total, pour lesquelles nous disposons de coupes anatomiques à la base de la pousse feuillée, au niveau du pétiole, et au niveau d'un pétiolule. Ainsi, cette question d'analogie pourrait être plus profondément explorée dans la comparaison entre les relations tige-feuille, pétiole-limbe, et pétiolule-foliole.

Quels effets de la feuille simple vs la feuille composée ?

La morphologie comparative a permis de strictement définir ce qu'est une feuille par rapport au positionnement du bourgeon axillaire (Candolle, 1827; Troll, 1937; Emberger, 1968; Barthélémy and Caraglio, 2007). Cependant, le fonctionnement photosynthétique ou hydraulique d'une petite feuille simple n'est peut-être pas directement comparable à celui d'une grande feuille composée. Par exemple, dans certaines familles botaniques regroupant des espèces à faible degré de ramification, le rachis de la feuille composée ou le pétiole de la feuille palmatilobée continuent le processus de ramification : Aracées, Araliacées, Bignoniacées, Burseracées, Méliacées, Urticacées (Cecropieae). Dans l'étude de la relation tige-feuille avec la variation de la dimension des organes, il a déjà été évoqué l'analogie entre la relation tige-feuille (**chapitre 2**) et la relation pétiole-limbe (**chapitre 3**), ainsi que la potentielle analogie avec la relation pétiolule-foliole qui reste à explorer (voir ci-dessus). Cette approche permettrait dans le même temps d'explorer le degré d'équivalence fonctionnelle entre une pousse feuillée à petites feuilles simples et une grande feuille composée, c.-à-d. en considérant un niveau de fonctionnement hydraulique donnée, par exemple une valeur de conductivité.

Les données récoltées dans le cadre **des chapitres 2 et 6** permettraient aussi d'explorer la variation de la segmentation hydraulique entre la feuille simple et la feuille composée, ou au sein de la feuille composée en considérant les couples suivants : foliole-rachis, foliole-tige, rachis-foliole. Les analyses préliminaires pour la préparation du **chapitre 6** m'ont amené à considérer pour les feuilles composées la foliole avec la tige pour le calcul du degré de segmentation hydraulique (et non la feuille entière avec la tige), pour être comparée avec la segmentation hydraulique des feuilles simples. En effet, considérer la feuille composée d'un point de vue strictement morphologique, en mesurant la segmentation entre le pétiole et la tige, amenait à des degrés de segmentation très faibles en comparaison des feuilles simples (Fig. 6). Ces analyses et ce choix pour le **chapitre 6** suggèrent déjà que la foliole des feuilles composées est le niveau pertinent pour ce genre d'approches fonctionnelles, et suggèrent que la feuille du point de vue fonctionnelle est la foliole et non la feuille intégrant le rachis. Cette idée est appuyée par les résultats du **chapitre 8**, montrant que la surface moyenne de la « lame » (feuille entière pour les feuilles simples, foliole pour les feuilles composées) est un meilleur prédicteur des facteurs écologiques (réponse à la sécheresse médiée par la croissance, altitude relative, angle de la pente, index d'humidité locale) que la surface de la feuille entière, selon la définition morphologique. La contrainte liée à la thermorégulation de la feuille, et la corrélation entre surface foliaire et couche limite s'applique davantage à la foliole qu'à la feuille composée entière.

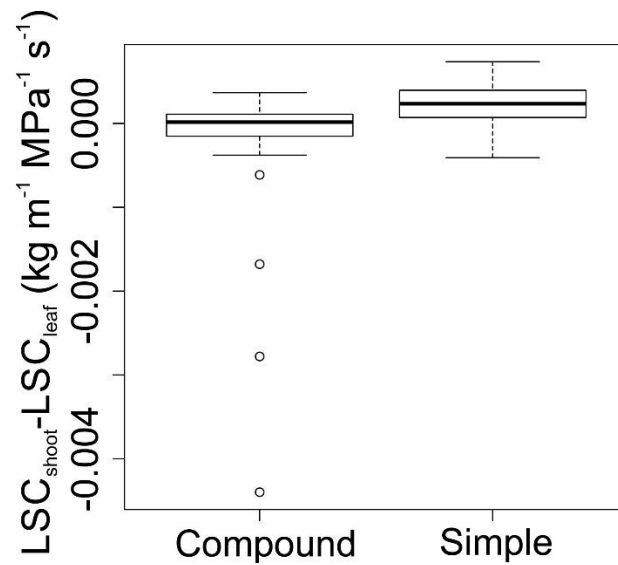


Fig. 6. Différence de degré de segmentation hydraulique à l'interface tige-pétiole entre les espèces à feuille simple et les espèces à feuille composée. LSC : conductivité spécifique foliaire.

De la même manière, la segmentation de vulnérabilité pourrait être mieux caractérisée au sein de la feuille composée, en étudiant la variation de la résistance à l'embolie en fonction de la nervure médiane, du rachis, et de la tige. Autrement dit, du point de vue de la résistance à l'embolie, est-ce que le rachis fonctionnerait plus comme la tige ou comme la nervure ? Cochard *et al.* (2002) ont déjà pu montrer chez le noyer que le rachis était plus vulnérable à l'embolie que les nervures ou la tige.

III – IMPLICATIONS FONCTIONNELLES DE LA SURFACE FOLIAIRE TOTALE DE L'ARBRE

1. La segmentation

Les **chapitres 6 et 7** ont permis de mettre en évidence que la segmentation hydraulique et la segmentation de vulnérabilité pouvaient être prépondérantes en forêt tropicale humide. Lorsque Zimmerman (1983) évoquait pour la première fois les hypothèses de segmentation, les mécanismes reliant la segmentation et la résistance à la sécheresse restaient encore vagues, en faisant principalement référence à l'idée de confiner les embolies dans les feuilles pour préserver les tiges plus chères en investissement (Tyree and Ewers, 1991). Cependant, l'idée de réduire la surface foliaire par le moyen de la segmentation afin de réduire l'évapotranspiration totale était quand même déjà évoquée par Zimmermann. La segmentation hydraulique et la segmentation de vulnérabilité ont été abondamment étudiées ces 30 dernières années, avec comme question centrale de savoir si la feuille est effectivement plus résistante hydrauliquement, ou moins résistante à l'embolie, que la tige. Autrement dit, de montrer si le patron de segmentation existe. Les études faisant par contre le lien avec la segmentation et la résistance à la sécheresse –notamment par la minimisation de l'évapotranspiration totale- sont quasi-inexistantes, avec une seule étude à ma connaissance faisant le lien entre le degré de segmentation de vulnérabilité et le temps de dessiccation des plants (Blackman *et al.*, 2019).

Le but du **chapitre 7** en particulier était donc de tester le lien entre segmentation de vulnérabilité et résistance à la sécheresse, en assumant ce qui est sous-entendu dans le mécanisme de segmentation : l'évapotranspiration (produit de la conductance minimum et de la surface) de l'écorce totale est inférieure à celle de l'ensemble des feuilles, et surtout qu'il n'y ait plus de mouvement d'eau vers une feuille donnée une fois que son pétiole, sa nervure médiane à la base, ou l'ensemble des nervures secondaires ont embolisées. Le **chapitre 7** a principalement mis en évidence que l'évapotranspiration de l'écorce était bien très inférieure à celle de l'ensemble des feuilles à l'échelle de la pousse feuillée, ce qui augmente en conséquence très fortement le temps de dessiccation de la tige une fois que l'on enlève virtuellement les feuilles, notamment via le mécanisme de segmentation. Le rapport entre évapotranspiration de l'écorce et de l'ensemble des feuilles reste à explorer à des échelles supérieures (branche, arbre), en intégrant notamment les variations probables de la conductance de l'écorce avec son épaisseur et l'ontogénie. La circulation de l'eau entre la tige et la feuille reste aussi à caractériser avant, pendant, et après embolies dans le xylème de la feuille. À l'échelle de la pousse feuillée et de l'arbre, est-ce que l'embolie des feuilles entraîne réellement une réduction de la surface foliaire totale effectivement transpirante ?

Ce travail de lien entre mécanismes supposés et la résistance à la sécheresse doit aussi être fait pour la segmentation hydraulique. Comme discutée déjà dans le **chapitre 6**, la base théorique du potentiel effet de la segmentation hydraulique sur la résistance à la sécheresse est mise au défi par de récents résultats. La segmentation hydraulique, c'est maintenir un écart de potentiels hydriques entre la feuille et la tige, supérieur à celui seulement dû à la longueur du chemin. Le potentiel hydrique en un point dans la plante est dynamique, dépendant notamment de l'évapotranspiration totale et de l'ouverture des stomates. Or, il semblerait que la fermeture des stomates avant l'apparition de l'embolie dans le xylème de la tige soit plutôt la règle (Martin-StPaul *et al.*, 2017). L'annulation du flux avec la fermeture des stomates a aussi pour effet d'homogénéiser le potentiel hydrique dans l'ensemble du xylème, et annule donc le patron de segmentation hydraulique. Cette interprétation remet totalement en cause la signification fonctionnelle de la segmentation hydraulique. Cependant, la fermeture stomatique pourrait se faire pendant ou après l'apparition de l'embolie dans le xylème de la feuille tout en se faisant avant l'apparition de l'embolie dans le xylème de la tige (Scoffoni *et al.*, 2017c). Cela implique dans ce cas que la segmentation hydraulique favorisant l'embolie dans les feuilles n'existerait que pour les espèces à segmentation de vulnérabilité positive. Les études futures s'intéressant à la segmentation hydraulique devraient donc le faire conjointement avec la marge entre le potentiel hydrique de fermeture stomatique et le potentiel hydrique d'embolie des feuilles.

Enfin, l'évapotranspiration n'est jamais totalement nulle, à cause de la cuticule perméable et de potentiels stomates qui fuient. De plus, l'équilibrage des potentiels hydriques après la fermeture des stomates ne se fait pas instantanément à cause d'une certaine inertie (Goldstein *et al.*, 1998). La différence de potentiel hydrique entre feuilles et tige –traduisant la segmentation hydraulique– doit être caractérisée en lien avec les transpirations résiduelles et cette idée d'inertie, afin de répondre à deux questions, avant que l'hypothèse de segmentation hydraulique pour la diminution de la surface foliaire évaporative en cas de stress soit abandonnée. Est-ce que la différence de potentiels hydriques générée par une transpiration résiduelle (c.-à-d. après fermeture des stomates) est négligeable, ne permettant pas de créer une segmentation hydraulique ? Comment évolue réellement le potentiel hydrique des nervures par rapport à celui de la tige après la fermeture des stomates, notamment avec un fort déficit en vapeur pression de l'atmosphère ?

Les **chapitres 6 et 7** montrent donc qu'il est probable que la segmentation de vulnérabilité contrôle pour une perte *a priori* graduelle des feuilles, afin d'ajuster graduellement le rapport entre la surface d'aubier et la surface foliaire et diminuer la tension sur la colonne d'eau. L'exploration de la variabilité intraspécifique et intracouronne de la résistance à l'embolie des feuilles permettrait d'étayer cette hypothèse. Dans cette idée, Hochberg *et al.* (2017) ont montré que la perte des feuilles activée

par la segmentation de vulnérabilité se faisait graduellement, en montrant par la même que les feuilles âgées sont plus vulnérables à l'embolie. Cette idée est aussi partiellement corroborée par les résultats du **chapitre 4**, montrant une plus forte occurrence des thyloses dans le pétiole des vieilles feuilles. Or, l'une des grandes interprétations fonctionnelles des thyloses est le confinement des embolies (De Micco *et al.*, 2016). L'idée de diminution graduelle de la surface foliaire se rapproche d'un certain nombre d'études s'intéressant au rapport entre surface foliaire et surface de xylème, et la variation de ce rapport avec l'environnement.

