



HAL
open science

Etude du rougissement hivernal du Douglas : entre températures douces & formation de glace

Mahaut van Rooij

► **To cite this version:**

Mahaut van Rooij. Etude du rougissement hivernal du Douglas : entre températures douces & formation de glace. Biologie végétale. Université Clermont Auvergne, 2023. Français. NNT : 2023UCFA0154 . tel-04636857

HAL Id: tel-04636857

<https://theses.hal.science/tel-04636857>

Submitted on 5 Jul 2024

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.

ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE, SANTE, AGRONOMIE, ENVIRONNEMENT

THESE

Soutenue le 13 décembre 2023 par

Mahaut VAN ROOIJ

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR D'UNIVERSITE

Spécialité : Biologie végétale

Etude du rougissement hivernal du Douglas :
Entre températures douces & formation de glace

Présidente du jury :

Patricia ROECKEL - DREVET, Professeur, Université Clermont-Auvergne

Rapporteurs :

Thomas CORDONNIER, Responsable pôle RDI ONF, Dole

Annabel PORTE, Directrice de recherche, INRAE, Bordeaux

Sergio ROSSI, Professeur, Université de Chicoutimi

Examinatrice :

Nathalie BREDA, Directrice de Recherche, INRAE, Nancy

Directeur de thèse :

Thierry AMEGLIO, Directeur de recherche, INRAE, Clermont-Ferrand

Encadrant de thèse :

Guillaume CHARRIER, Chargé de Recherche, INRAE, Clermont-Ferrand

Encadrant de proximité :

Nicolas DUSART, Post - doctorant INRAE, Clermont-Ferrand

Invité :

Olivier BAUBET, chef de pôle Santé des forêts AURA, Clermont-Ferrand

Laboratoire de Physique et Physiologie Intégrative de l'Arbre en environnement Fluctuant

(UMR PIAF, Université Clermont-Auvergne – INRAE)

Remerciements

“N'aie jamais peur de dire à quelqu'un que tu l'aimes.

*Il y a des choses qui ne vont pas dans ce monde, mais l'excès
d'amour n'en fait pas partie“*

Matt Haig

Ces trois belles années de thèse ont été intenses en apprentissage, en émotion, en idées (pas toujours géniales), en échanges ! Une aventure humaine et scientifique à part entière, qui n'aurait pas pu être menée à bien sans toutes les rencontres que j'ai eu la chance de faire. C'est donc le moment, de remercier toutes les personnes qui m'ont épaulée de près ou de loin. Ainsi, je vais essayer de n'oublier personne mais je ne suis pas convaincue de ma réussite.

Je veux d'abord remercier Guillaume Charrier, l'initiateur du projet 'Doux-glace' et mon directeur de thèse. Merci de m'avoir fait confiance pour mener à bien ce travail. Je n'avais pas le profil parfait mais tu m'as donné la chance de pouvoir continuer à apprendre, de satisfaire ma curiosité chronique et de réaliser ce travail de longue haleine. S'il est vrai que je n'ai pas toujours suivi tes suggestions, j'ai apprécié tes conseils et l'autonomie que tu as su me laisser.

Je dois remercier Thierry Améglio pour sa présence distante mais attentionnée, ton intervention 'divine' indispensable pour ma participation au congrès Phéno2022, suite à un dépassement de plusieurs semaines après la deadline. Je te remercie notamment de ta bienveillance, de ton optimisme et de ta positivité sur tes retours de relecture. Merci de m'avoir très sérieusement aidé à 'resserrer les boulons' dans la phase d'écriture finale.

Un grand merci à Nicolas Dusart, mon encadrant de thèse improvisé ! Qui l'eut cru le 1^{er} septembre 2020, jour de mon début de thèse et de ton début de post doc, que tu serais aussi présent et même aussi (osons le mot) indispensable à ce doctorat ? Et oui, entre les loooongues journées de manip serre que tu m'as accordé pour m'aider à gérer la capricieuse licor - Instrument de mesure aisément 'portable', qui aurait chût beaucoup plus que 2 fois sans toi (Attention aux fils, aux thermocouples !) - et les discussions scientifiques autour i) des prélèvements et des techniques scientifiques, ii) de l'analyse de données, iii) des morceaux de codes R ; je crois qu'on peut dire que tu en as passé du temps avec les Douglas et moi ! Tu ne t'es contenté d'être un pilier scientifique, tu as aussi été mon psychanalyste préféré ! Ton honnêteté, ta curiosité, ta rigueur scientifique ainsi que ta simplicité m'ont été d'une grande aide. Du coup, merci. Evidemment, comme derrière chaque grand homme se cache une grande femme ; merci à

toi aussi Aline pour ta douceur et tes conseils – tu as raison sur beaucoup de choses ^^ - et bises à Chloé et Zéphyr.

Je remercie chaleureusement les membres du Jury d'avoir accepté volontiers d'évaluer ma thèse : Annabel Porté, Thomas Cordonnier, Sergio Rossi et Nathalie Breda et Patrica Drevet d'avoir accepté d'être présidente du jury. J'en profite pour remercier les membres de mon comité de thèse pour la pertinence de leurs conseils : Philippe Rozenberg, Francois Lebourgeois, Stéphane Herbette et Nathalie Breda.

Olivier Baubet. Tant de choses pour lesquelles je voudrais te remercier. Je vais essayer d'être concise. Déjà, je me rappelle la première fois où je t'ai vu lorsque je ne savais vraiment différencier un Douglas d'un épicéa ou d'un sapin. A la fin de la journée, j'avais pallié cette lacune et, même, appris qu'un mélèze en hiver perdait ses aiguilles. Et oui, on parlait de loin... Mais tu as toujours eu foi en moi. Merci pour ça. Ensuite, tes appels réguliers pour avoir de mes nouvelles, de savoir comment la thèse avançait, les tournées observation du 'rouge phy', les journées DSF ou tu m'as convié ! J'y ai tellement appris, humainement ou scientifiquement. Le rougissement, ça fait des années que tu l' observes sans arriver à en comprendre tous les tenants et aboutissants, du coup évidemment que tu en as des idées là-dessus, des facteurs pouvant l'influencer, des tas de choses que j'aurais aimé tester ! Mais 3 ans, c'est si court ! Bon, je ne t'apporte pas autant de réponses qu'escompté (La science ;)) mais je te remercie de ta présence, de ton regard affuté de forestier et de ton côté terre à terre qui m'a été tellement utile. J'en profite pour remercier tous agents du DSF que j'ai eu la chance de rencontrer, j'ai passé de très bons moments à vos côtés avec des échanges riches dans la bonne humeur et la simplicité ! J'espère vous recroiser bientôt.

J'en viens maintenant à remercier du fond du cœur, ceux qu'on ne voit pas mais qui sont/ont été indispensables pour la réalisation des expérimentations. Les techniciens !

Christophe, je t'ai négligé ces derniers mois, j'en ai bien honte ! Christophe le râleur, je ne sais comment te remercier. Tu as eu le cœur sur la main, les pieds sur terre et l'esprit bien affuté ! Tu as toujours là pour régler mes déboires expérimentaux – en tant que critique d'expérimentations foireuses auxquelles tu participais malgré tout : les marmites qui surchauffaient soudainement, les dendro qui vrillaient sans raison apparente et tous les problèmes des systèmes acoustiques (d'où le fameux adage : 'l'acoustique, beaucoup de bruit pour pas grand-chose !'). Merci de m'avoir accompagnée pour monter les expérimentations sous serre, sur le terrain lors des journées gélives hivernales. J'avoue avoir été bien refaite de t'avoir laisser conduire sur les chemins forestiers entièrement verglacés ; je me voyais bien finir dans un fossé avec la rifter sans réseau, condamnée à attendre le dégel ;) Merci pour ta présence sur le côté hors-thèse, ahah mon joli lingot d'or ! Je veux te voir à ma soutenance et pas uniquement pour le pot ;)

Pascal, le génie de la lumière, merci pour ton humour parfois assez hasardeux mais on en redemande ! J'ai beaucoup apprécié les moments passés ensemble, le Handi-sport, ta bonne (ou ta mauvaise) humeur et ton aide toujours efficace ! :p

Stéphane, pour nos belles discussions philosophiques, tes talents de cuisinier et nos éclats de rire, merci !

Ensuite, je veux remercier Aline pour ta gentillesse, ta disponibilité et tes conseils sur la phéno et pour les coccinelles sauveuses de mes petits Douglas lors de mes manip ! Je dois aussi te remercier des discussions qu'on a partagées mais surtout pour m'avoir remis la tête sur les épaules un dimanche après-midi en mars 2022 ; DD pour ton esprit acéré ; Brigitte et Stéphane pour la qualité de leur travail ; Patrice pour avoir gardé mes Douglas en vie sur la plateforme !

Je veux ensuite remercier tous les membres du PIAF.

Allez, je me lance avec les précaires : Marianne avec ton rire contagieux, Tsiky (on l'a commencé en même temps cette thèse, courage), Alex (3^{ième} larron de la cuvée thèse 2020-2023), Cyril – j'ai pris des leçons de ton comportement que j'admire ^^ -, Nono et son calme olympien, Ludo l'éternel post-doc avec qui j'ai été ravi de partager de grandes discussions Douglas & Cie, Lucas, Marylou, Amandine ainsi qu'à tous les stagiaires. Un remerciement spécial à Elisabeth, ma stagiaire de cœur, tu seras une thésarde incroyable !

Je continue maintenant avec les installés, les 'meubles du PIAF à Crouël' : d'abord les administratives puis les scientifiques ! Dominique Tiziani, ma 'maman' de l'INRAe sans hésitation. Ton franc-parler, ton grand cœur, ta simplicité m'ont énormément apporté (surtout des interdictions de terrain à la suite de mon coup de scalpel). Béatrice Meteix, merci de ta douceur et ton écoute. J'ai adoré te rencontrer. Passons maintenant aux scientifiques : Bruno Moulia, j'ai été ravie de te rencontrer malgré le (trop) peu de discussions que nous avons pu avoir ! J'en suis toujours ressortie positive, scientifiquement et humainement, avec le sourire. Hervé Cochard, merci ta disponibilité, tes suggestions scientifiques toujours très avisées et pour ton accueil souriant lors de mes débarquements inopinés ! Torres, je crois que les quelques heures que tu m'as accordé pour discuter de mes résultats ont donné un sens incroyable à ce travail ! Je dois te remercier du fond du cœur pour ta bienveillance et ta pertinence scientifique ! Et pour finir, Félix Hartmann. Je n'aurais pas su à quel point tu étais génial si le radon ne t'avait pas chassé de ton bureau pour migrer dans le bureau des doctorants. Dommage que ce fût pendant ma période de rédaction... Je vais remercier les membres du PIAF côté FAC de façon moins personnelle car je n'ai pas eu l'occasion d'y aller trop souvent. Néanmoins, je dois te remercier JLJ de m'avoir invité à la patience et de m'avoir proposé des stratégies de résilience à la suite d'écouter mes jérémiades un vendredi matin. Avec des airs de vieux singes et ton esprit pragmatique, merci !

Je veux à présent remercier, ceux qui m'accompagnent au quotidien, m'écoutent patiemment, me suivent dans mes plans foireux, supportent mes simagrées, mes boutades et questions intempestives, mes râleries

et... qui restent malgré tout. Merci à mes ami (e)s qui continuent à me parler depuis les longues années d'amitiés et ... aux plus récents. Tiphaine, pour toutes nos discussions et les soirées concert du vendredi soir. La vie nous réserve tellement de belles surprises, on ne pensait pas se revoir de sitôt. Clémence, un petit volcan en éruption, merci de tes attentions sur l'avancée de ma thèse et de m'avoir si souvent écouter geindre ! Hâte d'être à vos côtés pour voir vos projets éclore.

Maÿlis, je t'octroie cette place spéciale pour ta présence lumineuse le long de ces deux dernières années. Merci d'avoir été si présente, d'avoir si bien suivi mes épisodes de télé novela, d'avoir fait des illustrations incroyables de mes bb Douglas ! Je les ai distillées tout au long de mon manuscrit. Hâte qu'on soit plus proche géographiquement parlant, on pourra se voir plus souvent ;)

Erwan, merci pour ta présence à mes côtés pendant ces trois années. Merci de m'avoir répété tes évidences, de m'avoir accompagné voir mes Douglas, d'avoir coupé un câble acoustique en voulant nettoyer le bordel, d'avoir lu et critiqué mes intro et conclu de chapitre ! Merci de m'avoir soutenue pour cette conclusion de thèse que je n'aurais pas pu finir seule. Quel enfer !

Merci à mes parents. Ma Maman pour ton si grand cœur, tes petits et grands sacrifices pour le bonheur de tes enfants. Merci de nous avoir donné le sens de la famille. Sache que si je n'aurais sûrement jamais ton abnégation, tu m'as déjà donné ta persévérance, ton écoute des autres et ... pour ta bienveillance, eh ben, j'y travaille ! Merci d'être toujours là, aimante malgré mes failles. Mon Papa, merci de travailler si dur pour tes enfants, pour nous offrir tout ce que tu n'as pas eu. Merci de nous avoir donné le sens du travail. Et oui, tu as raison 'c'est bien la peine de faire des études, si on n'est pas capable d'observer la nature'. Effectivement, on doit tous apprendre à regarder ce qui nous entoure, j'y pense régulièrement, un jour j'y excellerai autant que toi (Je suis ambitieuse, je sais :p) ! Merci d'être toujours là avec ta belle générosité. Merci à tous mes frères et sœurs, pour nos moments partagés, nos disputes, nos joies, nos peines.... Elles nous ont forgées et quand je nous vois, je suis fière de nous tous !

Et pour finir, merci à mon « zoo ». Embruns, mon petit cheval qui m'accompagne depuis 5 ans déjà. Mon petit rayon de soleil, je t'ai délaissé ces dernières semaines mais on va les reprendre nos grands galops ! Mélu, Ayda et Touims, que serais-je sans vous ? Ma Jojo et XL, je ne vous oublie pas et à compter d'octobre, on reprend les choses sérieuses ☺

En clôturant ces remerciements, je me rends compte à quel point s'il n'y a qu'un nom sur une thèse, c'est pour s'épargner des pages et des pages d'écriture. L'arbre qui cache la forêt, somme toute ! j'espère que ceux que j'ai oublié ne m'en voudront pas !

Table des figures

Figure 1: Aire de répartition naturelle du Douglas vert (vert), du Douglas bleu (bleu) et de l'hybride (gris foncé) sur la côte ouest des Etats Unis. Source Bastien et al., (2013).	20
Figure 2: Volume sur pied de Douglas vert en France, en m ³ /ha (IGN 2013-2017)	21
Figure 3: Rougissement de l'aiguille dû à des agents fongiques. A: <i>Phaeocryptopus gaeumannii</i> et B: <i>Rhabdocline pseudotsugae</i> – photo crédit © Waldschutz Schweiz (WSL)	24
Figure 4: Deux types de rougissement physiologique différent. A : Douglas en rougissement hivernal. B : Douglas en condition de sécheresse estivale	25
Figure 5: Carte issue du bilan de la santé de forêt en 2014 –Baubet et Goudet, 2014.	27
Figure 6 : Different stages of a Douglas-fir winter reddening (Livradois-Forez, 2022)	35
Figure 7: distribution of reddening observations according to elevation (A), azimuth (B) and the location of the Douglas stand (C). Based on DSF data	37
Figure 8: Distribution of reddening observations according to the age of Douglas stands	38
Figure 9: Scheme of photooxydative stress leading to a winter reddening plants.....	41
Figure 10: Scheme of photooxydative stress leading to a winter reddening plants.....	45
Figure 11: Scheme of early cold deacclimation stress leading to a winter reddening. Erreur ! Signet non défini.	
Figure 12: Z-scores moyens pendant les années de rougissement pour différentes variables climatiques quotidiennes (A, C ; DOY_152) et cumulées sur la fin de l'hiver et le début du printemps (B, D ; DOY_200).....	59
Figure 13 : DOY_152 : Nombre de jour avec anomalies positives (A, C) et négatives (B, D) pendant les années asymptotiques (barres blanches) et les années de rougissement (barres noires).....	60
Figure 14 : Z-score des variables climatiques sélectionnées sur 200 jours avant l'observation du rougissement, fixée au jour 0, pour chaque site (A) ou entre les sites (B).	61
Figure 15: Phenological stages of Douglas-fir buds, inspired by Dhont et al.,2010	77
Figure 16: Illustration of the determination of the date of secondary growth resumption on individual CS4	78
Figure 17: Daily air mean temperature in complete line with soil temperature in dotted line (Mean \pm se; A) and irradiance in the greenhouse during the experiment (B).	81
Figure 18: Effect of low soil temperature and high light exposure on water potential (stem midday Ψ)	83
Figure 19: A- Effect of cold soil temperature and high light intensity on Percentage of loss of conductivity (PLC).....	84
Figure 20: For CS and CSHL treatments, relationship between stomatal conductance (gs in black), fluorescence (Fv/Fm in orange) and water potential.	85
Figure 21: Effect of cold soil temperature and high light intensity on spline fitted secondary growth through the stem increment (A), on spline fitted daily secondary growth rate (B).	87