Zalamea *et al.* (2013) ont montré pour *Cecropia sciadophylla* une réduction de la surface de houppier avec la saison sèche. Il existe aussi tout un corpus d'études suggérant fortement que l'ajustement sur le ratio entre surface d'aubier et surface de houppier est un mécanisme homéostatique pour réguler la tension hydrique sur la colonne d'eau avec la hauteur de l'arbre (revues par McDowell *et al.*, 2002; Ryan *et al.*, 2006; Lehnebach *et al.*, 2018). Quelques études suggèrent aussi que cet ajustement du rapport entre surface d'aubier et surface de houppier peut se faire en fonction de l'environnement (Martínez-Vilalta *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2016), et par extension que ce ratio est un mécanisme de résistance à la sécheresse (Pivovarovoff *et al.*, 2016). La perte graduelle foliaire inviterait donc à considérer un continuum entre les tempéraments caduques et sempervirens, particulièrement en lien avec un stress hydrique, vue comme l'ajustement du ratio surface d'aubier:surface de houppier. La diversité des mécanismes de réduction de surface foliaire (segmentation de vulnérabilité, abscission contrôlée, rallongement du phyllochrone...) et leur contribution relative dans l'ajustement de la surface foliaire totale restent à explorer.

2. Caducité foliaire et phénologie en forêt tropicale humide

La perte des feuilles en lien avec un stress hydrique tel que la saison sèche est pleinement reconnue comme un mécanisme de résistance à la sécheresse (Wolfe *et al.*, 2016). Mais il n'est pas autant généralisable à toutes les espèces en comparaison aux autres mécanismes tels que la résistance à l'embolie, la régulation stomatique, ou la profondeur d'enracinement. Dans les régions tropicales, la caducité foliaire en lien avec la saison sèche, ainsi que ses effets sur les traits fonctionnels (p. ex. Kitajima *et al.*, 1997; Gotsch *et al.*, 2010), a beaucoup été étudiée pour les forêts tropicales sèches, où la saison sèche peut durer de 4 à 9 mois et représenter une forte contrainte physiologique. Les effets de la saisonnalité en forêts tropicales humides sont moins explorés, probablement en lien avec une saison sèche posant une contrainte physiologique relativement plus faible en comparaison aux forêts tropicales sèches. En Guyane française, Loubry (1994a,b) a identifié une centaine d'espèces d'arbres caducifoliés qu'il a ensuite étudiés par suivi. Il a conclu à une caducité non corrélée à la pluviométrie,

et non concordante avec la saison sèche. Les résultats de Loubry suggéraient déjà ainsi que la caducité foliaire n'était pas un mécanisme de résistance à la sécheresse prépondérant en forêt tropicale humide, au moins pour les forêts de Guyane française, et peut-être plus globalement du nord-est de l'Amazonie.

Le fonctionnement de la segmentation de vulnérabilité dans la perspective de la résistance à la sécheresse suggère que la segmentation de vulnérabilité et la caducité foliaire fonctionnent sur le même principe : réduire la surface foliaire transpirante pour diminuer la tension sur la colonne d'eau. Hochberg *et al.* (2017) ont ainsi montré que la segmentation de vulnérabilité était directement impliquée dans la perte des feuilles chez la vigne. De ce point de vue, on peut donc s'attendre à une corrélation entre segmentation de vulnérabilité et caducité. Sur l'ensemble de nos espèces étudiées, seules cinq sont des espèces caducifoliées étudiées par Loubry (*Dicorynia falcata*, *Eperua falcata*, *Lecythis poiteauii*, *Moronobea coccinea*, *Pradosia cochlearia*). Mise à part *P. cochlearia*, nos espèces étudiées et caducifoliées sont négativement segmentées pour la vulnérabilité ($P_{50,feuille} < P_{50,tige}$). Si le degré de segmentation détermine effectivement le temps de dessiccation (**Chapitre 7**), la segmentation négative paraît être une stratégie risquée face à la sécheresse. Nous pourrions donc nous attendre à ce que la caducité soit un mécanisme de compensation pour les espèces à segmentation de vulnérabilité négative. Or ces mêmes quatre espèces ne perdent pas particulièrement leurs feuilles durant la saison sèche (Loubry, 1994a). Les arbres de *P. cochlearia* perdent leurs feuilles exactement durant la saison sèche, et est une espèce bien positivement segmentée pour la vulnérabilité. Cependant, les feuilles de *C. cochlearia* sont particulièrement résistantes à l'embolie (McAdam and Cardoso, 2018) avec une moyenne de -4.51 MPa, ce qui rend peu probable que l'embolie des feuilles soit associée à la caducité pour des saisons sèches « normales ».

En conclusion, il ne semble pas que (1) la caducité foliaire en lien avec la saison sèche soit un mécanisme de résistance à la sécheresse mobilisé par les espèces des forêts tropicales humides de la Guyane française, et que (2) la segmentation de vulnérabilité soit corrélée à cette caducité pour ces mêmes forêts. Les résistances à l'embolie des feuilles relativement élevées, notamment par rapport aux potentiels hydriques foliaires minimums pouvant être expérimentés par les arbres (**Chapitres 6, 7 et 8** ; Ziegler *et al.*, 2019), suggèrent aussi que la segmentation de vulnérabilité entraînerait une diminution de la surface foliaire transpirante seulement pour des événements de sécheresse extrêmes.

Les résultats du **chapitre 4** à partir du modèle *Cecropia obtusa* montrent qu'une réponse à la saisonnalité de la structure et du fonctionnement des feuilles est aussi possible. D'un côté, ce résultat est concordant avec une autre étude suggérant un ajustement du potentiel hydrique foliaire au point de perte de turgescence des feuilles avec la saisonnalité en Guyane française à une échelle interspécifique (Maréchaux *et al.*, 2017), tel que les feuilles mesurées en saison sèche sont plus tolérantes à la sécheresse. Ce résultat est aussi concordant avec l'étude de Binks *et al.* (2016) montrant une plasticité

de ce même trait en réponse à la sécheresse dans une manipulation d'exclusion de pluie en forêt tropicale humide amazonienne.

D'un autre côté, ce résultat peut aussi être particulier au modèle *Cecropia*. En morphologie et en architecture des plantes, la croissance est décrite selon deux grandes modalités variant entre les espèces : la croissance rythmique et la croissance continue (Hallé *et al.*, 1978; Barthélémy and Caraglio, 2007). Pour Hallé *et al.* (1978), ce qui distingue croissance rythmique et croissance continue est la rythmicité de l'allongement selon qu'elle soit endogène pour la croissance rythmique, ou exogène (p. ex. saisonnalité) pour la croissance continue. Selon cette typologie, la croissance des arbres *Cecropia* de forêt tropicale humide est continue, avec une organogénèse et un allongement ininterrompu, mais avec une périodicité saisonnière dans l'intensité de l'allongement, ce qui nous permet d'ailleurs de réaliser des analyses rétrospectives de l'architecture calibrée sur des années calendaires (Heuret *et al.*, 2002; Zalamea *et al.*, 2008; Levionnois *et al.*, 2018). On sait donc que les arbres *Cecropia* de forêt tropicale humide mettent en place des feuilles durant la saison sèche (Zalamea *et al.*, 2013; **Chapitre 4**), ce qui est plus propice à un ajustement structural et fonctionnel des feuilles selon la saison. Or, il semblerait que la croissance rythmique soit bien plus représentée en forêt tropicale humide (Hallé and Martin, 1968; Hallé *et al.*, 1978; Crabbé, 1993; Maradène Comte, 1993). Le calage de la croissance rythmique avec la saisonnalité pluviométrique n'est que peu exploré. Ainsi, nous n'avons que peu d'idées sur la prépondérance de la mise en place de feuilles durant la saison sèche en forêt tropicale humide.

IV – QUELLE STRATÉGIE DE RECHERCHE POUR PRÉDIRE LA RÉSISTANCE DES ARBRES A LA SÉCHERESSE ?

1. Qu'est-ce que la résistance à la sécheresse ?

La résistance à la sécheresse *lato sensu* peut être envisagée au moins de deux grandes manières. Pour les besoins de cette thèse, j'ai défini **la résistance à la sécheresse *stricto sensu*** comme la maximisation de la capacité de survie de la plante face à un stress hydrique, qui se matérialise soit par la maximisation du temps de dessiccation à l'échelle de l'individu, ou le taux de survie à l'échelle d'une population ou d'une communauté après un stress hydrique bien défini dans le temps et dans l'espace. Cette définition correspond à la survie à la sécheresse (*drought survival*) définie par Volaire (2018). J'ai défini **la tolérance à la sécheresse** comme la capacité d'une plante à maintenir un fonctionnement « normal » malgré un stress hydrique, notamment par rapport au maintien d'une fonction intégratrice telle que la croissance. Cette définition correspond à la résistance à la sécheresse (*drought resistance*) telle que définie par Volaire (2018).

Dans le cadre de cette thèse, j'ai pris le parti de focaliser sur la résistance à la sécheresse, notamment sous l'angle de la maximisation du temps de dessiccation. Dans le cadre du **chapitre 5**, cela s'est matérialisé par l'étude des déterminismes anatomiques de la résistance à l'embolie, la résistance à l'embolie étant reconnue comme un des principaux déterminants de ce temps de dessiccation (Blackman *et al.*, 2016, 2019; Martin-StPaul *et al.*, 2017). Dans le cadre des **chapitres 6 et 7**, cela s'est matérialisé par l'étude de l'impact de la segmentation de vulnérabilité sur le temps de dessiccation. Seul le **chapitre 8** intègre un aspect de la tolérance à la sécheresse (réponse des arbres à la sécheresse médiée par la croissance (Fargeon *et al.*, 2016), mais cette métrique n'a pas constitué un travail de cœur pour cette thèse.

Envisager la résistance à la sécheresse *lato sensu* uniquement par le fonctionnement et les traits hydrauliques, ainsi qu'uniquement dans la perspective du temps de dessiccation peut potentiellement aboutir à une vision appauvrie de la résistance à la sécheresse *lato sensu*. Un travail majeur de solidification à venir devra s'intéresser à la correspondance entre (1) le temps de dessiccation, qui est une approche à l'échelle de l'individu, basée sur les traits, avec (2) l'observation de taux de survie en lien avec un stress hydrique, en forêt naturelle dans l'idéal, qui est une approche à l'échelle d'une population ou de l'espèce, basée sur une réponse plus intégrée. De même, si l'on assume que la résistance à la sécheresse et la tolérance à la sécheresse telle que je les définis sont deux aptitudes bien différenciées, et mesurables pour la majorité des plantes, comprendre leurs relations ou interactions pourra certainement amener une meilleure compréhension de la résistance à la sécheresse *lato sensu*.

La définition de la tolérance à la sécheresse, par maintien des fonctions essentielles malgré un stress hydrique, rappelle une stratégie basée sur la croissance au sens des performances écologiques. De même, la définition de la résistance à la sécheresse, par maximisation de la survie lors d'un stress, rappelle une stratégie basée sur la survie au sens des performances écologiques. Or, le compromis négatif entre les performances écologiques que sont la croissance et la survie font figure de paradigme en écologie fonctionnelle et/ou des communautés (Westoby *et al.*, 2002; Wright *et al.*, 2004, 2010; Poorter and Bongers, 2006; Chave *et al.*, 2009; Reich, 2014), et a permis de mieux comprendre les grandes stratégies fonctionnelles et la dynamique des végétations.