Figure 22: Effect of cold soil temperature and high light intensity on CO ₂ assimilation of Douglas fir during the experimentation.....	88
Figure 23: Effect of cold soil temperature and high light intensity on soluble carbohydrates and on starch content in Douglas-fir needles.....	89
Figure 24: Relation linéaire entre le diamètre des tissus non élastiques et élastiques en fonction du diamètre total.....	103
Figure 25 : Evolution dans le temps dans la conductance stomatique (A) ; du potentiel hydrique de pousse (B) ; de la fluorescence chlorophyllienne (C).....	105
Figure 26: Modélisation sigmoïdale de l'ACM journalière en fonction du potentiel hydrique (Ψ) sur les arbres non irrigués.....	106
Figure 27 : Figure bilan des mécanismes physiologiques du Douglas 11 (n=1) qui amène à la défaillance hydraulique en cas de sécheresse édaphique.....	108
Figure 28: Courbe de vulnérabilité déterminé pour les différents organes du Douglas à partir du % de PLC et du PH foliaire mesuré à midi.....	110
Figure 29: Courbe de vulnérabilité superposée de la PLD et de la PLC en fonction du potentiel hydrique. En pointillés bleu, les écarts types autour de la P50.....	113
Figure 30 : L PLD des tissus élastiques du tronc et du tronc entier en fonction des potentiels hydriques foliaire à midi.....	114
Figure 31: Scans micro-tomographie à rayons X du milieu du tronc au cours d'un stress hydrique progressif.....	115
Figure 32: Répartition des parcelles sujettes aux derniers épisodes de rougissements hivernaux de grande ampleur (2008 ; 2014 ; 2022).....	126
Figure 33: Analyse en composantes principales (ACP) de la distribution des stations (A) en fonction de la corrélation de 8 variables stationnelles (B) sur un plan factoriel bidimensionnel.....	130
Figure 34: Graphique des valeurs propres avec la décomposition de l'inertie totale des composants de l'ACP.....	131
Figure 35: Impact des dégagement récents sur la sévérité du rougissement. La sévérité du rougissement est notée de 0 (pas de rougissement) à 3 (rougissement sévère > 50% d'arbres rouges). Une sévérité de 1 correspond à un faible taux de rougissement <i>i.e.</i> <15% et une sévérité de 2 correspond à une sévérité moyenne <i>i.e.</i> entre 15 et 30%.....	133
Figure 36 : Impact de la hauteur relative de la végétation d'accompagnement sur la sévérité du rougissement.....	134
Figure 37: La sévérité du rougissement en fonction de la végétation d'accompagnement.....	135
Figure 38: La sévérité du rougissement en fonction du nombre de lisières fermées et de la composition des lisières.....	138
Figure 39 : Portrait-robot d'une parcelle vulnérable au rougissement et d'une parcelle sans rougissement.....	140

Figure 40 : Chronologie des différents stades du rougissement hivernal.....	147
Figure 41: A : Rougissement de l'écorce. B : Trois rameaux du même Douglas. Le rameau rouge a été prélevé sur les verticilles supérieurs, le rameau rougissant au niveau des verticilles du milieu du houppier et le rameau vert vif au niveau des verticilles inférieurs.	148
Figure 42: Fuite d'électrolyte (A) et efficacité photochimique (B : Fv/Fm) des aiguilles en fonction de la coloration de l'aiguille.....	150
Figure 43: Evolution de la concentration en sucres solubles totale (A) et de l'amidon (B) dans les aiguilles en fonction de la coloration de l'aiguille.	152
Figure 44: A: Humidité pondérale (%), B: Potentiel hydrique (MPa), C: Pourcentage de perte de conductivité hydraulique ou embolie (PLC).	154
Figure 45: Répartition de la perte de conductivité hydraulique au sein de Douglas témoin au stade 1 (n=2), de Douglas en cours de rougissement au stade 3 (n=3), et au sein de Douglas entièrement rouge au stade 4 (n=3).....	157
Figure 46: Courbe de vulnérabilité de jeunes Douglas avec l'intervalle de confiance à 95% issue de l'expérience de sécheresse estivale, superposée avec les points issues des données du rougissement.	159
Figure 47: Courbe de vulnérabilité (fuite d'électrolytes en fonction du potentiel hydrique) de jeunes Douglas avec l'intervalle de confiance à 95% issue de l'expérience de sécheresse estivale, superposés avec les points issues des données du rougissement.	160
Figure 48: Fit sigmoïde de l'humidité pondérale en fonction du potentiel hydrique de jeunes Douglas avec l'intervalle de confiance à 95% issue de l'expérience de sécheresse estivale, superposés avec les points issues des données du rougissement.....	161
Figure 49: Répartition de la perte de conductivité hydraulique au sein de Douglas témoin à divers stade de potentiel hydriques foliaire de midi : -1.5, -3, -5.5, -8 MPa (n=12).....	163
Figure 50: Variation de diamètre (en bleu marine) et température (en rose) du Dendromètre #67. Février 2021-Parcelle Nord-Livradois Forez.....	171
Figure 51: Variation de diamètre (en bleu marine) et température (en rose) du Dendromètre #67. 02/01/2022 -Parcelle Nord-Livradois Forez.....	172
Figure 52: Variations de diamètre (en bleu marine) et température (en rose) du dendromètre PépiPiaf #67.Février 2022-Parcelle Nord- Livradois-Forez.....	175
Figure 53: Variations de température de l'air (°C) des parcelles du Livradois Forez, mesurées par les Hygroboutons.....	180
Figure 54: Variations de l'humidité relative (%) des parcelles du Livradois Forez, mesurées par les systèmes hygroboutons entre 9h et 17h.....	181
Figure 55: Variations de diamètre (µm) des tronc mesurées à l'aide de système PépiPIAF en Livradois Forez (2021-2022) et en Limousin (2022) de janvier à mars.	183
Figure 56: indices issus de l'analyse des variations de diamètre par le système PépiPIAF du Livradois Forez et du Limousin.....	185

Figure 57 : variations de diamètre Livradois – Forez à partir du 1^{er} janvier 2021 jusqu’au 1^{er} mai 2021.
Parcelle Nord. N=5..... 191

Table des tableaux

Tableau 1: Liste des variables climatiques quotidiennes (CodeC, NomC, UnitéC) et celles caractéristiques de la maille (CodeM, NomM, UnitéM).	56
Tableau 2: Contraction du diamètre (ACM) en fonction des différentes valeurs de potentiels hydriques.....	106
Tableau 3 : Estimation des principaux paramètres extraits de CV des divers organes du jeune Douglas: Apex, Milieu tronc, Collet, Rameau inférieur, Rameau supérieur, Racine. Moyenne \pm SE. P12, P50 et P88 calculés pour chaque organe de l'arbre.	110
Tableau 4: conversion de la variable qualitative « exposition » en variable quantitative « azimut »..	124
Tableau 5: Caractéristiques des plantations atteintes par le rougissement dans différentes régions. Données issues de la base de données DSF.....	127
Tableau 6: Contribution, position et corrélation des variables par rapport à la dimension 1	132
Tableau 7 : Effet de l'altitude, de l'âge, de la densité de plantation et de l'exposition sur la sévérité du rougissement.....	139
Tableau 8 : Principales caractéristiques des quatre parcelles choisies.	168

Table des annexes

Figure sup 1 : Reddening stand locations in France between 1989 and 2019.....	207
Figure sup 2 : Fiche d'observation type des correspondants- observateurs du Département de la Santé des Forêts.....	208
Figure Sup 3: Impact of soil temperatures on stomatal conductance and deduced roots uptake.	210
Figure Sup 4 : Effect of cold soil temperatures ($T_{soil} = 2^{\circ}C$) on normalized stem diameter. Data measured with dendrometers.....	211
Figure Sup 5 : Relative extractible water (REW) and Vapour-pressure deficit (VPD) in the greenhouse during the experimentation. Control (green), Cold Soil (blue), Cold Soil + High light (orange)	212
Figure Sup 6 : Effect of cold soil temperatures or/and high light intensity on F_v/F_m of Douglas fir during the experimentation.	212
Figure Sup 7 : Effect of cold soil temperatures or/and high light intensity on the primary growth. ...	213
Figure Sup 8 : Effect of the treatment on secondary growth resumption, on secondary growth and phenological stage on day 45, and on length of terminal shoot	214
Figure Sup 9 : Effect of the treatment on secondary growth resumption, on starch soluble carbohydrates on days 14, 31 and 45.....	214
Figure Sup 10 : Effect of cold soil temperatures or/and high light intensity on soluble carbohydrates content in Douglas-fir needles.....	215
Figure Sup 11 : Effect of cold soil temperatures or/and high light intensity on soluble carbohydrates content in Douglas-fir needles.....	216
Figure Sup 12 : Evolution de la conductance stomatique en fonction du potentiel hydrique	217
Figure Sup 13 : Etude de la température de l'air et du sol 2023 dans le LF de décembre à janvier. ..	218
Figure Sup 14 : Mesure de la résistance au gel dans les aiguilles et les rameaux de l'année pendant l'hiver 2020-2021 sur les douglas de la plate-forme de l'INRAe.....	218
Figure Sup 15 : Mesure des variations de diamètre au mois de décembre 2022 dans le LF.....	219
Figure Sup 16 : Zones de risque de rougissement sur la France entière (A) en orange (risque très élevé) et en bleu foncé (pas de risque). B : zones de risque limitées aux zones ayant des plantations.....	219

Sommaire

Remerciements.....	2
Table des figures.....	6
Table des Tableaux.....	10
Table des Annexes.....	11

Introduction Générale

I. Le Douglas, une essence exotique.....	19
A. Le Douglas dans son aire d'origine.....	19
B. Le Douglas en Europe, puis en France.....	20
C. Entre écologie et économie, une position délicate.....	22
II. Le Douglas face au facteurs biotiques et abiotiques en Europe.....	23
A. Facteurs biotiques et rougissement de l'aiguille.....	23
B. Facteurs abiotiques et rougissement de l'aiguille.....	25
a. Impact des sécheresses estivales sur les populations de Douglas.....	25
b. Rougissement hivernal du Douglas.....	26
III. Objectifs de la thèse.....	28

Partie I: Potential mechanisms leading to winter reddening of young Douglas-fir in Europe

<i>Introduction</i>	33
I. Symptoms of winter reddening.....	34
II. Factors affecting the risk of winter reddening.....	36
A. Climatic hazard.....	36
B. Exposure.....	37
C. Vulnerability.....	38
III. Putative physiological background of winter reddening.....	39
A. Winter hydraulic failure.....	39
B. Photo-oxidative stress.....	42
C. Early cold deacclimation.....	45
<i>Conclusion facing winter reddening</i>	49
Conclusion générale.....	50

Partie II : Analyse bioclimatique du rougissement hivernal depuis 1989

<i>Introduction</i>	54
I. Matériels & méthodes.....	55

A. Bases de données utilisées.....	55
B. Analyse statistique.....	57
II. Résultats de l'analyse climatique	59
III. Discussion	62
Conclusion.....	66
 <i>Partie III - Chapitre 1 : Heads warm, feet cold: The role of cold soil counterbalanced by light in the resumption of Douglas-fir growth</i>	
<i>Introduction</i>	71
Résumé.....	72
<i>Abstract</i>	73
I. Introduction	74
II. Material and methods	76
III. Results	81
A. Experimental treatments.....	81
B. Cold soil impairs the water status of the Douglas-fir	82
C. Cold soil does not induce photodamages	85
D. Cold soil delays stem primary and secondary growth by impacting NSC and Anet dynamic ..	86
E. A_{net} and needle NSC measurement	88
IV. Discussion	90
A. Cold soil-induced water stress.....	90
B. Impact of low soil temperatures on growth.....	91
C. High light compensates the effect of cold soil on growth dynamic	93
V. Conclusion:.....	96
<i>Conclusion générale</i>	117
 <i>Chapitre 2 : Etude physiologique du rougissement estival édaphique</i>	
<i>Introduction</i>	100
I. Matériels et méthodes.....	101
II. Résultats & discussion.....	104
A. Réponse physiologique du Douglas à un arrêt d'irrigation	104
B. Etude de la propagation de l'embolie au sein d'un jeune Douglas lors d'une sécheresse édaphique	109
<i>Conclusion, limites et perspectives</i>	117

Partie IV - Chapitre 1 : Etude de l'influence des facteurs stationnels influençant le rougissement

<i>Introduction</i>	122
I. Matériels et méthodes.....	123
A. Création d'une base de données sur un relevé de parcelles rougissantes et non rougissantes	123
B. Analyse en composantes principales du rougissement.....	124
C. Etude de la base de données du DSF.....	125
II. Résultats/ Discussion.....	126
A. Etude de la spatialité/ intensité du phénomène de rougissement entre 2008, 2014 et 2022....	126
B. Etude la base de données sur les annotations de parcelles rougissantes réalisée pendant ma thèse.....	129
C. Etude détaillée des variables composant l'axe 1	133
III. Etude de l'impact des autres variables sur l'intensité de rougissement.....	139
IV. Synthèse : Portrait-robot d'une parcelle rouge et verte	140
<i>Conclusion</i>	142

Chapitre 2 : caractérisation de la physiologie d'un Douglas sujet au rougissement

<i>Introduction</i>	144
I. Matériels & méthodes :	145
II. Résultats & discussion :	147
A. Ordre visuel de l'apparition des symptômes du rougissement hivernal	147
B. Analyse des aiguilles prélevées sur le terrain.....	149
a. Apparition de dommages cellulaires sur les aiguilles rougissantes.....	149
b. Epuisement de l'amidon dans les aiguilles rougissantes	151
c. Le rougissement est associé à une déshydratation de l'aiguille et à une forte embolisation des rameaux	153
d. Propagation basipète de l'embolie lors du rougissement hivernal	154
C. Rougissement hivernal vs. Rougissement estival	157
a. Est-ce qu'un arbre rougissant présente une plus grande vulnérabilité à la cavitation ?	158
b. Est qu'un rougissement hivernal induit plus de dommages cellulaires qu'une sécheresse édaphique estivale ?.....	160
c. Est qu'un rougissement hivernal induit une déshydratation accrue du Douglas (via l'humidité pondérale) par rapport à une sécheresse estivale?	161
d. Propagation de l'embolie lors d'un rougissement estival.....	162
e. Synthèse des résultats.....	164
<i>Conclusion</i>	142

Chapitre 3: caractérisation de la physiologie du jeune Douglas pendant les hivers 2021-2022

<i>Intoduction</i>	142
I. Matériel & Méthode	168
A. Choix des parcelles de Douglas.....	168
B. Installation des capteurs et synthèse des informations observables	168
C. Méthodologie d'étude des cinétiques de variations de diamètre	170
a. Détection de la transpiration journalière et calcul des indices de transpiration.....	171
b. Détection et caractérisation des cycles gel-dégel	174
II. Résultats et discussion.....	178
A. Etude des conditions climatiques hivernales entre 2021 et 2022	178
a. Etude des températures de l'air	178
b. Etude de l'humidité relative de l'air en LF.....	181
B. Analyse des variations de diamètre et comparaison de la physiologie hivernale des Douglas entre 2021 et 2022	182
a. Cinétiques des variations de diamètre entre l'hiver 2021 et 2022	182
b. Analyse des indices issus des variations de diamètre.....	184
c. Discussion sur les désordres physiologiques pouvant induire le rougissement hivernal en LF	186
d. Avril 2021 ; discussion sur les gels printaniers sur des arbres désacclimatés	190
<i>Conclusion</i>	142

Conclusion générale - Perspectives

I. Rappel des trois hypothèses (Partie I)	195
II. Apport du travail réalisé dans la validation de ces trois hypothèses	196
1. Invalidation des hypothèses 2 et 3.....	196
2. Discussion autour de l'hypothèse 1	197
a. Etude de la sécheresse hivernale <i>stricto sensu</i> : une contrainte hydrique modérée.....	197
b. Etude de la sécheresse hivernale <i>lato sensu</i> et du rougissement hivernal dans le LF 2022	198
III. La thèse dans le projet Doux-glace et dans un contexte forestier.....	202
Annexes.....	204
Références.....	219
Abstract.....	234

Liste des abréviations

ACM : Amplitude de Contraction Maximale

ACP : Analyse en Composants Principales

A_{net} : Assimilation carbonnée

C1 Initial conductivity of the effusate : conductivité initiale

C2 Maximal conductivity of the effusate : conductivity finale

Control : traitement arbres témoins

CS Cold Soil treatment : traitement sol froid

CSHL Cold Soil High Light treatment : traitement sol froid et intensité lumineuse élevée

DOY day-of-year : jour de l'année

DSF : Département de la Santé des Forêts

dT : Amplitude thermique

EL: fuite d'électrolytes (Electrolyte leakage)

EL50 : teneur en eau relative à laquelle 50 % des dommages cellulaires sont observés

es : erreur standard

Fv/Fm : Fluorescence chlorophyllienne

GDD : temps thermique (growing degrees-days)

GR : Taux de croissance (Growth Rate)

gs : conductance stomatique (stomatal conductance)

HP : Humidité pondérale

LVDT : Linear Variable Differential Transformer

MDS : Contraction maximale de diamètre (Maximal Diameter Shrinkage)

NLS: régression non linéaire (Non-Linear Regression)

NSC : glucides non structuraux (Non-Structural Carbohydrates)

ONF : Office Nationale des Forêts

PAR : Rayonnement photosynthétiquement actif (Photosynthetically active radiation)

P12 : Tension du xylème induisant une perte de 12 % de la conductance hydraulique

P50 : Tension du xylème induisant une perte de 50 % de la conductance hydraulique

P88 : Tension du xylème induisant une perte de 80 % de la conductance hydraulique

PET : Evapotranspiration (Potential Evapotranspiration)

PLC : Pourcentage de perte de conductivité hydraulique (Percentage Loss of hydraulic Conductance)

PLD : Pourcentage de perte de diamètre (Percentage Loss of Stem Diameter)

PPFD : densité de flux photonique photosynthétique

PSII : photosystème II

PSI : photosystème I

Rad rayonnement : intensité lumineuse

REW : Relative Extractible Water

RH : Humidité Relative (Relative Humidité)

ROS : espèces réactives de l'oxygène (Reactive Oxygen Species)

se: standard error

SE : Sécheresse Estivale

SH : Sécheresse Hivernale

SH : hauteur de neige (Snow Height)

SI : incrément de diamètre quotidien (Stem Increment)

SPO : Stress photo-oxydatif

TE : Tissus élastiques

Tmax : Température maximale

Tmean : Température moyenne

Tmin : Température minimale

VPD : Vapor Pressure Deficit

WS : vitesse du vent (wind speed)

Ψ : Potentiel hydrique minimum de pousse

Ψ_{close} : Potentiel hydrique au niveau de la fermeture stomatique

Ψ_{xylem} : Potentiel hydrique du xylème

Introduction

“Comment savez-vous que je suis folle ? ” demanda Alice.

“Il faut croire que vous l’êtes, répondit le Chat ; sinon, vous ne seriez pas venue ici. ”

Lewis Carroll



I. Le Douglas, une essence exotique

A. Le Douglas dans son aire d'origine

Le Douglas (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) est un conifère originaire de la côte Ouest de l'Amérique du Nord. Du fait de son originalité physiologique, sa place dans la classification et donc son nom, a soulevé de nombreuses discussions jusqu'au milieu du XX^{ème}. D'abord classé sous le genre *Pinus* en 1803, puis *Abies* en 1804, il devient un *Tsuga* en 1855 pour obtenir son propre genre en 1867 : *Pseudotsuga*. Son nom scientifique, *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco, n'a été fixé définitivement qu'en 1950 dans l'article du botaniste portugais Joao Manuel Antonio Paes do Amaral Franco. Le nom d'espèce de *menziesii* a été donné en hommage à Archibald Menzies, qui l'a découvert en 1792. Ainsi, il fait partie de la famille des *Pinacées* et du genre *Pseudotsuga*, caractérisée par deux sous espèces : la variété côtière ou le Douglas vert (*Pseudotsuga menziesii* ssp. *menziesii*) et la variété intérieure, également appelé le Douglas des montagnes Rocheuses ou Douglas bleu (*Pseudotsuga menziesii* ssp. *glauca*)

L'aire d'origine du Douglas s'étend sur plus de 3400 km du Sud au Nord (latitude de 19° à 55° N), ce qui en fait la plus grande répartition latitudinale de tous les conifères de l'Ouest de l'Amérique du Nord (Nicolescu et al. 2023). Il s'étend également sur plus de 1600 km d'Est en Ouest, couvrant 14,3 millions d'hectares aux États-Unis et 4,5 millions d'hectares au Canada (Hermann et Lavender 1999; Fletcher et Samuel 2010). Le Douglas s'étend de la Colombie Britannique au Canada, de la Californie aux États-Unis pour sa variété côtière et de la Colombie Britannique jusqu'en Arizona pour sa variété intérieure. Une zone d'introgression naturelle se situe dans la partie Nord de l'aire de répartition en Colombie Britannique. Dans sa partie septentrionale, la distribution du Douglas est continue tandis que dans sa partie méridionale, sa répartition est plus éparse (Bastien et al. 2013; Figure 1).

Etant donné la très grande étendue de son aire naturelle, le Douglas est présent dans une gamme de condition environnementale très variée (climatiques, stationnelles, pédologiques *etc.*). En effet, on retrouve des Douglas du niveau de mer jusqu'à plus de 3300 mètres d'altitude (dans les Rocheuses), ainsi que sous des pluviométries annuelles comprises entre 350 mm et 3250 mm (Bastien et al. 2013).

Aujourd'hui, le Douglas représente environ 12,8 % du volume total de bois sur pied aux États-Unis (<http://www.fia.fs.fed.us>). Le bois de Douglas séduit en raison de sa forte résistance mécanique, de sa durabilité et de son imputrescibilité naturelle. En termes de volume par hectare, le Douglas est le conifère le plus productif aux États-Unis, avec environ 34,6 millions d'hectares de Douglas cultivés principalement dans les peuplements naturels aux États-Unis et au Canada (<http://www2.wvpa.org/WESTERNSPECIES/DouglasFir/tabid/405/default.aspx>).

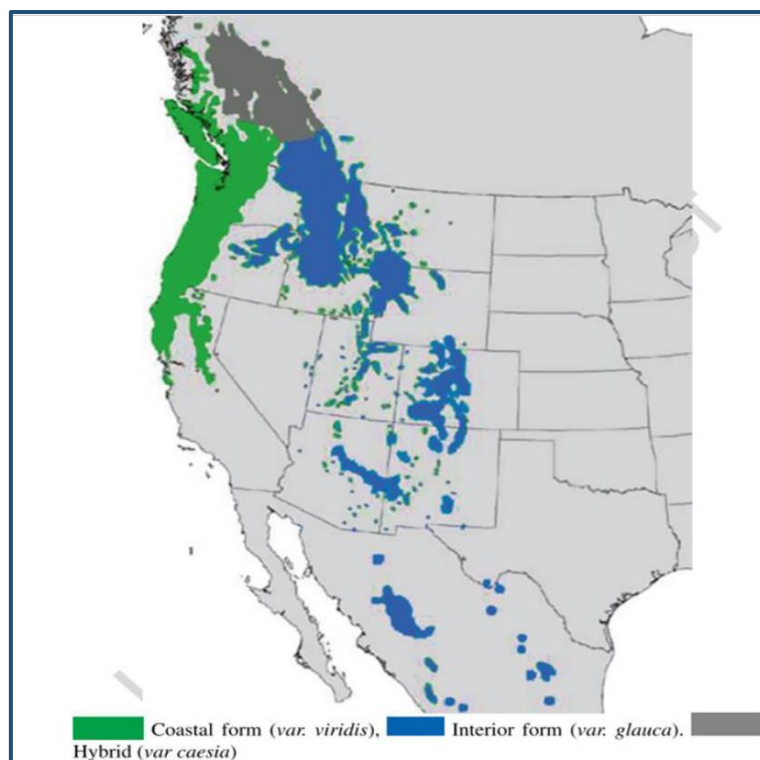


Figure 1: Aire de répartition naturelle du Douglas vert (vert), du Douglas bleu (bleu) et de l'hybride (gris foncé) sur la côte ouest des Etats Unis. Source : Bastien et al., (2013).

B. Le Douglas en Europe, puis en France

Les premières introductions de Douglas en Europe ont commencé au début du XIX^{ème} siècle par David Douglas au Royaume-Uni et par le Comte de Sablons en France. Initialement, les Douglas avaient été importés principalement dans un but ornemental - comme à Scone Palace dans le Perthshire, en Écosse ou en France dans le Beaujolais (Haralamb 1967 ; <https://www.beujolaisvert.com/prestataire/les-plus-beaux-Douglas-deurope-a-claveisolles-73437-151439/>) -, mais rapidement les premières exploitations forestières commencent à voir le jour. Si le Douglas reste une espèce marginale dans le paysage forestier européen, il faudra attendre l'après-guerre *i.e.* 1945, pour que l'essence séduise les forestiers et soit utilisée pour la reforestation avec, notamment l'aide de subventions forestières régionales ou nationales (Fond Forestier National ; Bastien et al. 2013; Spiecker 2019).

Actuellement présent dans 35 pays européens et planté sur 0,83 million d'hectares, le Douglas est la deuxième essence exotique la plus répandue en Europe, derrière le pin maritime (van Loo 2020). En Europe occidentale, quatre-vingts pour cent de ces plantations ont été établies dans trois pays : la France (53%), l'Allemagne et le Royaume-Uni (da Ronch et al. 2016). En France, la superficie de plantations de Douglas était d'environ 4 000 ha en 1937 (Haralamb 1967), 220 000 ha en 1984 (Bouchon 1984,

Hermann et Lavender 1999), 330 000 ha en 1993 (Bastien 1998), pour finir à 411 000 ± 31 000 ha aujourd'hui (<https://inventaire-forestier.ign.fr>).

Seul le Douglas vert est exploité en France. À la suite des nombreux test réalisés, on a pu s'apercevoir qu'il présente une meilleure croissance que le bleu sous nos conditions climatiques ainsi qu'une meilleure résistance au gel (Bastien et al. 2013). De plus, le Douglas bleu est très sensible à *Rhabdocline pseudotsugae* Sydow, un champignon endémique de son aire d'origine dont la virulence s'est accrue avec l'humidité importante de nos régions, pendant la saison de végétation (Boyce 1954). Ainsi, cette étude ne concernera uniquement le Douglas vert (*var menziesii*).

En France, on le retrouve à des altitudes inférieures à 1100 m (sauf dans les Pyrénées et en Corse où il pourrait atteindre 1400 m). Le Douglas préfère les sols profonds et bien drainés, il est assez exigeant en terme d'eau et a besoin d'un taux de précipitations annuelles supérieur à 700 mm, avec des précipitations estivales supérieures à 200 mm (Nicolescu 2020). Ces exigences écologiques sont compatibles avec un grand nombre de contextes environnementaux français. Ainsi, il a pu être introduit sur une grande partie du territoire métropolitain français avec une plus forte concentration (67% ; Angelier 2007) dans le "Grand Massif Central», c'est-à-dire le Limousin, l'Auvergne, le sud-Bourgogne, le Nord-Est-Midi-Pyrénées et l'Ouest Rhône-Alpes. Il est également présent dans d'autres régions à savoir la Normandie, la Bretagne, les Vosges, l'Alsace et le piémont Pyrénéen (Figure 2). Il représente un volume d'environ 123 millions de m³ de bois sur pied. Sa niche écologique en France est cependant bien différente de celle de son aire d'origine (*cf.* I.A – Introduction).

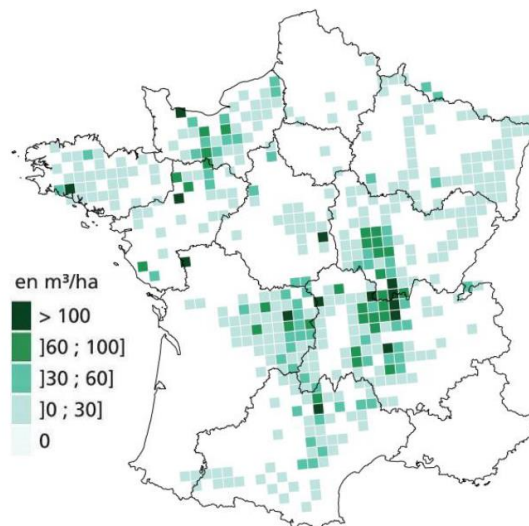


Figure 2: Volume sur pied de Douglas vert en France, en m³/ha (IGN 2013-2017)

C. Entre écologie et économie, une position délicate

S'il a été planté massivement en France dès la fin du XX^e siècle, le Douglas pourrait bien devenir dans 20 ans la première essence résineuse récoltée de France. Le volume de prélèvement a dépassé en 2017, les deux millions de m³ et les projections montrent qu'il pourrait atteindre 6 millions en 2030, soit le volume de sapin-épicéa actuellement récolté (édition octobre 2018 – revue de la Fédération de propriétaires forestiers ; Chaumet 2016). Si le bois de Douglas séduit l'industrie du bois pour sa résistance mécanique, sa jolie couleur rose saumon et son duramen imputrescible ; l'essence, elle, conquiert les forestiers pour sa croissance rapide, sa forte productivité ainsi que sa facilité d'adaptation à de nombreux contextes géographiques. Les peuplements purs présentent une forte productivité (jusqu'à 20 m³ ha⁻¹an⁻¹) et une production élevée (plus de 1000 m³ ha⁻¹). Ainsi, le Douglas est devenu une essence d'intérêt économique majeur en France avec 13 millions de plants produits annuellement. De plus, il est aussi aujourd'hui la seconde essence de reboisement en France, derrière le pin maritime (ministère de l'Agriculture 2021/2022 ; <https://agriculture.gouv.fr/statistiques-annuelles-sur-les-ventes-de-graines-et-plants-forestiers>).

Comme d'autres résineux, sa monoculture se heurte à de nombreuses résistances, qui dénoncent les coupes rases et réclament le retour des feuillus (*cf.* film *le Temps des forêts* : « Les monocultures de forêts créent un désert biologique, parce qu'il n'y a pas d'arbre mort, il n'y a pas d'arbre naissant. Il faut imaginer que ce sont des arbres qui ont tous le même âge, la même hauteur et que l'on va ensuite faucher au même moment » Gaspard d'Allens). Ainsi, dans un souci de création d'un écosystème plus résilient, limitant la monoculture, un intérêt croissant se développe pour la culture du Douglas en mélange. Aujourd'hui, les mélanges Hêtre – Douglas sont considérés comme particulièrement intéressants (Thomas et al. 2015; Thurm et al. 2016). En effet, le Douglas présenterait une sensibilité moindre aux aléas climatiques avec, par exemple un raccourcissement du temps de récupération de la croissance suite à un stress hydrique (Thurm et al. 2016). De plus, la productivité des peuplements d'Hêtres – Douglas montrent une productivité plus élevée par rapport aux performances des espèces en peuplements purs (Thurm et Pretzsch 2016; Lu et al. 2018), avec une part allant jusqu'à 33% pour les Douglas (Thomas et al. 2015). Un autre mélange réussi serait le mixte Epicéa - Douglas avec 30% Douglas. Un compromis qui pourrait offrir une adaptabilité environnementale et sociale tout en participant au maintien de la productivité des sites actuels d'épicéa de Norvège (Fuchs et al. 2022).

France-Douglas souligne que, par ses multiples qualités, le Douglas est une essence d'avenir du paysage sylvicole français. Nicolescu et al. (2023) insiste le fait que le Douglas pourrait être une alternative pertinente à l'épicéa (*Picea abies*) ou à d'autres conifères endémiques, ayant une sensibilité plus faible à la sécheresse. Ainsi, le Douglas ne semble pas encore avoir dit son dernier mot et laisse présager une augmentation de son importance sylvicole en Europe à l'avenir.

II. Le Douglas face au facteurs biotiques et abiotiques en Europe

Comme vu précédemment, le Douglas est une essence exotique c'est-à-dire, introduite en Europe. De ce fait, il est confronté à un cortège de ravageurs et pathogènes européens mais aussi à une variabilité de conditions climatiques, auxquelles il pourrait présenter une certaine vulnérabilité. Lorsque le Douglas est soumis à un agent biotique ou à un aléa abiotique, les dommages visuels sont généralement marqués sur l'aiguille. Aiguilles qui peuvent changer de couleur c'est-à-dire, devenir jaune, orange, rouge ou brune ou bien encore se décrocher du rameau.

A. Facteurs biotiques et rougissement de l'aiguille

Jusqu'à présent, le Douglas semblait relativement épargné par les facteurs biotiques, du fait de son statut d'espèce exotique introduite sans son cortège d'infection et de bioagresseurs endémiques. Cependant, deux maladies, le dépérissement des aiguilles causé par *Rhabdocline pseudotsugae* Sydow, et la maladie des aiguilles suisses causée par *Phaeocryptopus gaeumannii* (Rohde) Petr., sont devenues une menace pour les peuplements de Douglas d'Europe centrale (Samek et al. 2019). En République Tchèque, des infections de Douglas causées par ces deux agents ont été enregistrées pour la première fois en 2012 et confirmées en 2015 avec un taux d'infection et de dépérissement des aiguilles variables en fonction des provenances.

Rhabdocline pseudotsugae a été noté pour la première fois en Ecosse en 1922 et aujourd'hui, sa présence est confirmée dans 14 pays d'Europe (Samek et al. 2019). Son cycle de développement est d'une année. Les premiers signes d'attaque sont des taches vert pâle, qui prennent une teinte orange à la fin de l'automne et brun-violet en hiver. Des corps fructifères se forment sur la face inférieure des aiguilles en avril et mûrissent de mai à juillet. L'infection se propage d'abord aux aiguilles de l'année, entraînant souvent leur perte totale, avant d'affecter les aiguilles plus anciennes (Samek et al. 2019 ; Figure 3B). Le Douglas vert y est peu sensible, à la différence du Douglas bleu.