Enfin, les causes finales de la mortalité par sécheresse ne sont pas toutes pleinement identifiées, tel que d'autres mécanismes -autres que la défaillance du transport hydraulique- peuvent être impliqués en fonction des espèces (McDowell *et al.*, 2008, 2018). Il a par exemple été suggéré que l'une de ces causes finales pouvait être la famine carbonée, tel que la limitation du transport de l'eau par la sécheresse limite l'assimilation photosynthétique (McDowell *et al.*, 2008; McDowell, 2011). Quelques études tendent à conforter l'existence de ce mécanisme de famine carbonée dans la mortalité par sécheresse (Mitchell *et al.*, 2013; Sevanto *et al.*, 2014; Adams *et al.*, 2017), mais suggèrent fortement par la même qu'il n'est pas aussi généralisé que la défaillance du transport hydraulique. Un autre mécanisme suggère une sensibilité accrue face aux ravageurs et aux pathogènes durant un stress hydrique, avec quelques évidences (Hogg *et al.*, 2002; McDowell *et al.*, 2011). Les causes finales de la mortalité par défaillance hydraulique peuvent elles-mêmes être affinées, et donc inviter à affiner la définition de la résistance à la sécheresse. Est-ce que la mort est causée en raison finale par la déshydratation des méristèmes primaires et secondaires ? Dans ce cas, cette définition nous rapproche de la définition de la tolérance à la sécheresse, en lien avec le maintien de la croissance. Est-ce que la mort est causée en raison finale par l'endommagement de l'appareil photosynthétique, par défaillance de la thermorégulation des feuillées médiée par la transpiration ? Dans ce cas, cette définition nous rapproche de la définition de la tolérance à la sécheresse, en lien avec le maintien de l'assimilation photosynthétique ; ou bien nous rapproche du mécanisme de famine carbonée.

2. Proxy de la résistance à l'embolie ?

L'approche structure-fonction suggère qu'une fois une telle relation est bien connue, que l'on peut utiliser la structure –généralement plus facile et/ou moins coûteuse à mesurer- comme *proxy*, afin d'estimer la fonction. Cette idée a été confortée et fortement exploitée avec la loi d'Hagen-Poiseuille (Poiseuille, 1844), permettant de calculer la conductivité théorique d'un capillaire en connaissant son diamètre (Tyree and Zimmermann, 2002). Même si ce calcul appliqué au xylème surestime systématiquement la conductivité réelle, car n'intégrant pas la résistance hydraulique liée aux

perforations et aux ponctuations, ce calcul a abondamment été utilisé en physiologie hydraulique pour quantifier le transport de l'eau par les vaisseaux (Zanne *et al.*, 2010; Fortunel *et al.*, 2014), y compris dans cette thèse (**chapitres 2, 3, 4, 6, 7 et 8**). Curieusement, il semblerait que dès le début de la recherche sur la résistance à l'embolie en lien avec la sécheresse (Tyree and Ewers, 1991; Tyree and Zimmermann, 2002; Cruziat *et al.*, 2002), et de ses déterminants anatomiques (Wheeler *et al.*, 2005; Choat *et al.*, 2008; Lens *et al.*, 2011), l'idée d'un proxy anatomique n'est peu, voir pas, évoqué pour les angiospermes. Elle a cependant quelquefois été évoquée pour les gymnospermes (Hacke and Jansen, 2009; Rosner, 2017).

Et en effet, l'idée de chercher un proxy de la résistance à l'embolie paraît très peu pertinente. (1) Les quelques études intégrant plusieurs traits anatomiques suggèrent que plusieurs aspects de l'anatomie du xylème peuvent affecter la résistance à l'embolie : la topologie et la connectivité du réseau de vaisseaux (Martínez-Vilalta *et al.*, 2012; **Chapitre 5**), la quantité de ponctuations (Wheeler *et al.*, 2005; Christman *et al.*, 2009, 2012), les propriétés ultra-structurales de la membrane de la ponctuation (Lens *et al.*, 2011; Scholz *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2016; **Chapitre 5**), ainsi que l'interaction entre toutes ces composantes (**Chapitre 5**). (2) On peut cependant considérer que les propriétés ultra-structurales de la membrane de la ponctuation déterminent majoritairement la résistance à l'embolie, ce que suggèrent de récents travaux notamment au niveau de l'épaisseur de la membrane (Lens *et al.*, 2011; Scholz *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2016; **Chapitre 5**). Mais l'épaisseur de la membrane reste difficile à mesurer, nécessitant un microscope électronique à transmission, qui reste un matériel lourd et peu accessible, relativement cher et ne permettant pas de faire de nombreuses mesures. (3) Ainsi, mesurer directement la résistance à l'embolie reste une solution plus pertinente, d'autant que les méthodes de mesures sont de plus en plus accessibles et rapides, à l'image de la méthode pneumatique permettant de faire des courbes de vulnérabilité très rapidement et avec un équipement relativement simple, en comparaison de la plupart des autres méthodes (Pereira *et al.*, 2016). La méthode pneumatique est même plus facile à mettre en œuvre que des mesures au microscope électronique à transmission. Cependant, la méthode pneumatique reste à valider en vis-à-vis de méthodes ayant été éprouvées, telle que la méthode par centrifugation (Cochard *et al.*, 2013).

3. Un faible pouvoir prédictif des traits de résistance à la sécheresse

Les traits hydrauliques, notamment liés à la résistance à la sécheresse, ont déjà permis de prédire les dynamiques forestières (Zhang and Cao, 2009; Poorter *et al.*, 2010; Markesteijn *et al.*, 2011; Eller *et al.*, 2018), ainsi que la réponse des espèces aux gradients environnementaux (Blackman *et al.*, 2012; Bartlett *et al.*, 2016; Trueba *et al.*, 2017; Larter *et al.*, 2017; Oliveira *et al.*, 2019), participant à expliquer l'assemblage des communautés à différentes échelles. Ces traits ont aussi permis une

meilleure compréhension et prédiction des effets sur les végétations du changement climatique se matérialisant principalement par sécheresses (Anderegg *et al.*, 2012, 2015, 2016, 2018; Tai *et al.*, 2017; Adams *et al.*, 2017; McDowell *et al.*, 2018; Choat *et al.*, 2018). Le jeu de données compilé dans le cadre de cette thèse et des projets affiliés est très complet par le nombre de traits mesurés, en lien avec la conduction hydraulique et la résistance à la sécheresse. De plus, nous avons pu profiter de l'infrastructure de Paracou et tirer profit de travaux précédents, permettant l'accès à des données de qualité concernant la dynamique forestière et l'environnement : la croissance des arbres, l'abondance des espèces, la réponse des arbres à la sécheresse médiée par la croissance (Aubry-Kientz, 2014; Fargeon *et al.*, 2016), et les gradients hydro-topographiques (Allié *et al.*, 2015; Allié, 2016). Nous avons donc le dispositif idéal pour tester le pouvoir prédictif des traits hydrauliques dans les processus écologiques, pour des espèces dominantes et à une échelle locale.

Le **chapitre 8** suggère cependant que les traits hydrauliques, et en particulier les traits de résistance à la sécheresse, ont peu de pouvoir prédictif sur les processus écologiques. En résumé, la réponse des arbres à la sécheresse au travers de la croissance (Fargeon *et al.*, 2016) est faiblement corrélée à la conductance minimum de la feuille, ainsi qu'à la pente de la courbe de vulnérabilité pour la tige. La capacitance de la feuille avant le point de perte de turgescence est faiblement corrélée à l'altitude relative moyenne des espèces. Plusieurs explications hypothétiques peuvent être envisagées.

Gradients hydro-topographiques

En ce qui concerne les gradients hydro-topographiques, les contributions relatives des processus basés sur la niche (notamment le filtrage environnemental) et des processus neutres dans la distribution des espèces peuvent varier en fonction de l'échelle spatiale, avec des processus neutres semblant être plus importants à une échelle très locale (Shipley *et al.*, 2012). Dans cette perspective, les traits hydrauliques répondraient d'abord à des gradients environnementaux régionaux tels que la pluviométrie annuelle, le déficit moyen annuel en pression vapeur, ou l'intensité de la saisonnalité (Esquivel-Muelbert *et al.*, 2017a,b), mais pas à des gradients plus locaux comme la topographie mesurée dans notre approche. Cette interprétation serait en accord avec la gamme de variation remarquable de la résistance à l'embolie des tiges (discutée par Ziegler *et al.*, 2019), qui correspond à une gamme de variation pour ce trait généralement trouvée pour des échelles régionales (Maherali *et al.*, 2004; Larter *et al.*, 2017), voir globales en ce qui concerne les forêts tropicales humides (Maherali *et al.*, 2004; Choat *et al.*, 2012). Cependant, cette interprétation n'est pas concordante avec de récents travaux montrant l'importance de processus basés sur la niche à des échelles locales, telle que la distribution d'abondance des espèces (Allié *et al.*, 2015), ou la résistance à l'embolie dans la région de Manaus au Brésil (Oliveira *et al.*, 2019). L'une des faiblesses de notre approche interspécifique est la

faible prise en compte de la variabilité intraspécifique (moyenne à l'espèce généralement basée sur 2-3 individus par espèce) pour les traits hydrauliques (Shipley *et al.*, 2016). Or il a été montré que prendre en compte la variabilité intraspécifique pouvait améliorer la détection des processus écologiques, et notamment le filtrage environnemental (Jung *et al.*, 2010, 2014; Lepš *et al.*, 2011; Kraft *et al.*, 2014), ce qui a été montré pour les forêts guyanaises (Paine *et al.*, 2011). De plus, il se peut que la variabilité intraspécifique soit positivement corrélée à l'abondance relative des espèces (Holt *et al.*, 2002; Borregaard and Rahbek, 2010; Boulangeat *et al.*, 2012), ce qui augmenterait le risque d'avoir des moyennes à l'espèce non représentatives des distributions réelles des valeurs de traits pour chaque espèce. Or les espèces investies dans nos études sont parmi les plus abondantes à Paracou, à l'échelle de la Guyane, et certaines d'entre elles font partie des espèces hyperdominantes en Amazonie (ter Steege *et al.*, 2013).

Enfin, beaucoup des espèces investies se trouvent être des espèces résistantes à l'embolie au niveau de la tige (< -5 - -4 MPa), semblant avoir une résistance à l'embolie surcalibrée par rapport aux contraintes environnementales locales actuelles. Notre analyse phylogénétique sur le P_{50} de la tige ne suggère pas de conservatisme de ce trait (Fig. 7), en accord avec d'autres études sur des analyses plus globales (Maherali *et al.*, 2004; McAdam and Cardoso, 2018). Cependant, une analyse phylogénétique sur plus de 300 genres amazoniens montre que des traits comme la densité du bois, la croissance en diamètre, le diamètre maximum, et le taux de mortalité sont significativement conservés phylogénétiquement (Coelho de Souza *et al.*, 2016). Ainsi, l'héritage évolutif influence la distribution des traits en Amazonie, et pourrait concerner les traits liés à la résistance à la sécheresse. Dans cette perspective, la distribution des traits que l'on observe est peut-être liée à des contingences historiques : l'histoire évolutive des lignées comprenant nos espèces étudiées, ou l'histoire biogéographique de l'Amazonie telle que cette dernière était composée de savanes avant le paléocène (~55 millions d'années; Burnham and Johnson, 2004).