La rouille suisse des aiguilles causée par *Phaeocryptopus gaeumannii* a été documentée pour la première fois en 1925 sur des Douglas âgés de 20 ans en Suisse et en Allemagne (Łakomy et Iwańczuk, 2010). L'agent fongique bloque les stomates, en produisant des corps de fructification, et réduit l'assimilation du CO₂ (Manter et al. 2000). La défoliation est proportionnelle au nombre de stomates obstrués par le champignon, les aiguilles chutant lorsque plus de 50 % des stomates ne sont plus fonctionnels. Les symptômes apparaissent généralement sur les aiguilles âgées d'un à trois ans. Les aiguilles les plus anciennes deviennent d'abord jaune-vert, chlorotiques, puis tachetées ou entièrement brunâtres avant de tomber (Figure 3A). La hauteur et la croissance en diamètre des arbres ainsi que le volume total des arbres sont affectés (Maguire et al. 2002; E. M. Hansen et al. 2000), avec une réduction de la croissance significativement corrélée avec le degré de défoliation. Les infections permanentes et graves des peuplements entraînent une réduction du volume des arbres de 52 % (Maguire et al. 2002) et

de la croissance en diamètre de 85 % (Black et al. 2010), respectivement. Łakomy et Iwańczuk, (2010) montre que la maladie, bien qu'encore peu présente, pourrait localement influencer les conditions de santé des arbres avec des taux de défoliation très importants, affectant jusqu'à 90% de Douglas des plantations.



Figure 3: Rougissement de l'aiguille dû à des agents fongiques. A: *Phaeocryptopus gaeumannii* et B: *Rhabdocline pseudotsugae* – photo crédit © Waldschutz Schweiz (WSL)

Le Douglas serait aussi sensible, dans une moindre proportion, à d'autres agents pathogènes comme le fomès – *Heterobasidion annosum*. Ce champignon colonise les racines et entraîne leur dégradation, avant de remonter vers le haut du houppier. Sur Douglas, les cas de mortalités sont souvent liés à un affaiblissement préalable des arbres touchés. La dégradation des systèmes racinaires pourrait être à l'origine de défauts d'ancrage, voire de plus forte sensibilité aux épisodes de sécheresses marquantes, ou bien au phénomène de « verse » suite à une épisode de fort vent. On pourrait donc supposer qu'après avoir subi un fort stress abiotique (épisode sécheresse de 2003), les Douglas seraient plus sensibles aux attaques du fomès et d'autres pathogènes comme l'armillaire – *Armillaria ostoyae* (Mathieu et al. 2016).

Ici, il ne s'agissait pas de faire une liste non exhaustive de tout le cortège de ravageurs susceptibles d'entraîner la décoloration de l'aiguille comme les cécidomyies des aiguilles du Douglas (*C. pseudotsugae*, *C. cuniculator* et *C. constricta*) ou le chermès du Douglas (*Gilletteella cooleyi*), mais de souligner qu'un rougissement de l'aiguille pouvait avoir une origine biotique.

Avec le changement climatique, l'intérêt de remplacer en Europe, l'Epicéa par le Douglas augmente. Cependant, à mesure que la superficie des forêts de Douglas croît, la connectivité entre les peuplements augmente également, tout comme le risque d'attaque par des pathogènes. Le risque posé par la rouille suisse des aiguilles et par la rhabdocline, aux peuplements de Douglas en Europe centrale, est susceptible d'augmenter dans les années à venir.

B. Facteurs abiotiques et rougissement de l'aiguille

Si de nombreux aléas peuvent induire un dépérissement forestier (gel, pollution atmosphérique, pollution du sol, insectes nuisibles, pathogènes...), de nombreuses études ont démontrées que, lors de ces dernières décennies, la sécheresse était le principal facteur déclenchant des dépérissements observés (Allen et al. 2010; Anderegg et al. 2015). Dans le cas des conifères et surtout du Douglas, un stress printanier induisant un rougissement du houppier, a été noté.

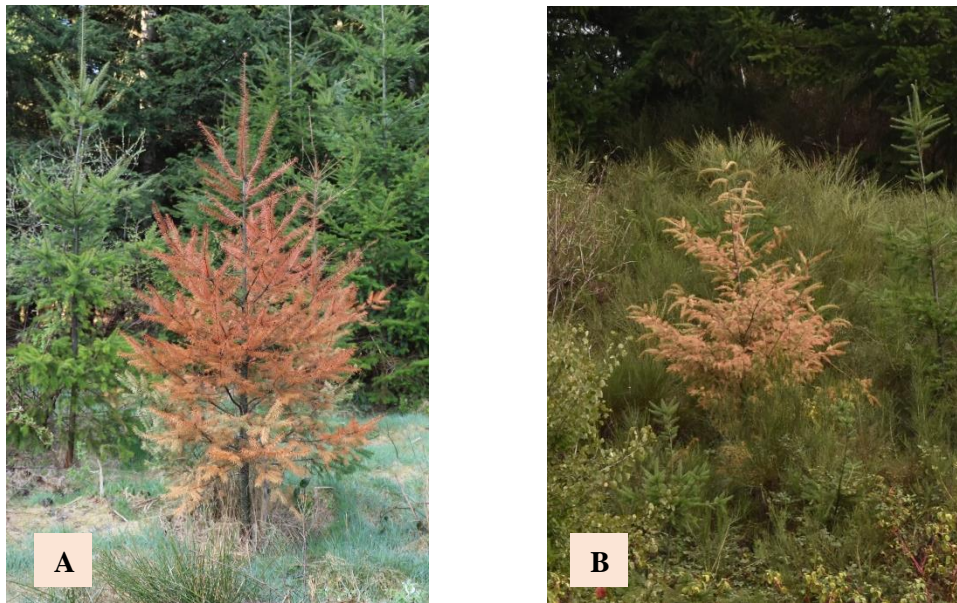


Figure 4: Deux types de rougissement physiologique. A : Douglas en rougissement hivernal. B : Douglas en condition de sécheresse estivale

a. Impact des sécheresses estivales sur les populations de Douglas

En foresterie, on qualifie une sécheresse « d'extrême » si elle induit des dysfonctionnements durables et visibles (Bréda et Badeau 2008). A travers le mot sécheresse, nous retiendrons le concept de « sécheresse édaphique », *i.e.* lorsque l'eau disponible pour l'arbre ne lui permet plus d'assurer son fonctionnement optimal imposé par la demande climatique : on parle de déficit hydrique du sol. De nombreux événements ont été recensés avec une nette augmentation de leur fréquence depuis le début du XXI^{ème} : 1976, 1989, 1990, 1996, 2003, 2005, 2011, 2015, 2017, 2018, 2019, 2021, 2022 - source : Météo France - (Pachauri et al. 2015). Chez les arbres forestiers, les sécheresses peuvent provoquer des dépérissements, définis par une dégradation générale du fonctionnement de l'arbre pouvant entraîner la mort (Manion 1981).

En France, l'été 2003, caractérisé par une sécheresse extrême et des températures caniculaire, a été marqué par des forts symptômes de sécheresse (rougissement et perte des aiguilles, défoliation et descente de cime ; DSF 2004 ; Figure 4B) sur les peuplements de Douglas en fin de saison estivale. A ses symptômes visuels, se sont ajoutés une diminution de la croissance radiale dans l'année de

l'événement extrême mais aussi dans les années suivantes. Girard (2009) note que le Douglas était l'essence la plus impactée avec une perte moyenne de 23.8% de la croissance, l'année du stress extrême.

L'étude des Douglas face à la sécheresse a été réalisée dans le cadre de plusieurs travaux de thèse :

- 2019: Thibault Chauvin qui a travaillé sur le potentiel d'adaptation du Douglas dans les plantations françaises. L'objectif principal a été d'explorer ce potentiel d'adaptation à la sécheresse en se basant sur l'étude de la résistance à la cavitation, tout en comparant les différentes provenances du Douglas.
- 2011: Anne-Sophie Sergent qui a étudié l'intensité du dépérissement du Douglas en France suite à l'été 2003, en cherchant à caractériser l'aléa estival 2003 sous le prisme de la sécheresse et des facteurs de vulnérabilité impliqués dans le dépérissement. L'étude de la variabilité entre provenances dans la réponse de la croissance aux sécheresses a été réalisé.

b. Rougissement hivernal du Douglas

Les premières mentions de rougissement hivernal sur conifères ont été notées dès le début du XX^{ième} dans les forêts du Montana (Hedgcock 1912). Au printemps 2012, 250 000 hectares de forêt dans le nord-ouest de l'Ontario ont été touchés par du rougissement hivernal, dont 190 000 hectares ont été gravement endommagés, c'est-à-dire que 25 % à 100 % des arbres ont été touchés (Man et al. 2013).

En France, la fréquence des épisodes de rougissement hivernal a augmenté considérablement depuis les années 1980, avec 13 observations rapportées au cours des trois dernières décennies : en 1989, 1991, 1998, 2002, 2003, 2005, 2007, **2008**, 2009, 2011, **2014**, 2017 et **2022** (données DSF, en gras les épisodes de rougissement d'ampleur au moins moyenne, les autres années étant caractérisées par des observations de rougissement faibles et très localisées). Néanmoins, il n'y a pas de données disponibles en termes d'atteinte spatiale.

Le rougissement hivernal est caractérisé par un rougissement de l'aiguille visible dès la fin de l'hiver – début du printemps, chez les jeunes conifères (≤ 12 ans). Le rougissement du Douglas s'initie au niveau des verticilles de la couronne pour se propager vers la base de l'arbre et depuis l'apex jusqu'à la base de la branche. Les arbres symptomatiques *i.e.* au moins partiellement rouges, dépérissent souvent au cours de l'année. Les arbres, ayant rougi à des taux de rougissement $< 50\%$, présentent un net retard de croissance, retardant le moment de fermeture de la canopée, augmentant l'exposition du peuplement aux facteurs de stress climatique tout en diminuant la densité du peuplement forestier (Kåre Venn 1993). Ce phénomène diffère des dommages gélifs, et du brunissement des rameaux induit par des épisodes de faux-printemps (Man et al. 2021), ou bien du « red-belt » bien connu dans les Rocheuses (Flowers, 2009 ; Jalkanen, 1993 ; Kåre Venn, 1993).

La sensibilité au rougissement est accrue dans les zones de moyennes montagnes et est associée à des conditions climatiques hivernales particulières dites « anticycloniques », c'est-à-dire des amplitudes thermiques élevées, des températures diurnes douces et des températures nocturnes gélives (Malmqvist et al., 2018 ; Goudet et Baubet, 2015). Le dernier hiver à rougissement en France a eu lieu au cours du printemps 2014, affectant principalement la zone du Massif Central. Ainsi, les départements du Puy-de-Dôme, de l'Allier et de la Loire ont été fortement affectés par le rougissement hivernal, avec des taux de dommage atteignant jusqu'à 60 % d'arbres par peuplements (base de données DSF).

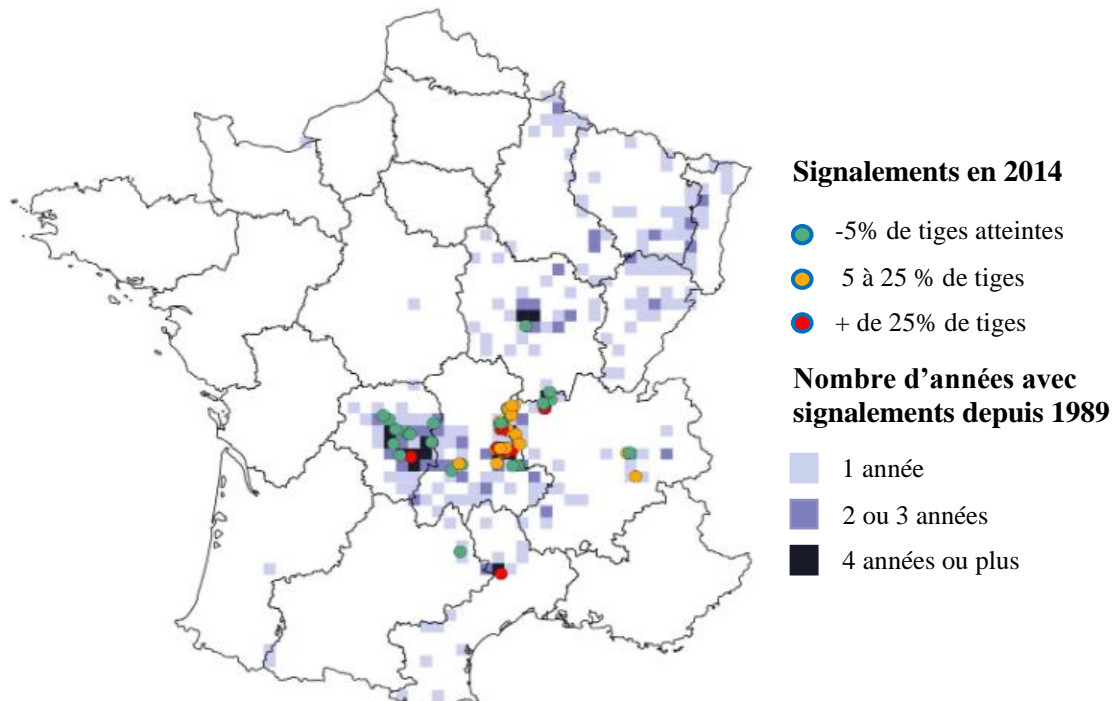


Figure 5: Carte issue du bilan de la santé de forêt en 2014 – Morgane Goudet & Olivier Baubet, 2015.

Cette thèse s'inscrit dans le cadre du projet Doux-glace, porté par le Pack Ambition Recherche Auvergne-Rhône-Alpes 2019-2024. Le projet est coordonné par l'INRAE, en partenariat avec différents acteurs de la filière (DRAAF, Département de Santé des Forêts, ONF, France Douglas, CRPF Auvergne Rhône Alpes et Fibois AuRA). Le projet « Doux-Glace : le Douglas, entre climat doux et formation de glace » a pour objectif de répondre aux interrogations des forestiers sur la durabilité de l'essence Douglas face à ce phénomène de rougissement hivernal. Les pertes potentielles d'exploitations liées au rougissement sont déjà fortes (retard d'exploitation) et des solutions doivent être trouvées pour rendre plus durable la production forestière dans la région Auvergne-Rhône-Alpes et plus largement dans l'aire d'installation du Douglas. Les retombées de ce projet seront donc tant d'ordre scientifique qu'économique pour la filière. A l'issue de ce projet, un corpus de connaissances sur la physiologie du Douglas devrait être mobilisable pour limiter et appréhender au mieux le phénomène de « rougissement » en permettant de mieux adapter l'itinéraire technique au risque. Dans cette thèse, au cœur du projet « Doux-Glace », nous allons explorer le rougissement

hivernal du Douglas, par une approche mêlant observations des Douglasaies '*in natura*', et expérimentations en conditions contrôlées.

III. Objectifs de la thèse

Actuellement, le Douglas, première essence de reboisement en Auvergne-Rhône-Alpes, est sujette à un phénomène de rougissement des aiguilles, entraînant généralement la mortalité des jeunes arbres (âgés de 5 à 15 ans) lorsqu'ils sont atteints sur l'ensemble de leur houppier. Comme la majorité des plantations arrive en fin de rotation (40 – 50 ans) et que de nombreux échecs de plantations de Douglas ont été notés récemment (DSF), l'avenir du Douglas dans les régions montagneuses est au cœur de nombreuses inquiétudes. L'objectif de ma thèse est de contribuer à répondre à plusieurs interrogations tout en participant à combler le manque de connaissance concernant le rougissement hivernal :

- Quel est l'aléa climatique déclencheur du rougissement hivernal du Douglas ?
- Quel(s) est/sont le(s) mécanisme(s) physiologique(s) susceptible(s) d'induire le rougissement du jeune Douglas : une déconnexion hydraulique hivernale, un stress photo-oxydatif ou bien une désacclimatation précoce ?

Pour répondre à ces questions, plusieurs approches ont été développées dans 4 parties distinctes. Néanmoins, il convient de préciser que le cœur de ma thèse s'est articulé autour de la compréhension du mécanisme physiologique à l'origine dans rougissement. La compréhension de l'aléa a été une préoccupation mineure mais indispensable pour pouvoir aller vers une meilleure appréhension de ce phénomène.

Dans un premier temps, nous avons **identifié les lacunes actuelles de connaissances scientifiques** sur le rougissement hivernal via la rédaction d'un 'opinion paper' (Partie I). Les facteurs impliqués dans la genèse du rougissement hivernal ont été identifiés à l'aide d'une approche d'évaluation des risques (Bréda et Peiffer, 2014). Bien que certains facteurs abiotiques et liés aux Douglas aient été identifiés, nous avons proposé trois mécanismes non nécessairement exclusifs – un stress photo-oxydatif, une déconnexion hydraulique hivernale et/ou une désacclimatation précoce - qui pourrait induire le rougissement hivernal.

Afin de mieux **comprendre l'aléa climatique déclencheur du rougissement hivernal du Douglas, la partie II présente une analyse bioclimatique du rougissement** (réalisée d'après les travaux de Manon Duvauchelle, rapport de Master 2, UMR Piaf, année 2020 et de Guillaume Charrier). A l'aide des observations de rougissement hivernal du DSF et des données climatiques de 1989 à 2019, chaque site d'observation de rougissement a été associé à un point de donnée météorologique - soit 218 observations de rougissement. L'analyse bioclimatique s'appuie sur le calcul de z-score pour de nombreuses variables climatiques en comparant les années de rougissement, dites 'symptomatiques' aux

années sans rougissement, dites ‘asymptomatiques’. Cette analyse permet de se faire émerger 5 variables climatiques qui ensemble, pourraient induire un rougissement.

La **compréhension du mécanisme de rougissement hivernal du Douglas** a été approchée par deux prismes différents via : **la reproduction d’un rougissement en conditions contrôlées** (Partie III) et **le suivi de la biologie hivernale pendant plusieurs hivers consécutifs ‘in natura’** (Partie IV). La partie III s’articule autour du travail expérimental, réalisé en conditions contrôlées dans lequel les variables climatiques précédemment identifiées, ont été testées. Un effort important a été porté afin de reproduire un rougissement hivernal (pendant l’hiver 2021, 2022 et 2023 avec l’aide d’Elisabeth Ilinca – stage M2), via un conditionnement thermique différentiel entre le houppier et partie le système racinaire de jeune Douglas. Nous avons essayé d’induire une déconnexion hydraulique par un refroidissement localisé à la partie racinaire ($T_{sol} < 5^{\circ}\text{C}$) tout en maintenant l’évapo-transpiration ($T_{air} > 10^{\circ}\text{C}$) en conditions d’éclairement naturel mais aussi saturant pour tester l’hypothèse de stress photo-oxydatif.

L’étude des douglasaies nous a permis de caractériser le phénomène de rougissement hivernal à plusieurs échelles (de la parcelle à l’aiguille) ainsi qu’à diverses temporalités (de mesures ponctuelles aux mesures en continu). Dans un premier volet, nous avons étudié **les facteurs stationnels et sylvicoles impliqués dans la vulnérabilité au dépérissement du Douglas**, induite par les conditions climatiques hivernales. La caractérisation spatiale et temporelle du rougissement climatique au cours de la dernière décennie a été étudiée à partir des données de la base DSF (Chapitre 1 – Partie 4). Une attention particulière a été portée au rougissement 2022 via l’élaboration d’une base de données s’appuyant sur 62 observations de Douglasaies dans les zones à rougissement, afin de déterminer l’importance des facteurs stationnels et sylvicoles.

Une **approche physiologiste**, plus axée sur l’arbre en cours de dépérissement a été réalisée pour mieux **caractériser les symptômes du rougissement hivernal** (Chapitre II – Partie 4). Des jeunes Douglas ont été prélevés pour une campagne de mesures ponctuelles effectuées sur des arbres sains, en cours de rougissement et totalement rouge, dans la région de production la plus affectée par le rougissement *i.e.* Le Livradois-Forez (Chapitre II – Partie 4).

L’étude comparée d’un hiver asymptotique *i.e.* sans rougissement (2021) et d’un hiver symptomatique avec un rougissement de grande ampleur (2022) a permis de mieux caractériser l’aléa climatique ainsi que ses conséquences sur la physiologie hivernale du jeune Douglas *in natura*. La température et l’humidité de l’air ont été mesurées en continu pendant 2 hivers consécutifs et ont permis de confirmer les facteurs abiotiques induisant un rougissement. Les données issues de capteurs PépiPIAFs ont permis de suivre en dynamique la physiologie hivernale face à une contrainte environnementale forte (Chapitre III – Partie 4). Pour finir, une conclusion – discussion – perspectives brève autour des trois mécanismes susceptibles d’induire le rougissement conclura ce travail de thèse en synthétisant l’apport des différentes approches expérimentales.

Partie I

*Potential mechanisms leading to winter reddening
of young Douglas-fir in Europe*

“C’est étrange.

*On voit seulement l’extérieur des
gens, mais presque tout se passe à
l’intérieur “*

Charlie Mackesy



Potential mechanisms leading to winter reddening of young Douglas-fir in Europe.

Mahaut Van Rooij¹, Thierry Améglio¹, Olivier Baubet², Nathalie Bréda³, Guillaume Charrier¹

² Université Clermont Auvergne, INRAE, PIAF, 63000 Clermont-Ferrand, France

³ DRAAF AuRA, 63370 Lempdes, France

⁴ Université de Lorraine, AgroParisTech, INRAE, SILVA, 54000, Nancy, France

Key message: Winter reddening of young Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* Mirb. Franco), triggered by large thermal fluctuations in late winter, is a critical problem for European forestry. Anticyclonic periods render trees particularly vulnerable to this phenomenon. We highlight the gaps in the physiological knowledge of this phenomenon and propose three non-exclusive physiological mechanisms that may lead to reddening in plantations as well as mitigation actions.

Abstract:

Context: Winter reddening affects conifer trees, in late winter - early spring, and results in dieback or, in extreme cases, the death of trees. The reduction in growth is proportional to the visible damage (i.e. needle reddening). Depending on the location, Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* Mirb. Franco) plantations may be significantly impacted by this phenomenon. This raises concerns regarding the suitability of Douglas-fir as a planting species in the context of global change.

Aims: This paper aims to provide a synthesis of the limited understanding of this process and its physiological background to conclude with some mitigation techniques.

Conclusions: Winter reddening of Douglas-fir is observed during anticyclonic conditions in late winter, which are preceded and followed by periods of low temperatures. The succession of warm/dry and cold periods determines the vulnerability of trees to subsequent stress at cellular and hydraulic levels. Cold periods limit water uptake, reduce photosynthetic activity, and may result in tissue freezing, whereas warm periods increase transpiration and cold deacclimation. High light intensity, combined with low temperature and/or water stress, induces photooxidative stress. Finally, three hypotheses - hydraulic failure, photooxidative stress, and early cold deacclimation - can explain physiological reddening. These hypotheses are not mutually exclusive but can interact in the development of winter reddening.

Keywords: Cold deacclimation, freezing, hydraulic failure, photo-oxidative stress, *Pseudotsuga menziesii*, winter reddening.

Message clé : Le rougissement hivernal du Douglas (*Pseudotsuga menziesii* Mirb. Franco), déclenché par de fortes variations météorologiques en fin d'hiver, est un vrai problème pour la sylviculture européenne. Une succession de périodes chaudes et froides et/ou une période anticyclonique rend les arbres particulièrement vulnérables à ce phénomène. En se basant sur une revue de la littérature, nous soulignons les lacunes de connaissances sur le rougissement hivernal et proposons des mécanismes potentiels pouvant induire ce désordre physiologique.

Résumé

Les conditions météorologiques hivernales affectent les jeunes conifères en fin d'hiver - début de printemps, provoquant un rougissement des aiguilles dans certaines conditions climatiques. La réduction de croissance est proportionnelle aux dommages visibles (c'est-à-dire la proportion d'aiguilles rouges) et peut, dans les cas extrêmes, conduire à la mort de l'arbre. Le Douglas *Pseudotsuga menziesii* est particulièrement sensible à ce phénomène.

Cette étude propose un état de l'art du rougissement hivernal du Douglas, en fournissant une synthèse détaillée des connaissances majoritairement empiriques de ce phénomène. Elle souligne le manque de connaissances sur le sujet et permet de proposer des mécanismes physiologiques pouvant aboutir au rougissement des aiguilles, tout en concluant sur des techniques sylvicoles pour limiter ce phénomène.

Le rougissement hivernal est observé pendant les conditions anticycloniques en fin d'hiver et/ou une alternance de périodes de basses et chaudes températures. Il est particulièrement prononcé chez les jeunes arbres ayant un système racinaire peu/mal développé, dans les plantations très dégagées et/ou plus exposées aux fluctuations météorologiques. La succession de périodes chaudes/sèches et froides détermine la vulnérabilité des arbres à divers stress : un stress photo-oxydatif, des dysfonctionnements du système hydraulique de l'arbre et une forte exposition des événements gélifs printaniers. Les périodes froides limitent l'absorption d'eau et l'activité photosynthétique, peuvent provoquer le gel des tissus, tandis que les périodes plus chaudes induisent le dégel des troncs et une transpiration accrue. Un fort rayonnement peut induire une photoinhibition partielle ou totale de la photosynthèse et, dans les cas graves, un fort stress photo-oxydatif avec des dommages cellulaires important. Enfin, trois mécanismes potentiels, seuls ou en interaction, peuvent contribuer au développement du rougissement physiologique : une défaillance hydraulique hivernale, un stress photo-oxydatif et une désacclimatation précoce au froid. La caractérisation des processus physiologiques clés (relation entre l'absorption d'eau et la température, régulation stomatique, dynamique des pigments et des antioxydants, désacclimatation au froid en lien avec l'exposition au cycle gel-dégel) aiderait à comprendre l'étiologie du rougissement physiologique hivernal du Douglas.

Mots-clés : Défaillance hydraulique hivernale, gel tardif, stress photo-oxydatif, *Pseudotsuga menziesii*, rougissement hivernal

Introduction

Forest productivity and tree survival are significantly affected by biotic and abiotic disturbances. Summer drought, often combined with hot spells, can lead to leaf browning and/or shedding, and therefore compromise long-term tree survival (Allen et al., 2010). In conifers, severe and prolonged water deficits can sometimes lead to partial or complete canopy browning in summer (Drénou et Rosa 2014). However, a change in needle colour, from green to red, has also been observed in late winter - early spring *e.g.*, in Montana forests (Hedgcock, 1912). In the spring of 2012, 250,000 ha of forest in northwestern Ontario were affected by browning, of which 190,000 ha were severely affected *i.e.* 25% to 100% of trees were damaged (Man et al. 2013). In France, the occurrence of winter needle browning in mountainous areas has increased dramatically in recent decades and now occurs almost every three years, according to the French Department of Forest Health (FDFH).

Winter needle browning has been observed in several species [*Abies balsamea* and *Pinus mariana* ((Cayford et al. 1959; Man et al. 2013; 2009), *Picea glauca* (Cayford et al., 1959; Man et al., 2013), *Pinus Banksiana* (Man et al., 2013), *Pinus contorta* (Hedgcock, 1912; Redfern et al., 1987), *Pseudotsuga menziesii* (Malmqvist et al. 2018; McMinn et Funk 1970; Nicolescu 2020)] and locations (Japan, North America, Scandinavia and Western Europe). Various phenomena, occurring at forest scale, in late winter/early spring, have been classified as “winter browning”: red belt (Bella et Navrati 1987; Henson 1952), winter burn (Maple et al., 1975), winter freezing damages (Man et al., 2013), winter reddening (Hughes 2011), frost damages (Christersson et Fircks 1990), late spring frosts (Man et al., 2021), winter drought (Tranquillini, 1982; Hart et al., 2017) or winter desiccation (Christersson and Fircks, 1990; Sakai, 1970).

Depending on the type of damage, three patterns of needle browning can be distinguished: red belt, spring frost damage and winter reddening. In Scandinavia and western North America, red belt affects different tree cohorts, from seedlings to mature trees. The damage appears as a narrow red band at certain elevations along slopes (Hedgcock 1912; Jalkanen 1993; Kåre Venn 1993). The red belt is mainly caused by Chinook winds, which bring warm, dry air combined with limited water uptake. Mature stands of Douglas-fir, lodgepole pine and ponderosa pine are mainly affected. In 1909, 16,000 hectares of trees died in Montana (Hedgcock 1912) and, in 2009 1,100 hectares in Alberta (Flowers 2009). Spring frost damage, or false spring, refers to direct frost injury to elongating buds, stems, newly emerging shoots and foliage that occurs after bud break (Reich 1990; Chamberlain et al. 2019). False springs happen after plants have been exposed to mild temperatures in late winter. Mild temperatures, by accelerating the release of ecodormancy, make buds highly vulnerable to freezing temperatures (Charrier et al. 2015; 2018). Frost damage is mainly observed on annual shoots, which lose their turgor and turn brown when the temperature rises after freezing events (Malmqvist et al. 2018). Another pattern of winter injury includes winter burn, winter browning, winter reddening, winter drought and desiccation

stress, which cause needle colour change before budbreak. Such damage has been observed in North America (Man et al. 2013; Ontario 190, 000 ha with severe damage *i.e.*, more than 50% of damaged trees), Scandinavia and central Europe (no data found on the affected areas). Such a damage pattern will be referred to as **winter reddening** in this paper.

In recent decades, winter reddening has been observed mainly in young stands, resulting in significant mortality and the need for replanting in severely affected stands. This raises critical issues for forest managers in their replanting strategy. To identify the current knowledge gaps, we aimed to characterize the risk of winter reddening through the different risk components: hazard, exposure and vulnerability (Bréda and Peiffer 2014). Although some abiotic and individual factors have been identified, the aetiology of winter physiological reddening is still not clearly understood, preventing foresters from developing mitigation measures. Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* Mirb. Franco), due to its wide adaptability to planting sites, rapid growth, and high wood yield, has been extensively planted throughout Europe, particularly in France, where plantations increased from 330,000 hectares in 1993 to 415,000 hectares in 2021 (Nicolescu et al. 2023). Over the last few decades, the number of young Douglas-fir plantations has increased, leading to an increase in observations of winter reddening in France (FDFH), Belgium (Walloon observatory of forest health) and Switzerland (Swiss Federal Research Institute), among others. Therefore, the focus of our study will mainly be on the winter reddening phenomenon in Douglas-fir. We will first describe the symptoms and triggering environmental and stand factors of winter physiological reddening. We will then develop three hypotheses detailing the physiological mechanisms that can lead to winter reddening.

I. Symptoms of winter reddening

Winter reddening is a gradual process in which the colour of needles changes from glaucous green to orange and ultimately to red. (Figure 6; Baubet and Goudet 2015; Solberg 1993; Kåre Venn 1993). Red discolouration is visible in early spring before budbreak (Cayford et al. 1959; Malmqvist et al. 2018; Man et al. 2013; McMinn and Funk 1970). Young needle cohorts (1 or 2 years old for an average lifespan of 3 years) are affected earlier than older ones (Kåre Venn 1993; Redfern et al. 1987; Solberg 1993). The reddening process begins at the tip of the needle and extends to the base and along the branch eventually reaching the trunk. In extremely severe cases, the buds dry out and the bark necroses (Bella and Navrati 1987; Sakai 1970; Solberg 1993).

At tree level, the upper part of the crown is usually more damaged than the lower part, resulting in a gradient from red to green from top to bottom (Figure 6). A common pattern is a multi-coloured crown: red at the top, glaucous green – orange in the middle and green in the lower part of the crown. Branches covered by snow and/or understorey vegetation usually remain green (Hedgcock 1912; MacHattie 1963). During the following growing season, most of the affected whorls in, and above, the

red fraction die, although the red needles remain on the branch until the middle of the growing season (McMinn and Funk 1970).

Needle mortality on affected trees can reach 100% (French Department of Forest Health – FDFH – dataset; Man 2009; 2013; Goudet 2009). Different patterns of reddening (*i.e.* completely red, red crown and green base, or, less frequently, green crown and red base) are observed in different stands and even within an affected stand. Plants close to openings in the stand, on edges created by adjacent clearcuts or windthrow, or in a relative isolation are more likely to be affected (Cayford et al. 1959; Redfern et al. 1987).



Figure 6 : Different stages of a Douglas-fir winter reddening (Livradois-Forez, 2022). The colour of needles changes from glaucous green to orange and finally to red. © M. Van Rooij

Winter reddening mainly affects young trees, up to 20 years-old and 8 m tall (Malmqvist et al. 2018; Man et al. 2009; 2013; Nicolescu 2020). When only the upper part of the crown is damaged, trees display a reduced growth, with an unbalanced architecture leading to tree decline. The reduction in growth is proportional to the amount of needle reddening (Bella and Navrati 1987; McMinn and Funk 1970; Redfern et al. 1987). In lodgepole pine, Bella and Navrati (1987) found a 25% reduction in the length of terminal buds formed in the following growing season after winter reddening. The reduced growth of affected trees delays the time of canopy closure and, in addition to the death of some individuals, reduces the overall density of the stand. Remaining trees are therefore more exposed to additional stress events (*e.g.* high winds, irradiance and/or daily thermal amplitude). The delayed growth of affected trees raises forest management issues due to increased stand heterogeneity. Although affected trees can recover normal physiological function after a winter reddening event, they rarely return to pre-stressed levels. Following winter reddening, 60 to 100% of severely damaged trees died within two years (Malmqvist et al. 2018). For slightly damaged trees 20% to 60% of trees died within four years. When most of the buds are dead and more than 60% of the needles are red, a steady decline in physiological functions is observed until complete decay. For balsam fir and black spruce, overall survival after six growing seasons was also around 70% of the affected trees (Man et al. 2013).