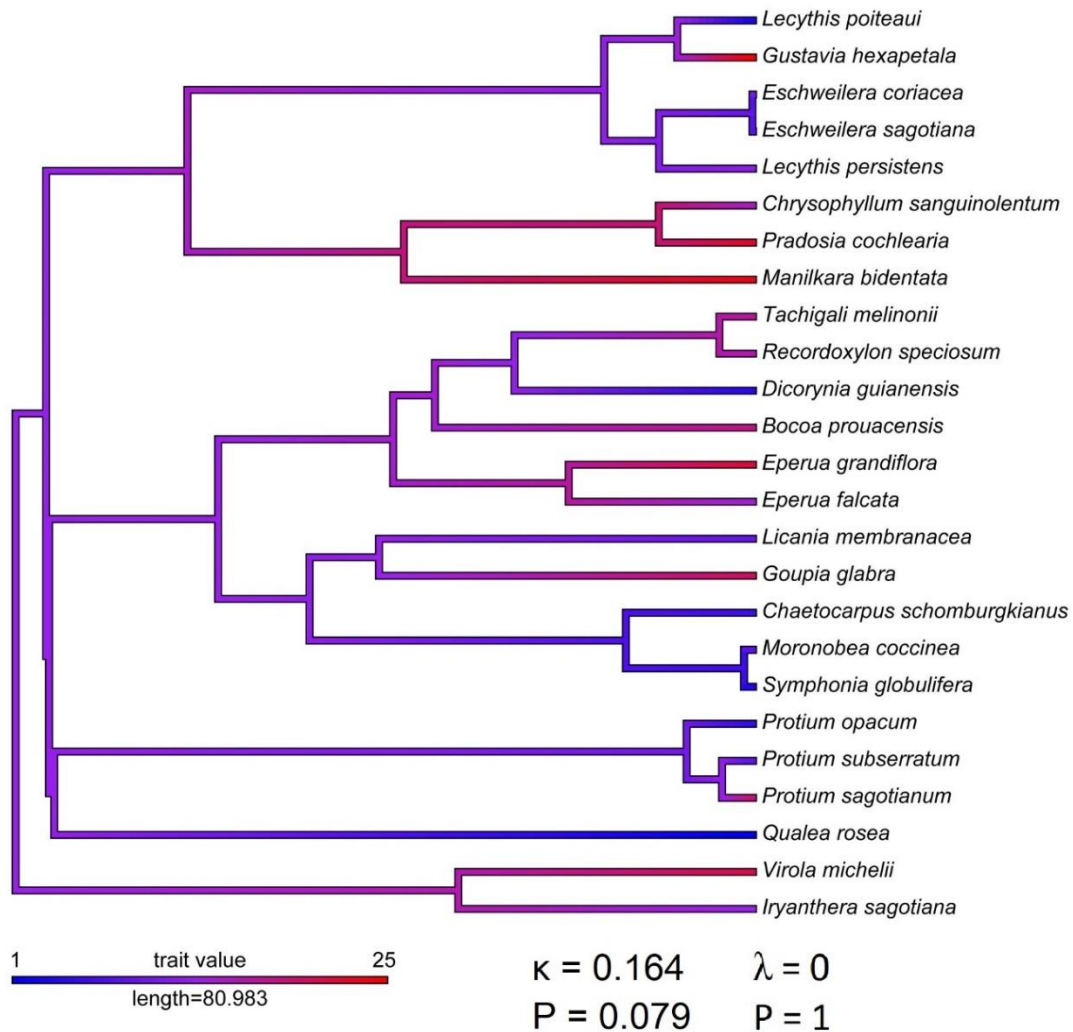


Fig. 7. Distribution de la résistance à l'embolie (P50,stem) dans la phylogénie des espèces étudiées et analyses du signal phylogénétique de la résistance à l'embolie (P50,stem) sur la base des indices de Pagel (λ) et de Bloomberg (κ). Dans les deux cas, l'indice est significativement différent de 1, suggérant que la résistance à l'embolie n'est pas phylogénétiquement structurée (modèle de mouvement Brownien)

Réponse des arbres à la sécheresse médiée par la croissance

Concernant la réponse des arbres à la sécheresse approchée sous l'angle des impacts de la sécheresse sur la croissance en diamètre des arbres, il s'agit d'une aptitude de tolérance à la sécheresse selon notre cadre théorique. Un trait tel que la résistance à l'embolie est *a priori* d'abord lié à la résistance à la sécheresse *stricto sensu* (Urli *et al.*, 2013; Blackman *et al.*, 2019), et serait ainsi plutôt lié à la réponse des arbres à la sécheresse par la mortalité. Si cela se confirmait (relation entre traits de résistance à la sécheresse et mortalité associée à la sécheresse), cela suggérerait par la même que la tolérance à la sécheresse et la résistance à la sécheresse telle que nous les avons définis sont relativement indépendantes.

La tolérance à la sécheresse telle que nous l'avons définie, par le maintien de fonctions fondamentales (p. ex. assimilation photosynthétique, croissance) durant un stress, sous-tend l'idée que le flux hydrique au travers de la plante est maintenu (notamment pour l'assimilation photosynthétique), et/ou que la plante dispose d'importantes réserves en eau et/ou en nutriments. Or le maintien d'un flux hydrique est d'abord permis par l'absorption racinaire, lui-même fonction de la biomasse racinaire et/ou de la profondeur d'enracinement durant un stress hydrique édaphique (Martin-StPaul *et al.*, 2017; Brum *et al.*, 2017). C'est une dimension qui n'est pas abordée dans cette thèse. Une première étape d'analyse pourrait être faite avec les données actuellement disponibles, en étudiant la relation entre la réponse des arbres à la sécheresse au travers de la croissance pour un maximum d'espèce à Paracou, en utilisant le cadre méthodologique de Fargeon *et al.* (2016), en fonction de la topographie et notamment l'altitude relative. En effet, les sols de bas-fonds sont considérés comme étant moins profonds (Sabatier *et al.*, 1997; Ferry *et al.*, 2010), pouvant ainsi limiter les arbres (i) dans la profondeur d'enracinement et (ii) dans l'absorption de l'eau durant un stress hydrique. Le maintien du flux hydrique dans la plante peut aussi être permis par les réserves en eau contenues dans les tissus de la plante, réserves qui sont déterminées à la fois par le volume total de tissu pouvant stocker de l'eau (notamment le bois) et la capacitance de ces tissus (Scholz *et al.*, 2011). La capacitance et la biomasse de l'arbre pouvant être estimées à partir de la densité du bois (Chave *et al.*, 2014), étudier la relation entre les réserves en eau et la réponse des arbres à la sécheresse médiée par la croissance pourra être envisagée. Enfin, les réserves en carbones non structuraux (NSC, *non-structural carbohydrates*) peuvent être mobilisées dans le maintien de la croissance lors de la diminution de l'assimilation photosynthétique (Hartmann and Trumbore, 2016). Cependant, un potentiel mécanisme basé sur les NSC reste couplé au statut hydrique de la plante, l'eau étant le soluté permettant la translocation des NSC entre différents compartiments de la plante (tige-feuille-racine ; xylème-phloème-cortex ; Hartmann and Trumbore, 2016; Rodríguez-Calcerrada *et al.*, 2017). Les NSC peuvent aussi être impliqués dans le maintien ou la stimulation de la croissance racinaire lors d'un stress (Aguadé *et al.*, 2015), pour optimiser le maintien de l'absorption de l'eau.

V - CONCLUSION ET PERSPECTIVE

Cette thèse, en associant les approches morphologiques, anatomiques et physiologiques, a permis (i) de caractériser l'organisation de la pousse feuillée et des implications structurelles et fonctionnelles de la variation des dimensions des organes, et (ii) de caractériser les structures et fonctions impliquées dans la résistance à la sécheresse de la pousse feuillée. L'étude conjointe de ces deux principaux points s'est faite au travers de l'étude de l'architecture vasculaire et hydraulique de la pousse feuillée, au sens de la distribution spatiale des traits vasculaires et hydrauliques à l'interface tige-feuille. J'ai pu montrer que l'architecture vasculaire et hydraulique était centrale à la fois dans la variation des dimensions des organes, notamment de la feuille, et dans la résistance à la sécheresse de la pousse feuillée. La discussion générale a aussi permis de montrer que ces deux axes (dimensions de la feuille et résistance à la sécheresse) étaient deux axes stratégiques relativement indépendants (Fig. 8), même si (i) le diamètre des vaisseaux est corrélé à la fois à la surface de la feuille et à la résistance à l'embolie et (ii) même si l'idée de la surface de la feuille en tant que trait de résistance à la sécheresse a été discutée.

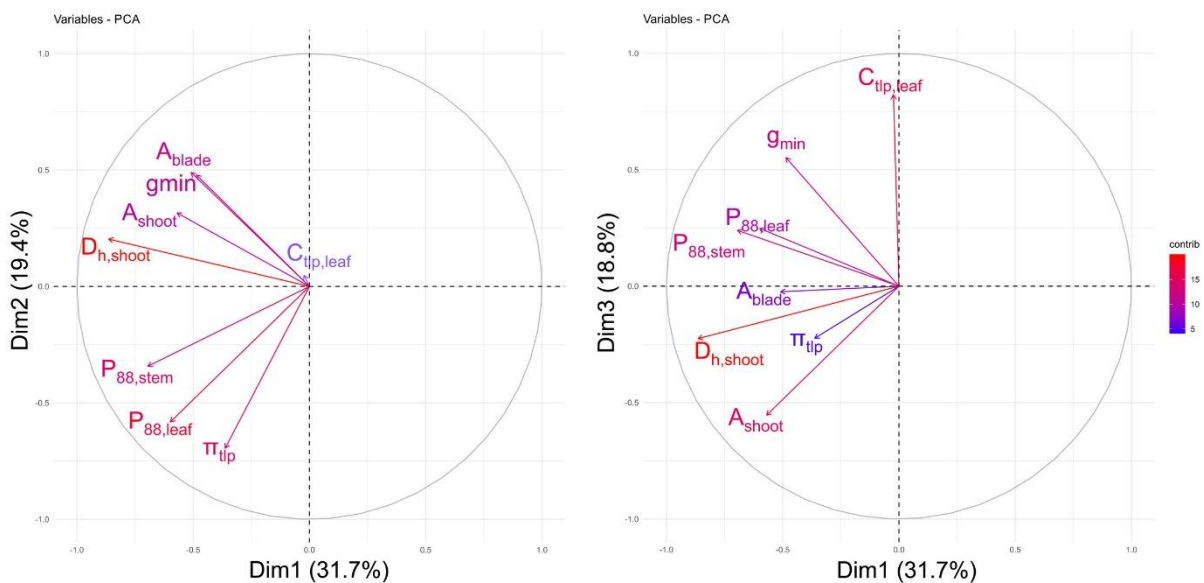


Fig. 8. Analyses en composantes principales des principaux traits étudiés dans cette thèse traduisant les grands axes de variation que sont la surface foliaire (A_{shoot} , A_{blade} , $D_{h,shoot}$) et la résistance à la sécheresse ($P_{88,stem}$, $P_{88,leaf}$, g_{min} , π_{tip} , $C_{tip,leaf}$). (a) Représentation des axes 1 et 2 de l'ACP. g_{min} est le seul trait de résistance à la sécheresse variant avec les dimensions de la feuille. (b) Représentation des axes 1 et 3 de l'ACP. π_{tip} : potentiel hydrique foliaire au point de perte de turgescence ; A_{blade} : surface de la feuille simple ou de la foliole pour les feuilles composées ; A_{shoot} : surface totale de la pousse feuillée ; $C_{tip,leaf}$: capacité de la feuille après le point de perte de turgescence ; $D_{h,shoot}$: diamètre hydraulique moyen des vaisseaux dans le xylème de la tige ; g_{min} : conductance minimale foliaire ; $P_{88,leaf}$: potentiel hydrique foliaire induisant 88% de perte de conductivité dans le xylème de la feuille ; $P_{88,stem}$: potentiel hydrique de la tige induisant 88% de perte de conductivité dans le xylème de la tige.

L'ensemble des questions soulevées et les jeux de données non complètement exploités ouvrent d'importantes perspectives. Concernant les questions pouvant être abordées avec les données actuellement disponibles, celle des déterminants anatomiques de la résistance à l'embolie pour le

xylème de la feuille pourra être développée. Il n'existe à ma connaissance qu'une seule étude intégrant des données relatives à l'ultrastructure de la membrane des ponctuations pour les feuilles, et ce pour 3 espèces (Klepsch *et al.*, 2018). L'intégration d'une donnée comme la surface moyenne de la membrane des ponctuations pourra aussi permettre d'envisager une étude plus fine des déterminants anatomiques de la segmentation de vulnérabilité que ce qui est actuellement fait dans le **chapitre 6**. Cette approche reste relativement rare (voir Klepsch *et al.*, 2018) et est d'autant plus pertinente au vu de l'importance suggérée de la segmentation de vulnérabilité pour la résistance à la sécheresse de la plante (Blackman *et al.*, 2019; **Chapitre 7**).

La question du continuum feuille-tige n'a pas été envisagée comme une question structurante dans la construction de cette thèse. Cependant, les données actuellement disponibles peuvent permettre de caractériser la différence de fonctionnement hydraulique entre une feuille simple, une feuille composée, ou une pousse feuillée faite de petites feuilles. Aussi, cette thèse a permis d'aborder les déterminants morpho-anatomiques de la relation tige-feuille à une échelle interspécifique d'un côté, et les déterminants morpho-anatomiques de la relation pétiole-limbe à une échelle intraspécifique de l'autre. Or l'analogie entre les deux approches n'est pas parfaite, et pourra être complétée avec les déterminants morpho-anatomiques de la relation pétiole-limbe (et même pétiolule-foliole) à une échelle interspécifique d'un côté, et avec les déterminants morpho-anatomiques de la relation tige-feuille avec le modèle *Cecropia obtusa* de l'autre. L'étude de l'analogie entre ces diverses relations permettra dans le même temps d'alimenter la question du continuum feuille-tige.

Plus globalement, les descriptions anatomiques de la feuille et en plusieurs points (pétiole, nervure) sont relativement rares pour les espèces tropicales. Du moins, les espèces décrites anatomiquement pour la tige ou le bois du tronc le sont globalement moins pour les feuilles (Données Laboratoire des Sciences du Bois, UMR EcoFoG & CIRAD, Kourou). Les données maintenant disponibles ouvrent plusieurs perspectives, comme l'étude des déterminants anatomiques de la masse foliaire surfacique. Une étude majeure a pu développer cette approche (John *et al.*, 2017), mais elle reste à être répliquée pour les forêts tropicales humides.

Une perspective majeure selon moi soulevée par cette thèse –et peut-être un peu sous-estimée jusqu'alors– est l'importante implication fonctionnelle de la surface de la feuille dans la perspective de la résistance à la sécheresse. Concernant les données actuellement disponibles, il sera intéressant d'envisager l'effet de la surface de la feuille sur la distribution hydro-topographique de l'ensemble des espèces et individus inventoriés à Paracou, en mettant à profit le cadre méthodologique développé par Allié *et al.* (2015) et les données disponibles pour la surface de la feuille grâce à la base de données du projet BRIDGE (Baraloto *et al.*, 2010a). De la même manière, le cadre méthodologique développé par Fargeon *et al.* (2016) pourrait être étendu pour l'analyse de l'impact de la sécheresse sur la

croissance en diamètre des arbres à un maximum d'espèces de Paracou (avec un minimum d'abondance), toujours en lien avec les données disponibles relatives à la surface de la feuille grâce au projet BRIDGE. Dans les deux cas, l'effet de la feuille simple vs composée pourrait aussi être testé.

Enfin, la relation entre surface de la feuille et résistance à la sécheresse appelle à (i) confirmer que cette relation est effectivement liée à la contrainte de la thermorégulation, et (ii) davantage intégrer la contrainte de la thermorégulation dans les approches hydrauliques en étudiant le compromis supposé entre le maintien de la transpiration pour la thermorégulation et la limitation de la transpiration pour conserver l'eau et éviter la déshydratation. Des études en forêt tropicale humide sont donc nécessaires pour : (i) explorer le lien surface de la feuille, conductance stomatique, et transpiration, (ii) étudier le lien entre le bilan énergétique, la température, les besoins correspondants en transpiration pour la thermorégulation, et la surface de la feuille, (iii) les seuils de températures vs potentiels hydriques favorisant la conservation de l'eau par la fermeture des stomates au détriment de la thermorégulation, ou inversement, (iv) le flux évapotranspiratif minimum nécessaire pour avoir une thermorégulation significative en fonction de la température, et (v) l'effet de la transpiration uniquement déterminée par la conductance minimum de la feuille sur la thermorégulation.

BIBLIOGRAPHIE

- Aasamaa K, Söber A, Rahi M.** 2001. Leaf anatomical characteristics associated with shoot hydraulic conductance, stomatal conductance and stomatal sensitivity to changes of leaf water status in temperate deciduous trees. *Functional Plant Biology* **28**, 765–774.
- Adams HD, Zeppel MJB, Anderegg WRL, et al.** 2017. A multi-species synthesis of physiological mechanisms in drought-induced tree mortality. *Nature Ecology and Evolution*.
- Aguadé D, Poyatos R, Gómez M, Oliva J, Martínez-Vilalta J.** 2015. The role of defoliation and root rot pathogen infection in driving the mode of drought-related physiological decline in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Tree Physiology* **35**, 229–242.
- Allié É.** 2016. Assemblage des communautés d'arbres à une échelle locale en forêt tropicale : Apport d'une approche intégrative.
- Allié E, Péliissier R, Engel J, Petronelli P, Freycon V, Deblauwe V, Soucémariadin L, Weigel J, Baraloto C.** 2015. Pervasive Local-Scale Tree-Soil Habitat Association in a Tropical Forest Community. *PLOS ONE* **10**, e0141488.
- Anderegg WRL, Berry JA, Smith DD, Sperry JS, Anderegg LDL, Field CB.** 2012. The roles of hydraulic and carbon stress in a widespread climate-induced forest die-off. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **109**, 233–237.
- Anderegg WRL, Flint A, Huang C, Flint L, Berry JA, Davis FW, Sperry JS, Field CB.** 2015. Tree mortality predicted from drought-induced vascular damage. *Nature Geoscience* **8**, 367–371.
- Anderegg WRL, Klein T, Bartlett M, Sack L, Pellegrini AFA, Choat B, Jansen S.** 2016. Meta-analysis reveals that hydraulic traits explain cross-species patterns of drought-induced tree mortality across the globe. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **113**, 5024–5029.
- Anderegg WRL, Konings AG, Trugman AT, et al.** 2018. Hydraulic diversity of forests regulates ecosystem resilience during drought. *Nature* **561**, 538.
- Aubry-Kientz M.** 2014. Quelle sera la réponse des forêts tropicales humides à l'augmentation des températures et aux changements de pluviométrie ? : Modéliser la dynamique forestière pour identifier les processus sensibles en Guyane française.
- Baraloto C, Paine T, E C, Patiño S, Bonal D, Hérault B, Chave J.** 2010a. Functional trait variation and sampling strategies in species-rich plant communities. *Functional Ecology* **24**, 208–216.
- Baraloto C, Timothy Paine CE, Poorter L, Beauchene J, Bonal D, Domenach A-M, Hérault B, Patiño S, Roggy J-C, Chave J.** 2010b. Decoupled leaf and stem economics in rain forest trees. *Ecology Letters* **13**, 1338–1347.
- Barthélémy D, Caraglio Y.** 2007. Plant architecture: a dynamic, multilevel and comprehensive approach to plant form, structure and ontogeny. *Annals of Botany* **99**, 375–407.
- Bartlett, Zhang, Yang, Kreidler, Sun, Lin L, Hu Y-H, Cao K-F, Sack L.** 2016. Drought tolerance as a driver of tropical forest assembly: resolving spatial signatures for multiple processes. *Ecology* **97**, 503–514.
- Berry J, Bjorkman O.** 1980. Photosynthetic Response and Adaptation to Temperature in Higher Plants. *Annual Review of Plant Physiology* **31**, 491–543.
- Binks O, Meir P, Rowland L, Costa ACL da, Vasconcelos SS, Oliveira AAR de, Ferreira L, Christoffersen B, Nardini A, Mencuccini M.** 2016. Plasticity in leaf-level water relations of tropical rainforest trees in response to experimental drought. *New Phytologist* **211**, 477–488.
- Blackman CJ, Brodrribb TJ, Jordan GJ.** 2012. Leaf hydraulic vulnerability influences species' bioclimatic limits in a diverse group of woody angiosperms. *Oecologia* **168**, 1–10.
- Blackman CJ, Gleason SM, Cook AM, Chang Y, Laws CA, Westoby M.** 2018. The links between leaf hydraulic vulnerability to drought and key aspects of leaf venation and xylem anatomy among 26 Australian woody angiosperms from contrasting climates. *Annals of Botany* **122**, 59–67.
- Blackman CJ, Li X, Choat B, Rymer PD, Kauwe MGD, Duursma RA, Tissue DT, Medlyn BE.** 2019. Desiccation time during drought is highly predictable across species of *Eucalyptus* from contrasting climates. *New Phytologist* **0**.
- Blackman CJ, Pfautsch S, Choat B, Delzon S, Gleason SM, Duursma RA.** 2016. Toward an index of desiccation time to tree mortality under drought. *Plant, Cell & Environment* **39**, 2342–2345.
- Borregaard MK, Rahbek C.** 2010. Causality of the relationship between geographic distribution and species abundance. *The Quarterly Review of Biology* **85**, 3–25.
- Boulangeat I, Lavergne S, Es JV, Garraud L, Thuiller W.** 2012. Niche breadth, rarity and ecological characteristics within a regional flora spanning large environmental gradients. *Journal of Biogeography* **39**, 204–214.
- Brodrribb TJ.** 2009. Xylem hydraulic physiology: The functional backbone of terrestrial plant productivity. *Plant Science* **177**, 245–251.
- Brodrribb TJ, Bienaimé D, Marmottant P.** 2016a. Revealing catastrophic failure of leaf networks under stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **113**, 4865–4869.
- Brodrribb TJ, Feild TS, Jordan GJ.** 2007. Leaf Maximum Photosynthetic Rate and Venation Are Linked by Hydraulics. *Plant Physiology* **144**, 1890–1898.