II. Factors affecting the risk of winter reddening

Based on the observations recorded by the FDFH in France between 1989 and 2019 (Frame 1) analysed through a risk management approach, we identified three groups of factors involved in the risk of winter reddening: meteorological hazard, exposure, and tree vulnerability (Kron 2005; Bréda and Peiffer 2014; Charrier et al. 2015). Hazard is the probability of occurrence of one or more natural disturbances during a given period and over a defined spatial extent (mainly meteorological events such as high daily thermal amplitudes in February). Exposure reflects how the subject, regardless of its level of organisation (*e.g.* individual tree or stand), experiences the hazard. Several factors are related to exposure such as topography, soil properties, position in the stand, forest management. Finally, vulnerability is the predisposition to be adversely affected by the hazard and therefore depends on its intrinsic characteristics (*e.g.* age, acclimation state, provenance).

*Risk of Winter Reddening = Climatic Hazard * Exposure * Vulnerability*

A. Climatic hazard

Winter reddening is observed during late winter and early spring before bud break and growth resumption. Two types of meteorological factors, leading to winter reddening, were observed.

The weather conditions in symptomatic years (years when winter reddening is observed) are mainly characterized by **an anticyclonic period**, *i.e.* a period with warm daily temperatures and low night temperatures, strong winds and increasing irradiance as well as large daily thermal amplitudes (Henson 1952; Baubet and Goudet 2015; Malmqvist et al. 2018). Cayford et al. (1952) underlines that warm and dry weather in early spring is associated to frozen soil. In Japan, winter damages have been observed in conifers exposed to frozen soil and to warm temperatures for several hours *i.e.* up to 17°C on southern slopes (Sakai 1970). In May-April, high light (2 000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ PPFD) combined with subzero temperature exposure is associated with needle photodamages of *Abies Mariessi* (Yamazaki 2003; Yamazaki et al. 2007). In Europe, it has been observed when minimum air temperatures range from -5°C to -10°C while maximum air temperatures remain around 10°C for a period of at least two weeks.

Winter reddening damages may also result of a **period of usual mild weather preceded and followed by cold period** with notably negative temperature and freeze-thaw cycles (Man et al. 2009, 2013; Malmqvist 2018; Redfern et al. 1987). Warmer January (2.9 to 4.7°C above normal) followed by cold spell in February (up to -30°C), are associated with winter damages (Kamp et Worrall 1990). Man et al. (2013) mentioned 2 weeks with unseasonal daytime temperatures *i.e.*, between 20 and 25°C, followed by a period of normal daytime temperature while nighttime temperatures falling below zero, up to -22°C. Redfern et al. (1984) reported similar weather conditions.

B. Exposure

Meteorological factors are not the only drivers of winter reddening, as there is a high degree of variability between and within stands. Indeed, site-related factors are crucial, as winter reddening has been observed several times on the same plot (Kâre Venn 1993). In France, winter reddening is mainly observed in hills and low mountain (500-900 m a.s.l.; Figure 7A), corresponding to about 70% of the Douglas-fir stands. Although damage was observed in all azimuths, it was observed more often on the northern slopes than on the southern slopes in France (Figure 7B). In winter, temperatures on southern slopes are typically higher than those on northern slopes. This is because southern slopes receive approximately eight times more daily irradiance than northern slopes (Lhotellier 2005). Additionally, the snow cover on southern slopes melts earlier than on flat lands or northern slopes and the soil temperature can quickly return to positive values (Morén and Perttu 1994).

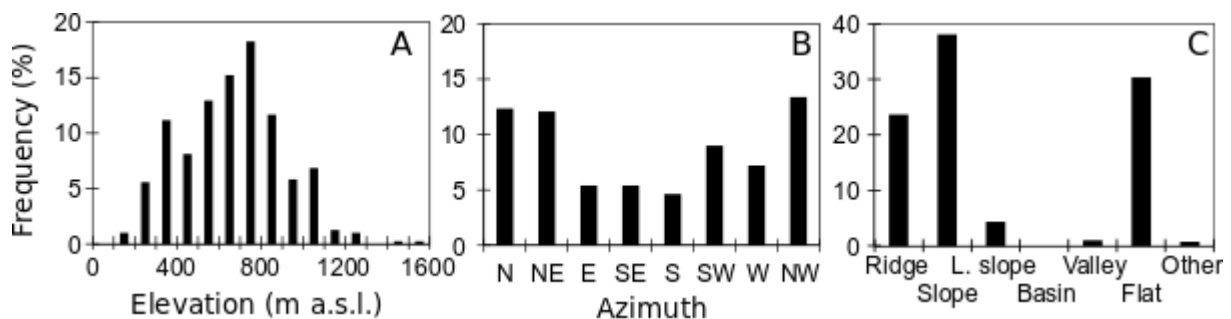


Figure 7: Distribution of reddening observations according to several factors. A: Frequency of winter reddening depending on elevation. B: Frequency of winter reddening depending on azimuth – N: North, E: East, S: South, W: West - C: Frequency of winter reddening depending on the topography of the Douglas stand with L.slope: Low slope. Based on FDFH data.

Stands located on ridges, upper slopes and flat areas are more affected by winter reddening whereas almost no winter reddening is observed on lower slopes and in basins (Figure 7C). Cold temperature does not seem to be a direct factor, as northern slopes do not systematically suffer from winter reddening, and lower slopes and basins can be exposed to colder temperatures than ridges in mid-winter during thermal inversions. Exposure to strong winds on ridges and upper slopes may be a more important factor than temperature (Morén and Perttu 1994).

At stand level, trees on the edge of the stand have higher damages than those located in the centre of the stand. These trees are exposed to higher irradiance, wind and temperature fluctuations than those in the core of the stand (Hiratsuka and Zalasky 1993; Stoutjesdijk and Barkman 2014). Recent clear-cuts in the stand exacerbate the intensity of winter reddening, by exposing shade-acclimated trees to greater exposure to light, wind and temperature extremes (Sagar and Waterhouse 2010). The presence of perennial understorey plants reduces frost damage (Aussenac 2000; Petritan et al. 2011). Perennial understorey plants (*e.g.* brooms, shrubs) also mitigate damage by reducing light intensity, buffering nighttime temperatures, reducing the number of freeze-thaw cycles and limiting warm daytime temperatures. The temperature difference between a clear-cut and a dense stand of Norway Spruce

seedlings was positive for the maximum and mean temperature (+ 4.5°C and + 0.7°C, respectively) and negative for the minimum temperature (-2.1°C) at 0.4 m above the ground (Langvall 2010). Thus, clearcutting increases the maximum temperature and decreases the minimum temperature encountered by the trees, exposing them to larger daily thermal variations. Exposure to greater variations in meteorological parameters appears to be an aggravating factor for winter reddening.

C. Vulnerability

Factors related to tree exposure explain a significant part of the observed reddening, but at the individual level some factors related to the intrinsic vulnerability of the tree are also important. Winter reddening was mainly observed on young trees, up to 20 years old (Figure 8). Young trees with a reduced root system explore a limited volume of soil, which limits the amount of water they can absorb. The shallow distribution of roots makes them susceptible to being in the cold layers of the soil in winter and potentially exposed to freezing temperature. Frost damage to the root system leads to reduced growth and yellowing of needles in the following growing season by affecting water supply and mineral nutrition (Jalkanen 1990; Cox and Zhu 2003). Freezing injury to Douglas-fir seedling roots may be triggered by delayed autumn cold acclimation (Malmqvist et al. 2018).

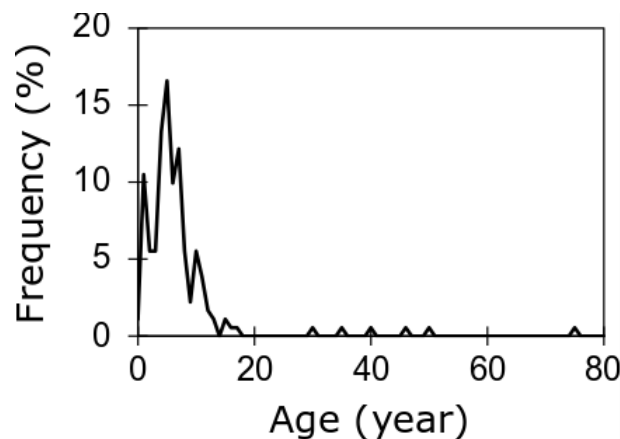


Figure 8: Distribution of reddening observations according to the age of Douglas-fir stands – Based on FDFH data

Instances where all Douglas-fir trees in a stand are affected are rare (refer to the previous section on symptoms for additional information). This implies that not all young trees are equally sensitive to winter reddening. In 2014, in 41 stands exhibiting winter reddening, 75% of symptomatic trees showed root system abnormalities: taproot malformation or superficial distribution of fine roots (Baubet and Goudet 2015). By reducing water and nutrient uptake, root system anomalies weaken trees, making them vulnerable to winter damage. As trees grow, the canopy closes and the variability of microclimatic parameters such as light, wind and temperature are reduced. Finally, it is unclear whether the age of the tree corresponds to the vulnerability of the exposure component, as in a mature stand the crowns

maintain a buffered environment that limits exposure to the identified stress factors (temperature, light, wind).

In recent decades, Douglas-fir has exhibited earlier budburst by five days per decade in France (Bastien 2020). Such an early bud burst has increased the likelihood of late freezing events in spring (Chamberlain and Wolkovich 2021; Mura et al., 2022). Early bud burst increases the vulnerability to late frost resulting in higher frost damages due to early cold deacclimation. Among the various provenances grown in France, California has the earliest bud burst, occurring 20 days before the others (Bastien et al. 2021). To prevent spring damages, other provenances with later date of budbreak should be planted, such as Washington 2 and Luzette, especially in warm and highly fluctuating conditions (Bastien 2020).

III. Putative physiological background of winter reddening

Based on the above observations, the physiological perturbations involved in the development of winter reddening in trees are most likely related to three potential mechanisms: (i) winter hydraulic failure due to winter drought stress, (ii) photo-oxidative stress in shade-acclimated trees or (iii) early cold deacclimation during warm periods. The following section describes the sequence of physiological events that can lead to winter reddening by these different mechanisms, bearing in mind that separate mechanisms may also interact in the development of reddening.

A. Winter hydraulic failure

Winter reddening occurs under specific conditions such as low nighttime temperatures, mild daytime temperatures, cold or frozen soil, high irradiance and moderate to strong wind speed (Sakai 1970; Herrick and Friedland 1991; Malmqvist et al. 2018). The relatively warm conditions during the daytime maintain transpiration, which may not be adequately compensated by water uptake by the root system because the soil is cold or frozen, a typical pattern of winter drought (Tranquillini 1982).

- ***Low soil temperature reduces roots water absorption***

A typical pattern of dehydration in autumn and rehydration in spring is observed in deciduous plant, under the control of soil temperature (Charrier et al. 2013). At temperatures below 8°C, root water uptake is indeed highly limited (Améglio et al. 2002; Mellander et al. 2006). The entry point of water into plants is through the symplastic pathway as the apoplastic pathway is interrupted by barriers in roots such as the one created by exo- and endodermal Casparian bands in the endoderm (Lee et al. 2005). In symplastic pathway, water molecules pass through the plasma whose permeability is mainly driven by the activity of aquaporins (Lee et al. 2012). Low soil temperature affects aquaporin synthesis, but also their three-dimensional conformation which is constrained by the rigidity of acyl groups at low

temperature (Ranganathan et al. 2016). If transpiration is maintained, the subsequent water deficit also increases the resistance to water flow by increasing the viscosity of the cytoplasm due to the more concentrated intracellular sap (Ameglio et al. 1990).

The sensitivity of root water uptake to low soil temperature may be further limited by the distribution of the root system in superficial soil layers (*e.g.*, young plants or those with an unbalanced root system conformation; Cox and Zhu 2003; Lopushinsky and Kaufmann 1984). Soil temperature in the superficial layers exhibits overall greater thermal fluctuations and can reach damaging freezing temperature. A shallow root system is therefore more at risk due to an increased exposure to frost damage (Jalkanen 1990). Finally, if part of the root system is damaged, root water uptake is further limited (Malmqvist et al. 2018).

- ***Anticyclone conditions can exacerbate water losses***

Warm daytime temperatures, high light intensity and dry air induce higher needle transpiration rates. Although, under drought stress, needle water loss is actively limited by stomatal closure, passive fluxes through leaky stomata, leaf cuticle or bark can increase plant water deficit (Figure 9C; Duursma et al. 2019). During winter, stomatal regulation may not be as effective as during the growing season (Zweifel et al. 2007). Changes in the lipid composition of the plasma membrane can alter the efficiency of the guard cells to regulate stomatal opening (Ruelland et al. 2009).

Water losses can be enhanced by short-term thermal fluctuations for the organ above the snow cover or the understorey vegetation. Warm periods may suddenly release the inhibition of stomatal responsiveness to cold temperature, resulting in a drop in xylem water potential. When a critical threshold is reached, a bubble is formed in the sap and propagates to adjacent xylem conduits by air-seeding (Cochard 2006). Air-filled vessels do no longer contribute to the hydraulic pathway, increasing further needle dehydration and ultimately leading to drought-induced reddening (Figure 9; Cochard et al. 2009). Finally, the concomitance of cold soil temperature with warm air temperature is likely to induce winter drought by limiting root water uptake whereas water losses are enhanced. Although some conifer species can resist to such seasonal stress, even under harsh conditions (Chang et al. 2021; Charrier et al. 2017), Douglas-fir may be more sensitive at the root, stomata or both levels.

- ***Interaction between nighttime freezing events and daytime passive water losses***

Night temperatures below -2°C can induce freezing of sap around a nucleus in xylem elements (Zimmermann 1964; Špulák and Balcar 2013). As night freezing events appears to be a key parameter in triggering winter reddening, a significant decrease in xylem water potential would be expected, although it may not be low enough to induce embolism formation. However, in dehydrated samples, ice nucleation occurs in the xylem at colder temperatures than in saturated branches (Lintunen et al. 2013). The water potential generated at the solid-liquid interface is temperature dependent ($-1.18 \text{ MPa}\cdot\text{K}^{-1}$;

Rajashekar et al. 1983) and induces greater water fluxes towards ice nucleation sites under pre-existing water stress (Ball et al. 2006; Charra-Vaskou et al. 2016). Indeed, a dehydrated xylem would indeed be more vulnerable to the formation and propagation of gas bubbles in xylem conduits (Sperry et al. 1992; Mayr and Charra-Vaskou. 2007; Charrier et al. 2014; 2015). Successive freeze-thaw cycles promote air seeding and bubble expansion from conduit to conduit in dehydrated trees (Charrier et al. 2015; Charra-Vaskou et al. 2023).

In natura, ice nucleation usually occurs at the basal part of the branch, which can draw liquid sap from the distal part towards the basal part, creating a water gradient (Charrier et al. 2017). At tree level, the temperature at the base is more constant so the base remains frozen for a longer time than the upper crown which is exposed to more freeze-thaw cycles (Mayr et al. 2003). According to Kozlowski (2012), needle tissue becomes severely dehydrated after several days of freezing, even without transpiration. Furthermore, it has been found that younger twigs and one-year-old needles tend to dehydrate more rapidly than older needles (Lemoine et al. 1999). This is due to their lower relative water content and cuticular resistance to water loss (Figure 9; Herrick and Friedland 1991). Under water stress, chlorophyll a degrades, resulting in a colour change of the needle from green to red-brown. (Guadagno et al. 2017). Water stress is more pronounced in younger shoots, causing Douglas-fir needles to gradually dehydrate from the top to the base of the tree. This results in the red colour spreading from the crown to the base (Figure 9).