- Brodribb, Holbrook NM.** 2005. Diurnal depression of leaf hydraulic conductance in a tropical tree species. *Plant, Cell and Environment* **27**, 820–827.
- Brodribb TJ, Holbrook NM, Zwieniecki MA, Palma B.** 2005. Leaf hydraulic capacity in ferns, conifers and angiosperms: impacts on photosynthetic maxima. *New Phytologist* **165**, 839–846.
- Brodribb TJ, Skelton RP, McAdam SAM, Bienaimé D, Lucani CJ, Marmottant P.** 2016b. Visual quantification of embolism reveals leaf vulnerability to hydraulic failure. *New Phytologist* **209**, 1403–1409.
- Brum M, Teodoro GS, Abrahão A, Oliveira RS.** 2017. Coordination of rooting depth and leaf hydraulic traits defines drought-related strategies in the campos rupestres, a tropical montane biodiversity hotspot. *Plant and Soil* **420**, 467–480.
- Burnham RJ, Johnson KR.** 2004. South American palaeobotany and the origins of neotropical rainforests. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **359**, 1595–1610.
- Candolle AP de (1778-1841) A du texte.** 1827. *Organographie végétale ou Description raisonnée des organes des plantes, pour servir de suite et de développement à la théorie élémentaire de botanique, et d'introduction à la physiologie végétale et à la description des familles : Déterville 1827. Tome 1 / par M. Aug.-Pyr. de Candolle.*
- Chave J, Coomes D, Jansen S, Lewis SL, Swenson NG, Zanne AE.** 2009. Towards a worldwide wood economics spectrum. *Ecology Letters* **12**, 351–366.
- Chave J, Réjou-Méchain M, Búrquez A, et al.** 2014. Improved allometric models to estimate the aboveground biomass of tropical trees. *Global Change Biology* **20**, 3177–3190.
- Choat B, Brodribb TJ, Brodersen CR, Duursma RA, López R, Medlyn BE.** 2018. Triggers of tree mortality under drought. *Nature* **558**, 531.
- Choat B, Cobb AR, Jansen S.** 2008. Structure and function of bordered pits: new discoveries and impacts on whole-plant hydraulic function. *New Phytologist* **177**, 608–626.
- Choat B, Jansen S, Brodribb TJ, et al.** 2012. Global convergence in the vulnerability of forests to drought. *Nature* **491**, 752–755.
- Christman MA, Sperry JS, Adler FR.** 2009. Testing the ‘rare pit’ hypothesis for xylem cavitation resistance in three species of *Acer*. *New Phytologist* **182**, 664–674.
- Christman MA, Sperry JS, Smith DD.** 2012. Rare pits, large vessels and extreme vulnerability to cavitation in a ring-porous tree species. *New Phytologist* **193**, 713–720.
- Cochard H, Badel E, Herbette S, Delzon S, Choat B, Jansen S.** 2013. Methods for measuring plant vulnerability to cavitation: a critical review. *Journal of Experimental Botany*, ert193.
- Cochard H, Coll L, Roux XL, Améglio T.** 2002. Unraveling the Effects of Plant Hydraulics on Stomatal Closure during Water Stress in Walnut. *Plant Physiology* **128**, 282–290.
- Coelho de Souza, Dexter Kyle G., Phillips Oliver L., et al.** 2016. Evolutionary heritage influences Amazon tree ecology. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **283**, 20161587.
- Coomes DA, Heathcote S, Godfrey ER, Shepherd JJ, Sack L.** 2008. Scaling of xylem vessels and veins within the leaves of oak species., Scaling of xylem vessels and veins within the leaves of oak species. *Biology letters, Biology Letters* **4**, 4, 302, 302–306.
- Crabbé J.** 1993. La croissance rythmique des arbres, base de leur organisation temporelle. *Compte Rendu du séminaire de Groupe d'Etude de l'Arbre: Le rythme de croissance, base de l'organisation temporelle de l'arbre*, 1–11.
- Cruziat P, Cochard H, Améglio T.** 2002. Hydraulic architecture of trees: main concepts and results. *Annals of Forest Science* **59**, 723–752.
- De Micco VD, Balzano A, Wheeler EA, Baas P.** 2016. Tyloses and gums: A review of structure, function and occurrence of vessel occlusions. *IAWA Journal* **37**, 186–205.
- Drake JE, Tjoelker MG, Vårhammar A, et al.** 2018. Trees tolerate an extreme heatwave via sustained transpirational cooling and increased leaf thermal tolerance. *Global Change Biology* **24**, 2390–2402.
- Duursma RA, Falster DS, Valladares F, et al.** 2012. Light interception efficiency explained by two simple variables: a test using a diversity of small- to medium-sized woody plants. *New Phytologist* **193**, 397–408.
- Eller C, de V. Barros F, R.L. Bittencourt P, Rowland L, Mencuccini M, S. Oliveira R.** 2018. Xylem hydraulic safety and construction costs determine tropical tree growth. *Plant, Cell & Environment*, n/a-n/a.
- Emberger L.** 1968. *Les végétaux actuels en relation avec les plantes fossiles.* Masson.
- Esquivel-Muelbert A, Baker TR, Dexter KG, et al.** 2017a. Seasonal drought limits tree species across the Neotropics. *Ecography* **40**, 618–629.
- Esquivel-Muelbert A, Galbraith D, Dexter KG, Baker TR, Lewis SL, Meir P, Rowland L, Costa ACL da, Nepstad D, Phillips OL.** 2017b. Biogeographic distributions of neotropical trees reflect their directly measured drought tolerances. *Scientific Reports* **7**, 8334.
- Fargeon H, Aubry-Kientz M, Brunaux O, Descroix L, Gaspard R, Guitet S, Rossi V, Hérault B.** 2016. Vulnerability of Commercial Tree Species to Water Stress in Logged Forests of the Guiana Shield. *Forests* **7**, 105.
- 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. *Journal of Ecology* **98**, 106–116.

- 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 Phytologist* **202**, 79–94.
- Gleason SM, Blackman CJ, Gleason ST, McCulloh KA, Ocheltree TW, Westoby M.** 2018. Vessel scaling in evergreen angiosperm leaves conforms with Murray's law and area-filling assumptions: implications for plant size, leaf size and cold tolerance. *New Phytologist* **218**, 1360–1370.
- Goldstein G, Andrade JL, Meinzer FC, Holbrook NM, Cavellier J, Jackson P, Celis A.** 1998. Stem water storage and diurnal patterns of water use in tropical forest canopy trees. *Plant, Cell & Environment* **21**, 397–406.
- Gotsch SG, Powers JS, Lerdau MT.** 2010. Leaf traits and water relations of 12 evergreen species in Costa Rican wet and dry forests: patterns of intra-specific variation across forests and seasons. *Plant Ecology* **211**, 133–146.
- Hacke UG, Jansen S.** 2009. Embolism resistance of three boreal conifer species varies with pit structure. *New Phytologist* **182**, 675–686.
- Hacke UG, Sperry JS, Wheeler JK, Castro L.** 2006. Scaling of angiosperm xylem structure with safety and efficiency. *Tree Physiology* **26**, 689–701.
- Hacke UG, Spicer R, Schreiber SG, Plavcová L.** 2016. An ecophysiological and developmental perspective on variation in vessel diameter. *Plant, Cell & Environment*.
- Hallé F, Martin R.** 1968. Etude de la croissance rythmique chez *Hevea brasiliensis* Müll. Arg. (Euphorbiaceae - Crotonoidées). *Adansonia*, 475–503.
- Hallé F, Oldeman RAA, Tomlinson PB.** 1978. *Tropical Trees and Forests - An Architectural Analysis*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Hartmann H, Trumbore S.** 2016. Understanding the roles of nonstructural carbohydrates in forest trees – from what we can measure to what we want to know. *New Phytologist* **211**, 386–403.
- Heuret P, Barthélémy D, Guédon Y, Coulmier X, Tancre J.** 2002. Synchronization of growth, branching and flowering processes in the South American tropical tree *Cecropia obtusa* (Cecropiaceae). *American Journal of Botany* **89**, 1180–1187.
- Hochberg U, Windt CW, Ponomarenko A, Zhang Y-J, Gersony J, Rockwell FE, Holbrook NM.** 2017. Stomatal Closure, Basal Leaf Embolism, and Shedding Protect the Hydraulic Integrity of Grape Stems. *Plant Physiology* **174**, 764–775.
- Hogg EH, Brandt JP, Kochtubajda B.** 2002. Growth and dieback of aspen forests in northwestern Alberta, Canada, in relation to climate and insects. *Canadian Journal of Forest Research* **32**, 823–832.
- Holt AR, Gaston KJ, He F.** 2002. Occupancy-abundance relationships and spatial distribution: A review. *Basic and Applied Ecology* **3**, 1–13.
- John GP, Scoffoni C, Buckley TN, Villar R, Poorter H, Sack L.** 2017. The anatomical and compositional basis of leaf mass per area. *Ecology Letters* **20**, 412–425.
- Jung V, Albert CH, Violle C, Kunstler G, Loucougaray G, Spiegelberger T.** 2014. Intraspecific trait variability mediates the response of subalpine grassland communities to extreme drought events. *Journal of Ecology* **102**, 45–53.
- Jung V, Violle C, Mondy C, Hoffmann L, Muller S.** 2010. Intraspecific variability and trait-based community assembly. *Journal of Ecology* **98**, 1134–1140.
- Kitajima K, Mulkey SS, Wright SJ.** 1997. Seasonal leaf phenotypes in the canopy of a tropical dry forest: photosynthetic characteristics and associated traits. *Oecologia* **109**, 490–498.
- Klepsch M, Zhang Y, Kotowska MM, et al.** 2018. Is xylem of angiosperm leaves less resistant to embolism than branches? Insights from microCT, hydraulics, and anatomy. *Journal of Experimental Botany* **69**, 5611–5623.
- Kraft NJB, Crutsinger GM, Forrestel EJ, Emery NC.** 2014. Functional trait differences and the outcome of community assembly: an experimental test with vernal pool annual plants. *Oikos* **123**, 1391–1399.
- Küppers M.** 1984. Carbon relations and competition between woody species in a Central European hedgerow : II. Stomatal responses, water use, and hydraulic conductivity in the root/leaf pathway. *Oecologia* **64**, 344–354.
- Lacroix C, Jeune B, Barabé D.** 2005. Encasement in plant morphology: an integrative approach from genes to organisms. *Canadian Journal of Botany* **83**, 1207–1221.
- Larter M, Pfautsch S, Domec J-C, Trueba S, Nagalingum N, Delzon S.** 2017. Aridity drove the evolution of extreme embolism resistance and the radiation of conifer genus *Callitris*. *New Phytologist* **215**, 97–112.
- Lechthaler S, Gazzabin M, Anfodillo T.** 2018. The hydraulic architecture of the leaf lamina fits an area preserving design. *Acta Horticulturae* **1222**, 43–48.
- Lehnebach R, Beyer R, Letort V, Heuret P.** 2018. The pipe model theory half a century on: a review. *Annals of Botany* **121**, 773–795.
- Leigh A, Sevanto S, Close JD, Nicotra AB.** 2017. The influence of leaf size and shape on leaf thermal dynamics: does theory hold up under natural conditions? *Plant, Cell & Environment* **40**, 237–248.
- Lens F, Sperry JS, Christman MA, Choat B, Rabaey D, Jansen S.** 2011. Testing hypotheses that link wood anatomy to cavitation resistance and hydraulic conductivity in the genus *Acer*. *New Phytologist* **190**, 709–723.
- Lepš J, Bello F de, Šmilauer P, Doležal J.** 2011. Community trait response to environment: disentangling species turnover vs intraspecific trait variability effects. *Ecography* **34**, 856–863.

- Levionnois S, Tysklind N, Nicolini E, et al.** 2018. Low functional but large soil-related variations in growth trajectories characterise the widespread Neotropical tree *Cecropia obtusa* Trécul (Urticaceae). *bioRxiv*, 351197.
- Li S, Lens F, Espino S, Karimi Z, Klepsch M, Schenk HJ, Schmitt M, Schuldt B, Jansen S.** 2016. Intervessel pit membrane thickness as a key determinant of embolism resistance in angiosperm xylem. *IAWA Journal* **37**, 152–171.
- Loubry D.** 1994a. *Déterminismes du comportement phénologique des arbres en forêt tropicale humide de Guyane française*(5 LAT. N).
- Loubry D.** 1994b. La phénologie des arbres caducifoliés en forêt guyanaise (5° de latitude nord): illustration d'un déterminisme à composantes endogène et exogène. *Canadian Journal of Botany* **72**, 1843–1857.
- Maherali H, Pockman WT, Jackson RB.** 2004. Adaptive radiation in the vulnerability of woody plants to xylem cavitation. *Ecology* **85**, 2184–2199.
- Maradène Comte L.** 1993. Rythmes de croissance et structures spatiales périodiques d'arbres tropicaux: Exemple de cinq espèces de forêt équatoriale.
- Maréchaux I, Bartlett MK, Iribar A, Sack L, Chave J.** 2017. Stronger seasonal adjustment in leaf turgor loss point in lianas than trees in an Amazonian forest. *Biology Letters* **13**.
- Markesteyn L, Poorter L, Bongers F, Paz H, Sack L.** 2011. Hydraulics and life history of tropical dry forest tree species: coordination of species' drought and shade tolerance. *New Phytologist* **191**, 480–495.
- Martínez-Vilalta J, Cochard H, Mencuccini M, et al.** 2009. Hydraulic adjustment of Scots pine across Europe. *New Phytologist* **184**, 353–364.
- Martínez-Vilalta J, Garcia-Forner N.** 2017. Water potential regulation, stomatal behaviour and hydraulic transport under drought: deconstructing the iso/anisohydric concept. *Plant, Cell & Environment* **40**, 962–976.
- Martínez-Vilalta J, Mencuccini M, Álvarez X, Camacho J, Loepfe L, Piñol J.** 2012. Spatial distribution and packing of xylem conduits. *American Journal of Botany* **99**, 1189–1196.
- Martin-StPaul N, Delzon S, Cochard H.** 2017. Plant resistance to drought depends on timely stomatal closure. *Ecology Letters* **20**, 1437–1447.
- McAdam SAM, Cardoso AA.** 2018. The recurrent evolution of extremely resistant xylem. *Annals of Forest Science* **1**, 1–4.
- McDowell NG.** 2011. Mechanisms Linking Drought, Hydraulics, Carbon Metabolism, and Vegetation Mortality. *Plant Physiology* **155**, 1051–1059.
- McDowell N, Allen CD, Anderson-Teixeira K, et al.** 2018. Drivers and mechanisms of tree mortality in moist tropical forests. *New Phytologist* **219**, 851–869.
- McDowell N, Barnard H, Bond B, et al.** 2002. The relationship between tree height and leaf area: sapwood area ratio. *Oecologia* **132**, 12–20.
- McDowell NG, Beerling DJ, Breshears DD, Fisher RA, Raffa KF, Stitt M.** 2011. The interdependence of mechanisms underlying climate-driven vegetation mortality. *Trends in Ecology & Evolution* **26**, 523–532.
- McDowell N, Pockman William T., Allen Craig D., et al.** 2008. Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while others succumb to drought? *New Phytologist* **178**, 719–739.
- McKown AD, Cochard H, Sack L.** 2010. Decoding Leaf Hydraulics with a Spatially Explicit Model: Principles of Venation Architecture and Implications for Its Evolution. *The American Naturalist* **175**, 447–460.
- Meinzer FC, Grantz DA.** 1990. Stomatal and hydraulic conductance in growing sugarcane: stomatal adjustment to water transport capacity*. *Plant, Cell & Environment* **13**, 383–388.
- Michaletz ST, Weiser MD, McDowell NG, Zhou J, Kaspary M, Helliker BR, Enquist BJ.** 2016. The energetic and carbon economic origins of leaf thermoregulation. *Nature Plants* **2**, 16129.
- Milla R, Reich PB.** 2007. The scaling of leaf area and mass: the cost of light interception increases with leaf size. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* **274**, 2109–2115.
- Mitchell PJ, O'Grady AP, Tissue DT, White DA, Ottenschlaeger ML, Pinkard EA.** 2013. Drought response strategies define the relative contributions of hydraulic dysfunction and carbohydrate depletion during tree mortality. *New Phytologist* **197**, 862–872.
- Muir CD.** 2019. tealeaves: an R package for modelling leaf temperature using energy budgets. *bioRxiv*, 529487.
- Nardini A, Öunapuu-Pikas E, Savi T.** 2014. When smaller is better: leaf hydraulic conductance and drought vulnerability correlate to leaf size and venation density across four *Coffea arabica* genotypes. *Functional Plant Biology* **41**, 972–982.
- Niinemets Ü, Portsmouth A, Tena D, Tobias M, Matesanz S, Valladares F.** 2007. Do we Underestimate the Importance of Leaf Size in Plant Economics? Disproportional Scaling of Support Costs Within the Spectrum of Leaf Physiognomy. *Annals of Botany* **100**, 283.
- Niklas KJ, Cobb ED.** 2008. Evidence for “diminishing returns” from the scaling of stem diameter and specific leaf area. *American Journal of Botany* **95**, 549–557.
- Niklas KJ, Cobb ED, Niinemets Ü, Reich PB, Sellin A, Shipley B, Wright IJ.** 2007. “Diminishing returns” in the scaling of functional leaf traits across and within species groups. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **104**, 8891–8896.

- Niklas KJ, Cobb ED, Spatz H-C.** 2009. Predicting the allometry of leaf surface area and dry mass. *American Journal of Botany* **96**, 531–536.
- Normand F, Bissery C, Damour G, Lauri P-É.** 2008. Hydraulic and mechanical stem properties affect leaf–stem allometry in mango cultivars. *New Phytologist* **178**, 590–602.
- Okajima Y, Taneda H, Noguchi K, Terashima I.** 2012. Optimum leaf size predicted by a novel leaf energy balance model incorporating dependencies of photosynthesis on light and temperature. *Ecological Research* **27**, 333–346.
- Oliveira RS, Costa FRC, Baalen E van, et al.** 2019. Embolism resistance drives the distribution of Amazonian rainforest tree species along hydro-topographic gradients. *New Phytologist* **221**, 1457–1465.
- Olson ME, Aguirre-Hernández R, Rosell JA.** 2009. Universal foliage-stem scaling across environments and species in dicot trees: plasticity, biomechanics and Corner’s Rules. *Ecology Letters* **12**, 210–219.
- Olson ME, Anfodillo T, Rosell JA, Petit G, Crivellaro A, Isnard S, León-Gómez C, Alvarado-Cárdenas LO, Castorena M.** 2014. Universal hydraulics of the flowering plants: vessel diameter scales with stem length across angiosperm lineages, habits and climates. *Ecology Letters* **17**, 988–997.
- Olson ME, Rosell JA.** 2013. Vessel diameter–stem diameter scaling across woody angiosperms and the ecological causes of xylem vessel diameter variation. *New Phytologist* **197**, 1204–1213.
- Olson ME, Soriano D, Rosell JA, et al.** 2018. Plant height and hydraulic vulnerability to drought and cold. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **115**, 7551–7556.
- O’sullivan OS, Heskell MA, Reich PB, et al.** 2017. Thermal limits of leaf metabolism across biomes. *Global Change Biology* **23**, 209–223.
- Paine CET, Baraloto C, Chave J, Hérault B.** 2011. Functional traits of individual trees reveal ecological constraints on community assembly in tropical rain forests. *Oikos* **120**, 720–727.
- Pereira L, Bittencourt PRL, Oliveira RS, Junior MBM, Barros FV, Ribeiro RV, Mazzafera P.** 2016. Plant pneumatics: stem air flow is related to embolism – new perspectives on methods in plant hydraulics. *New Phytologist* **211**, 357–370.
- Petit G, Anfodillo T, De Zan C.** 2009. Degree of tapering of xylem conduits in stems and roots of small *Pinus cembra* and *Larix decidua* trees. *Botany* **87**, 501–508.
- Pivovarov AL, Pasquini SC, Guzman D, E M, Alstad KP, Stemke JS, Santiago LS.** 2016. Multiple strategies for drought survival among woody plant species. *Functional Ecology* **30**, 517–526.
- Poiseuille JL.** 1844. *Recherches experimentales sur le mouvement des liquides dans les tubes de tres-petits diametres.* Imprimerie Royale.
- Poorter L, Bongers F.** 2006. Leaf Traits Are Good Predictors of Plant Performance Across 53 Rain Forest Species. *Ecology* **87**, 1733–1743.
- Poorter L, McDonald I, Alarcón A, Fichtler E, Licona J-C, Peña-Claros M, Sterck F, Villegas Z, Sass-Klaassen U.** 2010. The importance of wood traits and hydraulic conductance for the performance and life history strategies of 42 rainforest tree species. *New Phytologist* **185**, 481–492.
- Reich PB.** 2014. The world-wide ‘fast–slow’ plant economics spectrum: a traits manifesto. *Journal of Ecology* **102**, 275–301.
- Rodríguez-Calcerrada J, Li M, López R, Cano FJ, Oleksyn J, Atkin OK, Pita P, Aranda I, Gil L.** 2017. Drought-induced shoot dieback starts with massive root xylem embolism and variable depletion of nonstructural carbohydrates in seedlings of two tree species. *New Phytologist* **213**, 597–610.
- Rosner S.** 2017. Wood density as a proxy for vulnerability to cavitation: Size matters. *Journal of Plant Hydraulics* **4**, e001–e001.
- Ryan MG, Phillips N, Bond BJ.** 2006. The hydraulic limitation hypothesis revisited. *Plant, Cell & Environment* **29**, 367–381.
- Sabatier D, Grimaldi M, Prévost M-F, Guillaume J, Godron M, Dosso M, Curmi P.** 1997. The influence of soil cover organization on the floristic and structural heterogeneity of a Guianan rain forest. *Plant Ecology* **131**, 81–108.
- Sack L, Frole K.** 2006. Leaf Structural Diversity Is Related to Hydraulic Capacity in Tropical Rain Forest Trees. *Ecology* **87**, 483–491.
- Sack L, Scoffoni C.** 2012. Measurement of Leaf Hydraulic Conductance and Stomatal Conductance and Their Responses to Irradiance and Dehydration Using the Evaporative Flux Method (EFM). *Journal of Visualized Experiments : JoVE*.
- Sack L, Scoffoni C, Johnson DM, Buckley TN, Brodrribb TJ.** 2015. The Anatomical Determinants of Leaf Hydraulic Function. In: Hacke U, ed. *Functional and Ecological Xylem Anatomy*. Cham: Springer International Publishing, 255–271.
- Sack L, Scoffoni C, McKown AD, Frole K, Rawls M, Havran JC, Tran H, Tran T.** 2012. Developmentally based scaling of leaf venation architecture explains global ecological patterns. *Nature Communications* **3**, 837.
- Sage RF, Kubien DS.** 2007. The temperature response of C3 and C4 photosynthesis. *Plant, Cell & Environment* **30**, 1086–1106.
- Santiago LS, Goldstein G, Meinzer FC, Fisher JB, Machado K, Woodruff D, Jones T.** 2004. Leaf photosynthetic traits scale with hydraulic conductivity and wood density in Panamanian forest canopy trees. *Oecologia* **140**, 543–550.