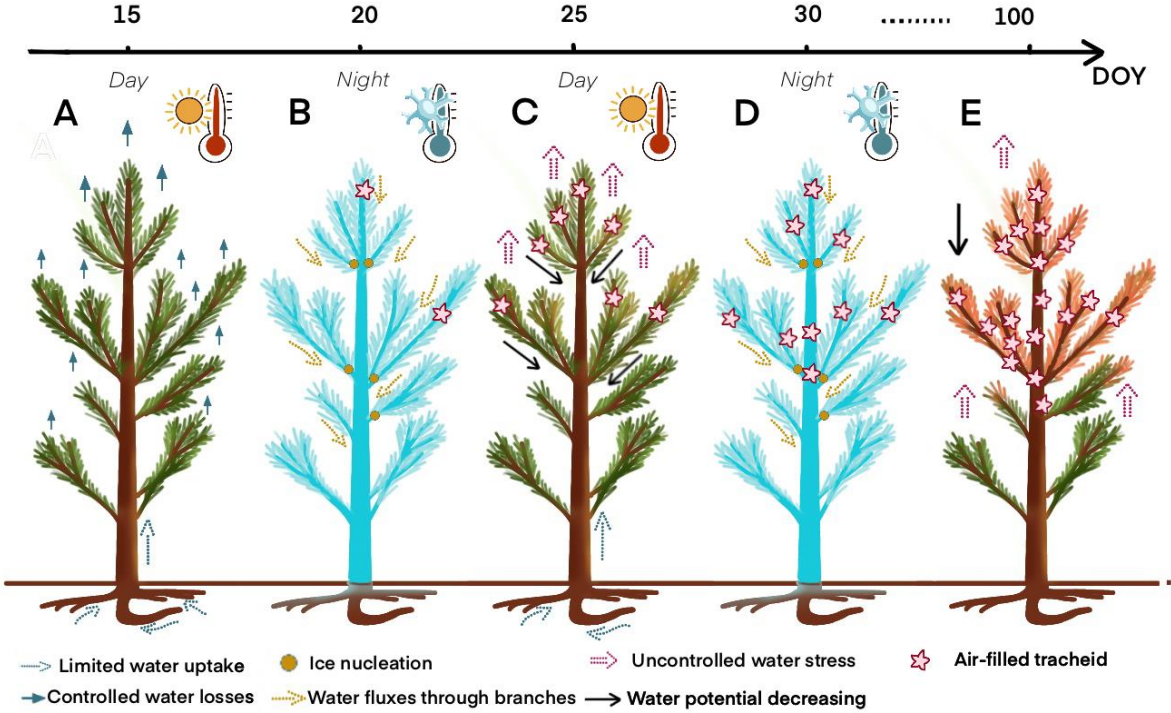


Figure 9: Scheme of winter hydraulic failure, leading to winter reddening in Douglas-fir. Blue conifer: frozen tree. DOY (day of year) is represented by the black arrow. A: Cold-acclimated Douglas-fir with daily controlled water loss through stomata. B: Night frost disrupts water flow in branches. C: Daily uncontrolled water loss through

frost-damaged stomata with limited water uptake induces local loss of hydraulic conductivity in the tracheid. D: Successive night frosts and warm daytime temperatures lead to progressive dehydration from the crown to the base of the tree. E: Successive freeze-thaw cycles promote air seeding and bubble expansion from conduit to conduit in dehydrated trees, which discolour from green to red.

- ***How to induce experimental winter hydraulic failure in young Douglas-fir?***

To test the effects of cold soil on plant water relations, a differential conditioning with cold soil and warm air temperature should be tested in this species (Lopushinsky and Kaufman 1984; Wang and Hoch 2022). New insights into the physiological behaviour of Douglas-fir under conditions that induce winter reddening would be provided by measuring stomatal regulation, water status and hydraulic conductivity and growth recovery along the soil-plant-atmosphere continuum. Can these conditions induce significant hydraulic failure in the xylem, thus leading to tree decline? A complementary experiment would rely on exposing the aboveground part of the tree to successive freeze-thaw cycles to increase the rate of hydraulic failure in the xylem.

B. Photo-oxidative stress

Winter reddening occurs when low temperature and high light intensity coincide, disrupting photostasis *i.e.*, the balance of energy flow between photophysical and photochemical processes (Öquist and Huner 2003 ; Ensminger *et al.* 2006). Under optimal conditions, the energy flow is balanced between the absorption of light by photosystem II (PSII) and photosystem I (PSI), the conversion of this energy into NADPH and ATP by the electron transport chain, and the reduction of carbon dioxide to organic compounds by the Calvin-Benson cycle.

- ***Low temperatures and high irradiance disturb photostasis***

Low temperature reduces the rate of electron transport by decreasing membrane fluidity and the rates of enzymatic reactions involved in the dark phase of photosynthesis, whereas high light supports the photochemical processes involved in the light phase (Huner *et al.* 1998; Yamazaki *et al.* 2007). Thus, the combination of extremely rapid absorption of light reactions (independent of temperature) with the slower, temperature-dependent biochemical reactions can be disturbed in such climatic conditions (Ensminger *et al.* 2006). When the balance between the light energy absorbed by the photosystems and the energy consumed by metabolic sinks of the plant is disturbed, electrons accumulate in the photosystems. Excess electrons from PSI can be transported to oxygen as singlets, generating reactive oxygen species (ROS).

- ***Winter protective mechanisms to maintain photostasis***

Evergreen conifers have evolved protective mechanisms to dissipate the excess energy through non-photochemical quenching as heat and fluorescence (Chang *et al.* 2021; Gillies and Vidaver 1990; Yamazaki 2003). Protective mechanisms include i) degradation of PSII reaction centres (RCs) (Ottander *et al.* 1995), ii) alteration of PSII supercomplexes (Zhang *et al.* 2016), and iii) cyclic electron transport around PSI, which acts as an alternative electron sink in pines (Ivanov *et al.* 2001). In addition, light can be released as heat via the xanthophyll cycle, which involves the interconversion of violaxanthin to antheraxanthin and then to zeaxanthin (Demmig-Adams *et al.* 2014; Figure 10A). The conversion state of the xanthophyll cycle from violaxanthin to antheraxanthin and zeaxanthin, responds mainly to daily changes in minimum air temperature. On cold nights, the xanthophyll cycle is mostly in the de-epoxidised state, with antheraxanthin and zeaxanthin being converted to violaxanthin before sunrise. Violaxanthin remains the major form until early morning when the temperature is above freezing (Figure 10; Adams *et al.* 1995).

- ***Photo-damages: when photo-protective mechanisms are not sufficient***

When non-photochemical mechanisms are insufficient to maintain photostasis, the photosystems are unable to dissipate light energy, leading to an excess of energy and then to potential photo-oxidative damage. Thus, single electrons (*i.e.* free radicals) can generate reactive ROS, resulting in photo-oxidative damage to the photosynthetic apparatus (Soitamo *et al.* 2008; Ruelland *et al.* 2009; Yun *et al.* 2010). ROS are known to induce damages to thylakoid membrane (Levitt 1980), to alter the conformation of proteins associated with photosystems (Ogren and Oquist 1985; Gamon and Pearcy 1990; Zwiazek 2013; Deller 2016), and to degrade functional components via lipid peroxidation and chlorophyll bleaching (Yamazaki *et al.* 2007), leading to cell death (Suzuki and Mittler 2006; Petrov *et al.* 2015). The extent of photodamage depends on i) scavenging of ROS by antheraxanthin and zeaxanthin (Adams and Demmig-Adams 1994) or by the carotenoid lutein, which deactivates single oxygen (Gillies and Vidaver 1990; Yamazaki *et al.* 2003), ii) protection of photosynthesis (see above), and iii) repair of structures and proteins.

- ***Failure of the photo-protection mechanism may result in photodamage and subsequent reddening.***

Winter reddening starts with the reddening of the current year's needles from the top to the base of the branches. In the case of Norway spruce, the current year's needles have a lower concentration of xanthophylls compared to the chlorophyll and a reduced concentration of alpha-tocopherol, which is the main lipophilic antioxidant (Fryer 1992). This results in a lower photoprotection of the current year's

needles compared to the previous year's needles (Tegischer et al. 2002) and an increase in photooxidative stress in the lower part of the tree, spreading from the top to the base. As a result, chlorophyll a degradation is triggered, causing the needles to change colour from green to red-brown (Figure 10E).

Needles that have been acclimated to full light conditions have a four to five times larger xanthophyll pool than shade-developed needles. Needles acclimated to shade have thus a lower capacity to form zeaxanthin, which limits their photoprotective mechanisms (Adams and Demmig-Adams 1994). After clearcutting, young trees that were acclimated to shade conditions are suddenly exposed to high light intensity and greater daily temperature fluctuation, which can potentially increase their exposure to stress factors (Adams and Demmig-Adams 1994).

Although many evergreen species down-regulate photosynthesis during winter, Douglas-fir maintains highly efficient photosynthesis under favourable conditions. From October to March, photosynthesis can account for up to 30% of annual net assimilation at the branch level (Guehl et al. 1985; Choisnel et al. 1990). Douglas-fir is more vulnerable to winter stress than other conifer species due to its inability to maintain functional photosynthesis under sub-stressing conditions. According to Tegischer et al. (2002), mature trees have a higher protective capacity against high light intensity, compared to seedlings and young trees. This may explain why mature trees do not experience winter reddening.

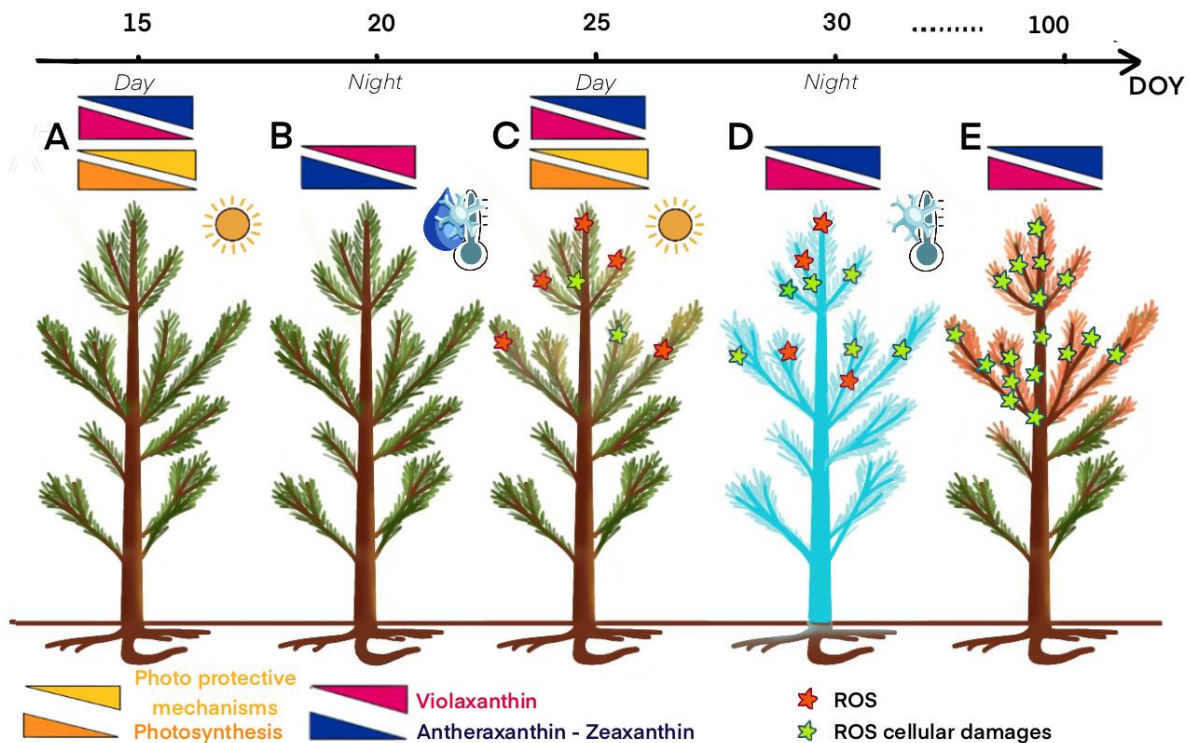


Figure 10: Scheme of photooxidative stress leading to a winter reddening in Douglas-fir. The blue conifer represents a frozen tree. The day of the year (DOY) is indicated by the black arrow. A: High irradiance causes a decrease in photosynthesis efficiency, while activating photo-protective mechanisms through the conversion of violaxanthin (V) to antheraxanthin (A) and zeaxanthin (Z). B: Nightly temperatures above freezing allow for the efficient functioning of the xanthophyll cycle with the conversion of A and Z into V. C: Successive days of high irradiance can lead to the formation of ROS (Reactive Oxygen Species). D: In the early morning, when temperatures are still freezing, the conversion of A and Z to V is inhibited, leading to uncontrolled ROS production, and resulting in cellular damage. E: Successive days of freezing temperatures combined with high daily irradiance can cause chlorophyll degradation, resulting in needles discolouring from green to red.

▪ ***How to induce experimental photo-oxidative stress in young Douglas-fir?***

To determine the response of young trees to photooxidative stress in terms of xanthophyll, carotenoid, lutein and antioxidant concentrations, they can be exposed to different treatments that combine light intensity and chilling temperature. Following exposure to these specific conditions, needle colour phenotyping should be carried out for several months. Local application of different conditions at the branch level can test the effect of the treatment on the same individual. Once the inducing conditions are identified, different light spectra can be applied to determine each pigment's response to a specific wavelength.

C. Early cold deacclimation

During the winter season, trees transiently increase their tolerance to freezing temperatures through the process of cold acclimation / deacclimation. Cold acclimation is induced by cold temperatures in autumn, while cold deacclimation is induced by warm temperatures in late winter to

early spring (Charrier et al. 2011; 2015). Anticyclone conditions or mild temperature weeks, in late winter may increase the vulnerability to the following cold spell, by inducing cold deacclimation before budbreak (Man et al. 2009).

- ***Periods of warm temperatures induces Douglas-fir cold deacclimation***

Cold deacclimation is mainly driven by mild/warm air temperature rather than water availability, day length or light intensity (Driessche 1969; Kalberer et al. 2006; Charrier et al. 2018). In Douglas-fir, air temperatures above +5°C are sufficient to induce cold deacclimation, after endodormancy release (Bailey and Harrington 2006). Short periods of warm temperatures can induce cold deacclimation in *Picea rubens* (*i.e.* 45 hours at 15°C or 18 hours at 24°C; DeHayes et al. 1990). Over a longer period, warm temperatures promote the resumption of growth (Figure 11). In buds but also in other living tissues, a significant increase in water content is observed before bud break, as growing tissues require higher water content to reach the cell turgor necessary for cell enlargement (Pagter et al. 2011; Charrier et al. 2013).

Cold acclimation is induced by a decrease in water content and an increase in various compounds such as soluble carbohydrates, raffinose family oligosaccharides (Charrier et al. 2013; Baffoin et al. 2021; Deslauriers et al. 2021). The depletion of cryoprotectants is induced by warm temperatures, using rapid metabolic pathways that cannot be reversed quickly and at low energy cost (Kalberer et al. 2006). Deacclimation is therefore much faster than reacclimation, taking several days or weeks (*e.g.* 10 to 20 days in *Picea rubens*; Strimbeck et al. 1995) to return to previous levels of frost hardiness. Following a warm period, trees are therefore vulnerable to a sudden drop in temperature. In conclusion, the loss of freezing tolerance is associated with significant changes in cell and tissue water relations, as well as carbohydrate metabolism. The latter is also affected by temperature-induced changes in respiratory metabolism (Pagter and Arora 2012).

- ***Frost damages can lead to winter reddening.***

The use of cumulative growing degree days (GDD) since 1 January is a way to assess ontogenic development and cold deacclimation. An early accumulation of GDD of a week (compared to the 1981-2007 average) followed by extremely cold nights induced severe winter freezing injuries (Man et al. 2009). Freezing events observed before budbreak are more severe than after budbreak and can affect young trees of different sizes and species over large areas (Man et al. 2009).

Late freezing events can damage plant tissues by damaging buds and needles (Tinus et al. 2000), which are more sensitive than stem tissues (Burr et al. 1986). Direct frost damage to the cambium can also be observed, affecting the timing and the pattern of growth resumption, resulting in a frost ring along the annual growth rings (Figure 11; Glerum and Farrar 1966). In this case, the formation of a new

ring and consequently the restoration of hydraulic conductivity may be limited by the cambium damage, increasing the dehydration of the needles, which may turn red (Figure 11). Late freezing events, commonly referred to as false springs, occur close to the time of bud break and cause frost injury when exposure to cold temperatures exceeds the frost hardiness of the plant (Mura et al. 2022).

Frost injury depends not only on frost hardiness but also on the duration and intensity of the frost event, the number of freeze-thaw cycles and the rate of cooling and thawing (Charrier et al. 2015). The upper part of the crown is usually exposed to lower temperatures and tends to be more severely affected with killed buds (Redfern et al. 1987; Kamp and Worrall 1990). Young Douglas-fir saplings, less than 2 m tall, are at high risk as their upper part is exposed to cold air (Morén and Perttu 1994). Perennial understorey plants can act as a shelter and protect the seedling from very low temperatures. Thus, frost causes cellular damage to the upper parts of the trees, which can impact the photosynthetic apparatus and degrade chlorophyll a. As a result, needles, which are particularly vulnerable to cold, may change colour from green to red.