- Sattler R.** 1984. Homology-A Continuing Challenge. *Systematic Botany* **9**, 382–394.
- Sattler R.** 1996. Classical Morphology and Continuum Morphology: Opposition and Continuum. *Annals of Botany* **78**, 577–581.
- Sattler R.** 2011. Process morphology: structural dynamics in development and evolution. *Canadian Journal of Botany*.
- Sattler R, Jeune B.** 1992. Multivariate Analysis Confirms the Continuum View of Plant Form. *Annals of Botany* **69**, 249–262.
- Scholz FG, Phillips NG, Bucci SJ, Meinzer FC, Goldstein G.** 2011. Hydraulic Capacitance: Biophysics and Functional Significance of Internal Water Sources in Relation to Tree Size. In: Meinzer FC, In: Lachenbruch B, In: Dawson TE, eds. *Tree Physiology. Size- and Age-Related Changes in Tree Structure and Function*. Dordrecht: Springer Netherlands, 341–361.
- Scholz A, Rabaey D, Stein A, Cochard H, Smets E, Jansen S.** 2013. The evolution and function of vessel and pit characters with respect to cavitation resistance across 10 *Prunus* species. *Tree Physiology* **33**, 684–694.
- Scoffoni C, Albuquerque C, Brodersen C, Townes SV, John GP, Bartlett MK, Buckley TN, McElrone AJ, Sack L.** 2017a. Outside-xylem vulnerability, not xylem embolism, controls leaf hydraulic decline during dehydration. *Plant Physiology*, pp.01643.2016.
- Scoffoni C, Albuquerque C, Brodersen CR, Townes SV, John GP, Cochard H, Buckley TN, McElrone AJ, Sack L.** 2017b. Leaf vein xylem conduit diameter influences susceptibility to embolism and hydraulic decline. *New Phytologist* **213**, 1076–1092.
- Scoffoni C, Chatelet DS, Pasquet-kok J, Rawls M, Donoghue MJ, Edwards EJ, Sack L.** 2016. Hydraulic basis for the evolution of photosynthetic productivity. *Nature Plants* **2**, 16072.
- Scoffoni C, Rawls M, McKown A, Cochard H, Sack L.** 2011. Decline of Leaf Hydraulic Conductance with Dehydration: Relationship to Leaf Size and Venation Architecture. *Plant Physiology* **156**, 832–843.
- Scoffoni C, Sack L, Ort D.** 2017c. The causes and consequences of leaf hydraulic decline with dehydration. *Journal of Experimental Botany* **68**, 4479–4496.
- Sevanto S, McDowell NG, Dickman LT, Pangle R, Pockman WT.** 2014. How do trees die? A test of the hydraulic failure and carbon starvation hypotheses. *Plant, Cell & Environment* **37**, 153–161.
- Shipley B, Bello FD, Cornelissen JHC, Laliberté E, Laughlin DC, Reich PB.** 2016. Reinforcing loose foundation stones in trait-based plant ecology. *Oecologia* **180**, 923–931.
- Shipley B, Paine CET, Baraloto C.** 2012. Quantifying the importance of local niche-based and stochastic processes to tropical tree community assembly. *Ecology* **93**, 760–769.
- Smith DD, Sperry JS, Adler FR.** 2017. Convergence in leaf size versus twig leaf area scaling: do plants optimize leaf area partitioning? *Annals of Botany* **119**, 447–456.
- Sperry J, Hacke U, Pittermann J.** 2006. Size and function in conifer tracheids and angiosperm vessels. *American Journal of Botany* **93**, 1490–1500.
- Sperry JS, Meinzer FC, McCulloh KA.** 2008. Safety and efficiency conflicts in hydraulic architecture: scaling from tissues to trees. *Plant, Cell & Environment* **31**, 632–645.
- ter Steege H, Pitman NCA, Sabatier D, et al.** 2013. Hyperdominance in the Amazonian Tree Flora. *Science* **342**, 1243092.
- Sun Jun, Fan Ruihui, Niklas Karl J., Zhong Quanlin, Yang Fuchun, Li Man, Chen Xiaoping, Sun Mengke, Cheng Dongliang.** 2017. “Diminishing returns” in the scaling of leaf area vs. dry mass in Wuyi Mountain bamboos, Southeast China. *American Journal of Botany* **104**, 993–998.
- Tai X, Mackay DS, Anderegg WRL, Sperry JS, Brooks PD.** 2017. Plant hydraulics improves and topography mediates prediction of aspen mortality in southwestern USA. *New Phytologist* **213**, 113–127.
- Troll W.** 1937. *Vergleichende Morphologie der höheren Pflanzen: Bd. Vegetationsorgane*. Gebrüder Borntraeger.
- Trueba S, Pouteau R, Lens F, Feild TS, Isnard S, Olson ME, Delzon S.** 2017. Vulnerability to xylem embolism as a major correlate of the environmental distribution of rain forest species on a tropical island. *Plant, Cell & Environment* **40**, 277–289.
- Tyree MT, Ewers FW.** 1991. The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *New Phytologist* **119**, 345–360.
- Tyree MT, Zimmermann MH.** 2002. *Xylem Structure and the Ascent of Sap*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- Urli M, Porté AJ, Cochard H, Guengant Y, Burlett R, Delzon S.** 2013. Xylem embolism threshold for catastrophic hydraulic failure in angiosperm trees. *Tree Physiology* **33**, 672–683.
- Volaire F.** 2018. A unified framework of plant adaptive strategies to drought: Crossing scales and disciplines. *Global Change Biology* **24**, 2929–2938.
- Westoby M, Falster DS, Moles AT, Vesk PA, Wright IJ.** 2002. Plant Ecological Strategies: Some Leading Dimensions of Variation between Species. *Annual Review of Ecology and Systematics* **33**, 125–159.
- Wheeler JK, Sperry JS, Hacke UG, Hoang N.** 2005. Inter-vessel pitting and cavitation in woody Rosaceae and other vesselless plants: a basis for a safety versus efficiency trade-off in xylem transport. *Plant, Cell & Environment* **28**, 800–812.
- Wolfe BT, Sperry JS, Kursar TA.** 2016. Does leaf shedding protect stems from cavitation during seasonal droughts? A test of the hydraulic fuse hypothesis. *New Phytologist* **212**, 1007–1018.

- Wright SJ, Kitajima K, Kraft NJB, et al.** 2010. Functional traits and the growth–mortality trade-off in tropical trees. *Ecology* **91**, 3664–3674.
- Wright IJ, Reich PB, Westoby M, et al.** 2004. The worldwide leaf economics spectrum. *Nature* **428**, 821–827.
- Yang D, Niklas KJ, Xiang S, Sun S.** 2010a. Size-dependent leaf area ratio in plant twigs: implication for leaf size optimization. *Annals of Botany* **105**, 71.
- Yang D, Niklas KJ, Xiang S, Sun S.** 2010b. Size-dependent leaf area ratio in plant twigs: implication for leaf size optimization. *Annals of Botany* **105**, 71.
- Zalamea P-C, Sarmiento C, Stevenson PR, Rodríguez M, Nicolini E, Heuret P.** 2013. Effect of rainfall seasonality on the growth of *Cecropia sciadophylla*: intra-annual variation in leaf production and node length. *Journal of Tropical Ecology* **29**, 361–365.
- Zalamea P-C, Stevenson PR, Madriñán S, Aubert P-M, Heuret P.** 2008. Growth pattern and age determination for *Cecropia sciadophylla* (Urticaceae). *American Journal of Botany* **95**, 263–271.
- Zanne AE, Westoby M, Falster DS, Ackerly DD, Loarie SR, Arnold SEJ, Coomes DA.** 2010. Angiosperm wood structure: Global patterns in vessel anatomy and their relation to wood density and potential conductivity. *American Journal of Botany* **97**, 207–215.
- Zhang J-L, Cao K-F.** 2009. Stem hydraulics mediates leaf water status, carbon gain, nutrient use efficiencies and plant growth rates across dipterocarp species. *Functional Ecology* **23**, 658–667.
- Zhang L, Copini P, Weemstra M, Sterck F.** 2016. Functional ratios among leaf, xylem and phloem areas in branches change with shade tolerance, but not with local light conditions, across temperate tree species. *New Phytologist* **209**, 1566–1575.
- Zimmermann MH.** 1983. *Xylem Structure and the Ascent of Sap*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.

Sébastien LEVIONNOIS

UMR EcoFoG and AMAP

Supervisors : Patrick HEURET (INRA, UMR AMAP) and Éric-André NICOLINI (CIRAD, UMR AMAP)

Diversity and variability of the vascular and hydraulic architecture of the leafy shoot of rainforest canopy trees

Hydraulic traits are related to the fundamental functions of conduction and drought resistance, driving plant ecology, evolution, and processes related to climate change. However, these traits are still poorly documented for tropical rainforest, hindering our understanding of tropical tree ecology and the future of tropical forests. Through a trait-based approach combining leaf and stem in-depth anatomy and physiology, this thesis analyses the structure and the functioning of tree leafy shoots, a compartment exposed to the most severe water stress within a tree.

This thesis is based on a dataset of 42 canopy tree species sampled in a rainforest in French Guiana, exemplifying a large range of leaf size. A second dataset, aiming at better understanding the sources of intraspecific variability, focus on the pioneer tree species *Cecropia obtusa* Trécul (Urticaceae).

The first part aims at understanding the coordination between leaf and stem across a large leaf size range, by analysing the morpho-anatomical and functional changes underlying the leaf size-stem size relationship for 42 tropical rainforest canopy trees. This framework is also applied at the intraspecific level for the model *C. obtusa*, for the petiole-lamina relationship. Understanding leaf size-related changes allows to properly investigate ontogenetic and seasonal effects on leaf vascular and hydraulic traits for *C. obtusa*.

The second part aims at better understanding the drought resistance of the leafy shoot.

By retaining 25 species, the anatomical determinants of drought-induced embolism resistance for stems are studied. The different properties and mechanisms already known for temperate plants are investigated jointly to consolidate or not their existence, and understand their relative contribution. Vulnerability segmentation (i.e. differentiation of embolism resistance) at the leaf-stem interface is investigated across 20 species. I further evidenced (i) a large spectrum of variation for vulnerability segmentation across species, (ii) a positive relation with hydraulic segmentation (i.e. differentiation of hydraulic resistance), suggesting that some species promote both hydraulic and vulnerability segmentations to decouple hydraulically leaf and stem, and (iii) that vulnerability segmentation has a massive role in enhancing the theoretical desiccation time of shoots, confirming vulnerability segmentation as a drought resistance mechanism for tropical trees.

In a final part, all traits are merged to test their predictive power for species hydro-topographic distribution and growth-mediated response to water stress, at a local scale. In the general discussion, I discuss the functional signification of leaf size and drought resistance traits for tropical rainforest, as also potential relation between leaf size and drought resistance.

Keywords: anatomy, *Cecropia obtusa*, drought resistance, embolism resistance, functional trait, intraspecific, hydraulic, leaf-stem, segmentation, vasculature, water transport, xylem

Diversité et variabilité de l'architecture vasculaire et hydraulique de la pousse feuillée chez des arbres de canopée d'une forêt tropicale humide

Les traits hydrauliques sont reliés aux fonctions fondamentales du transport de l'eau dans la plante et de la résistance à la sécheresse, déterminant l'écologie, l'évolution, et les processus en lien avec le changement climatique pour les plantes. Cependant, ces traits restent que peu documentés pour les forêts tropicales humides, empêchant de mieux comprendre l'écologie des arbres tropicaux et le futur des forêts tropicales. À partir d'une approche générale s'intéressant à la structure (morphologie et anatomie) et au fonctionnement (physiologie) de la pousse feuillée au sein des arbres, cette thèse analyse la structure et le fonctionnement de la pousse feuillée des arbres, notamment dans la perspective de la résistance à la sécheresse.

Cette thèse s'appuie sur un jeu de données général qui concerne 42 espèces d'arbres de canopée échantillonnées en forêt tropicale humide de Guyane, et qui illustre une large gamme de tailles de feuilles. Un second jeu de données, destiné à mieux comprendre les sources de variabilité intraspécifique, porte de l'espèce pionnière *Cecropia obtusa* Trécul (Urticaceae).

Une première partie de la thèse vise à comprendre la coordination entre la feuille et la tige pour une large gamme de dimension foliaire, en analysant les changements morpho-anatomiques et fonctionnels soulignant la relation entre dimensions de la feuille et dimensions de la tige à l'échelle interspécifique. Ce cadre est aussi appliqué à l'échelle intraspécifique pour le modèle *C. obtusa* pour la relation pétiole-limbe. Comprendre les changements liés aux dimensions de la feuille permet ainsi d'investir correctement les effets ontogénétiques et saisonniers sur les traits foliaires vasculaires et hydrauliques pour *C. obtusa*.

La seconde partie vise à mieux comprendre les mécanismes de résistance à la sécheresse de la pousse feuillée. En retenant 25 espèces, les déterminants anatomiques de la résistance à l'embolie par sécheresse des tiges et sont étudiés. Les différentes propriétés et mécanismes déjà connus pour des plantes tempérées sont abordés conjointement afin de conforter ou non leur existence et comprendre leurs contributions relatives. La segmentation de vulnérabilité (c.-à-d. la différenciation de résistance à l'embolie) à l'interface tige-feuille est également étudiée pour 20 espèces. Sa coordination avec la segmentation hydraulique (c.-à-d. différenciation de résistance hydraulique), qui est dérivée des études anatomiques réalisées dans la première partie, est étudiée. Je montre ainsi (i) un large spectre de variation pour la segmentation de vulnérabilité entre espèces, (ii) une relation positive avec la segmentation hydraulique, suggérant qu'il y a des espèces promouvant à la fois la segmentation hydraulique et la segmentation de vulnérabilité pour découpler le fonctionnement la feuille de la tige du point de vue hydraulique, et (iii) que la segmentation de vulnérabilité a un impact important sur le temps de dessiccation théorique de la pousse feuillée, confirmant que la segmentation de vulnérabilité est un mécanisme de résistance à la sécheresse.

Dans une dernière partie, je teste le pouvoir prédictif des différents traits hydrauliques étudiés sur la distribution hydro-topographique des espèces, ainsi que l'impact du stress hydrique sur la croissance des arbres, à une échelle locale. Dans la Discussion générale, je discute de la signification fonctionnelle de la surface de la feuille et des traits de résistance à la sécheresse en forêt tropicale humide, ainsi que la relation potentielle entre la surface de la feuille et la résistance à la sécheresse.

Keywords: anatomie, *Cecropia obtusa*, résistance à la sécheresse, résistance à l'embolie, trait fonctionnel, intraspécifique, hydraulique, tige-feuille, segmentation, vascularisation, transport de l'eau, xylème