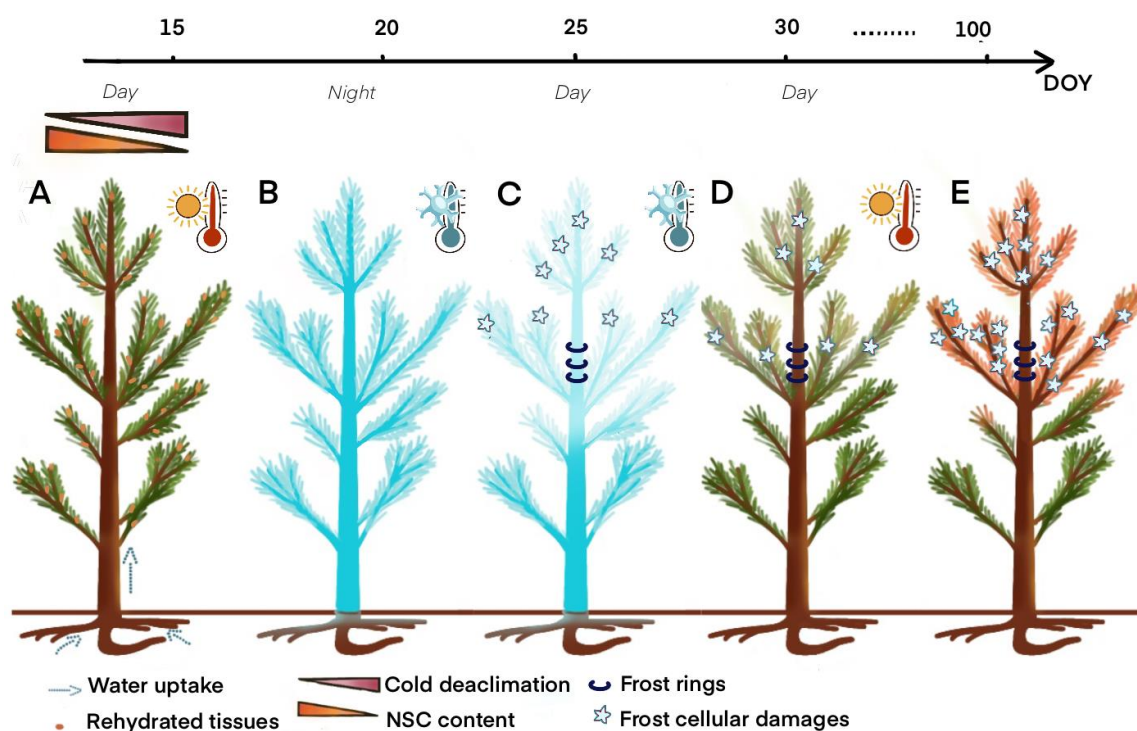


Figure 11 : Scheme of early cold deacclimation stress leading to a winter reddening in Douglas-fir. The blue conifer represents a frozen tree. The day of the year (DOY) is indicated by the black arrow. A: Warm January temperatures induce cold-deacclimation of Douglas-fir and loss of cold hardiness. B & C: Cold nights can induce winter chilling injury by damaging the growing cambium, needles and deacclimated buds. D: growth resumption is limited by the damage to the cambium and cells. E: Early cold-deacclimation followed by frost event can cause frost cellular damages on living tissues, which discolour from green to red.

- ***How to induce experimental cold deacclimation in young Douglas-fir?***

To test this hypothesis, Douglas-fir saplings could be exposed to different types of freezing events in a controlled environment at varying levels of cold deacclimation. The objective would be to induce localized damage to needles and/or cambium. Needle colour and the resumption of primary and secondary growth after exposure to a stress condition could shed light on the relevance of this mechanism.

D. Potential interaction between physiological stresses

The three mechanisms described above, namely winter hydraulic failure, photo-oxidative stress, and early cold deacclimation, are not necessarily mutually exclusive. For instance, freezing nighttime temperatures combined with high irradiance and warm daytime temperatures can trigger the formation of freeze-thaw induced embolism in pre-stressed trees. Additionally, frost damage to the cambium can prevent the restoration of hydraulic function. Another interaction between stomatal closure, induced by either water stress or low temperature, and photosynthetic carbon assimilation would primarily maintain the hydration status of the tree. This would occur at the cost of photo-oxidative stress in the needles under high light. The variation in vulnerability between young and mature trees indicates that either ontogenic changes are taking place in the upper crown, where more stressful conditions are present, such as lower temperatures, higher wind speeds, and greater light intensity, or the root system development enables mature trees to evade drought stress during the winter season. Although winter drought due to low soil temperature is observed in *P.abies* with only minor consequences at the photo-oxidative and hydraulic levels (Day *et al.* 1991; Delucia 1986; Charrier *et al.* 2017), Douglas-fir could be highly sensitive to this stress. The differences could lie in the maintenance of photosynthesis and stomatal regulation, or the ability to limit air seeding during freeze-thaw cycles.

Conclusion facing winter reddening

Under atypical anticyclone conditions in late winter, Douglas-fir trees may experience winter reddening due to various abiotic factors. The interaction between warm/dry and cold temperatures can make trees vulnerable to stress at the cellular and hydraulic level.

Cold soil or soil water deficit can reduce root uptake, leading to a drop in water potential and subsequent stomatal closure. Clear nights with freezing events, combined with warm, sunny days, can affect stomatal regulation, and alter water flow within the crown of the tree. A hydraulic gradient can cause dehydration of the apexes, diameter contraction, and a drop in water potential. This can result in massive embolism in the most exposed parts of the tree, such as the top of the tree, while the base remains frozen for longer. The reduced water content of the needles may result in chlorophyll degradation and the emergence of secondary pigments. To confirm this mechanism, measurements of the changes in diameter, water potential, hydraulic conductivity should be taken at various heights in the crown to demonstrate the presence of a hydraulic gradient. Finally, to demonstrate the loss of stomatal regulation, gas exchange measurements and residual transpiration should be measured before and after one or more freeze-thaw cycles.

To minimize the risk of physiological reddening, forest managers must focus on three key points: selecting local factors at the massif scale, maintaining a forest atmosphere in the stand, and promoting a regular root system at the tree scale. It is important to note that there is no evidence of genetic adaptation to this phenomenon.

Douglas-fir is at a higher risk of reddening if it is located between 400 and 800m asl, on the top of north-facing slopes, ridges, or flatlands. In high-risk locations, saplings can be protected by placing them under shelter. Additionally, selecting perennial understorey vegetation, such as broom, or keeping small shrubs can protect young trees from large fluctuations in environmental factors such as light, temperature, and wind. Finally, when planting a new stand, it is important to take care to allow the tree to develop its root system evenly and to avoid rough planting. Finally, this raises questions about the sustainability of the silvo-industrial system. The system promotes clear-cutting and relatively invasive replanting, which may have negative impacts on the environment. To minimize the risk of reddening, it is recommended to adopt an approach that is more respectful of natural balances. This can be achieved by allowing natural regeneration without undue stress on the root system and by maintaining a forest atmosphere through accompanying vegetation that buffers the abrupt shocks of the weather.

Conclusion du chapitre 1

Ce chapitre permet de rassembler les connaissances scientifiques et forestières sur le rougissement physiologique en présentant i) les symptômes, ii) le risque de rougissement ainsi que iii) trois mécanismes physiologiques pouvant induire un rougissement hivernal du Douglas : une défaillance hydraulique, un stress photo-oxydatif ou une désacclimatation précoce.

Le rougissement apparaît en fin d'hiver – début du printemps, et affecte les jeunes arbres (<15 ans) avant le débourrement des bourgeons. Les aiguilles les plus jeunes rougissent en premier, le rougissement se propage donc de l'apex vers la base de l'arbre. La vitalité de l'arbre peut être fortement affectée par le rougissement et selon le taux d'aiguille atteinte, il peut dépérir dans les années qui suivent et, en cas de survie, il sera coupé lors de la première éclaircie.

Le rougissement hivernal est associé à un aléa climatique déclencheur *i.e.* des périodes anticycloniques (températures froides nocturnes, des températures douces en journée, un sol gelé/ froid, un rayonnement solaire élevé et une vitesse du vent faible à modérée) et/ou des périodes chaudes entrecoupées de périodes froides. Néanmoins, des facteurs de vulnérabilité et d'exposition ont été identifiés comme pouvant favoriser le rougissement. Les facteurs liés à l'exposition sont des caractéristiques de la parcelle - la topographie, l'exposition, le versant -, la place du Douglas dans la plantation, et la gestion sylvicole via les coupes et la végétation d'accompagnement tandis que les facteurs de vulnérabilité sont l'âge, la génétique et une mauvaise conformation racinaire.

Une défaillance hydraulique pourrait être la conséquence (i) d'une sécheresse hivernale *stricto sensu* soit liée à un stress édaphique, (ii) d'une sécheresse hivernale potentiellement induite par (i) amplifiée par la succession de cycle gel-dégel ou iii) d'une sécheresse hivernale exacerbée par l'alternance de cycle gel-dégel nocturne couplée avec de la transpiration journalière.

(i) Une température froide du sol réduit la perméabilité de la membrane plasmique racinaire en limitant la fluidité membranaire et l'activité des aquaporines, diminuant ainsi l'absorption racinaire. Des températures diurnes chaudes induisent un taux de transpiration élevé, alors que l'absorption racinaire est limitée par les températures froides du sol. Ces conditions climatiques sont susceptibles de générer une forte contrainte hydrique dans le xylème, se traduisant par des potentiels hydriques du xylème de plus en plus négatif. Lorsque $\Psi < \Psi_{\text{CRITIQUE}}$, l'embolie se propage dans les trachéides réduisant la conductance hydraulique. (ii) Lors de la prise en gel et du dégel, des embolies peuvent se former lorsque des bulles de gaz libérées de la glace se regroupent, se dilatent emplissant d'air les trachéides. La succession de cycles de gel-dégel peut favoriser la propagation de l'embolie, une baisse du potentiel hydrique et une augmentation de la contrainte hydrique. (iii) Contrainte hydrique qui induirait potentiellement une fermeture stomatique pour limiter les pertes d'eau élevées quotidiennes. Cependant, les pertes hydriques peuvent continuer à la suite des flux passifs à travers la cuticule des feuilles, l'écorce

et les stomates endommagés par la prise en glace. Ainsi, les aiguilles du Douglas peuvent dessécher progressivement depuis les extrémités des rameaux les plus jeunes, virant de l'orangé au brun-rouge.

Lorsque les arbres sont exposés aux basses températures et à une irradiance élevée, les photosystèmes absorbent plus d'énergie lumineuse qu'ils ne peuvent consommer. Si les conifères ont développé de nombreux mécanismes de photoprotection hivernaux, il se peut qu'ils soient dépassés. En conséquence, la cellule ne peut pas dissiper l'énergie lumineuse en excès, ce qui entraîne la génération de ROS donc **un stress photo-oxydatif**. L'accumulation de ROS peut endommager irréversiblement les membranes et les processus biochimiques, induisant une forte mortalité cellulaire, la dégradation de la chlorophylle a et le changement de la couleur des aiguilles du vert au brun rougeâtre.

La désacclimatation précoce peut avoir lieu lors de températures chaudes diurnes pendant plusieurs jours successifs. La concentration en glucides non structuraux dans les cellules vivantes diminue alors que la teneur en eau augmente. Ainsi, la température associée au point de congélation intracellulaire augmente, ce qui amplifie considérablement – en cas d'exposition à des épisodes gélifs – les dommages gélifs sur les bourgeons, les aiguilles et cellules cambiales. Des dommages cellulaires trop importants pourraient conduire à un rougissement de l'aiguille.

Les trois mécanismes proposés ne sont pas nécessairement exclusifs. Comme discuté dans le contexte de la défaillance hydraulique hivernale, les températures gélives nocturnes combinées à une intensité lumineuse élevée et des températures diurnes chaudes peuvent induire une baisse du potentiel hydrique. La fermeture stomatique, induite par un stress hydrique édaphique et/ou des températures froides et/ou trop élevées, limiterait la diffusion du CO₂ dans le mésophylle, épuisant ainsi le CO₂ intracellulaire (DeLucia 1986; Day et al. 1991). Le manque de substrat en CO₂ et les basses températures pourraient affecter l'ensemble du cycle de Calvin-Benson sans impacter directement les photosystèmes. Ainsi, si la fermeture stomatique pouvait limiter la contrainte hydrique, une intensité lumineuse élevée pourrait induire un stress photo-oxydatif dans les aiguilles, entraînant des dommages cellulaires par l'accumulation de ROS et par de la déshydratation.

La succession de cycle gel-dégel pourrait provoquer une baisse du potentiel hydrique conduisant à la déshydratation des parties distales de l'arbre. Si le Douglas est désacclimaté, les cellules cambiales pourraient être plus facilement endommagées par le gel avec la formation d'anneaux de gel. Les anneaux de gel pourraient induire un dysfonctionnement hydraulique, augmentant la vulnérabilité du xylème à l'embolie hivernale.

La diminution du contenu en NSC dans l'aiguille augmenterait la pression osmotique, permettant un flux d'eau facile de la cellule interne à l'externe. Comme la formation de glace est extracellulaire, le potentiel chimique de la glace attire l'eau du compartiment intracellulaire au compartiment extracellulaire, provoquant la déshydratation et l'effondrement cellulaire (Charrier et al. 2015). La réduction de la concentration en sucres cellulaires pourrait éliminer la rétro-inhibition potentielle de la photosynthèse, stimulant ainsi l'activité photosynthétique. La déshydratation peut être accentuée dans cette situation.

Pour prévenir le rougissement hivernal, les gestionnaires forestiers peuvent adopter différentes stratégies. Lors de la plantation d'un nouveau peuplement, une attention particulière à la disposition des racines pourrait éviter aux jeunes arbres de développer une conformation déséquilibrée du système racinaire. Le rougissement hivernal pourrait également être limité par une gestion sylvicole adaptée. La sélection d'une végétation d'accompagnement pérenne, comme le genêt, éviterait de grandes variations des variables climatiques environnementales (lumière, température, vent). Ainsi, l'utilisation d'une couverture forestière ou d'une végétation d'accompagnement avec de petits arbustes permettrait d'améliorer la stabilité du microclimat de la parcelle, en particulier lors des gels printaniers. Cela permettrait de limiter les dommages gélifs sur les jeunes Douglas, pendant au moins 4-5 ans (Aussenac 2000).

Partie II

Analyse bioclimatique des hivers à rougissement depuis 1989.

“En vérité,

Tout le monde improvise”

Charlie Mackesy



Introduction

Le rougissement hivernal, ou rougissement printanier, se distingue du rougissement estival, causé par des sécheresses ou événements caniculaires extrêmes. Il correspond à un rougissement des aiguilles, qui restent accrochées aux rameaux, sans faiblesse apparente de l'arbre. Le rougissement s'initie aux extrémités des rameaux puis se propage vers le centre de l'arbre, soit des aiguilles les plus jeunes jusqu'aux cohortes d'aiguilles les plus âgées. Si seules les aiguilles des verticilles supérieurs sont touchées, l'arbre peut survivre mais les conséquences restent irréversibles. Cela engendre un retard de croissance conséquent, une architecture déséquilibrée et compromet gravement son avenir sylvicole. Les arbres affaiblis peuvent également être atteints par certains pathogènes (rouille du Douglas, chermès, scolyte micrographe, armillaire) qui entraînent le dépérissement des arbres atteints (Samek et al. 2019). Si le houppier est entièrement rouge, des tâches rouges de nécrose apparaissent sur l'écorce, ce qui amène à la mort imminente de l'arbre affecté (Baubet et Goudet 2014).

Le rougissement hivernal du Douglas est un phénomène observé régulièrement en France depuis la seconde moitié du XX^{ième} siècle. Néanmoins, les observations de rougissement sont rigoureusement recueillies à l'aide de fiches remplies par les correspondant-observateurs de la Département Santé des Forêts (DSF) depuis 1989. Elles permettent de récupérer les données homogènes relatives au rougissement et au taux d'atteinte sur chaque parcelle rougissante. La littérature scientifique et forestière semble associer ce phénomène à des conditions climatiques particulières, dite « anticycloniques », c'est-à-dire des journées caractérisées par des températures journalières douces, des amplitudes thermiques élevées, des températures nocturnes gélives ainsi que des vitesses de vent au moins modérées (Partie I – §II.A). L'objectif de cette partie est donc d'identifier les conditions climatiques qui induisent ce phénomène de rougissement hivernal, afin de vérifier ou d'invalider les aléas climatiques suggérés par la littérature.

L'analyse des facteurs de risque se fera à partir de la base de données fournie par le DSF, qui regroupe les observations de rougissement hivernal sur l'ensemble du territoire français, combinée aux données climatiques de Météo France à l'échelle de 8km*8km. Une approche sans *a priori* va permettre de déterminer des anomalies climatiques, et d'apporter des informations sur les variables qui pourraient concomitamment créer un aléa, susceptible d'induire un désordre physiologique. C'est ce dernier qui conduit le jeune Douglas au rougissement. Cette analyse climatique a été initiée préalablement à ma thèse, dans le cadre du stage de Master 2 de Manon Duvauchelle, dirigé en co-tutelle par Guillaume Charrier (INRAE) et Médérie Aubry (ONF).

I. Matériels & méthodes

A. Bases de données utilisées

▪ *Observation du rougissement de la base de données du DSF*

La base de données, construite par le DSF, comprend à l'échelle nationale des observations de tous désordres pathologiques ou physiologiques de 1989 à 2019. Les données collectées par les correspondants-observateurs du DSF à l'aide de formulaires types (DRAAF 1997 ; 2010 ; ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt 2009 – Figure sup 2) en France métropolitaine, dans les régions où le Douglas est présent et touché par le phénomène de rougissement physiologique. Les bases de données sont présentées sous deux formats différents : le premier de 1989 à 2006 et le second depuis 2006.

Les différentes informations rapportées pour chaque observation de rougissement concernent la date d'observation, la localisation de la parcelle, son altitude, sa surface, son âge, le type de forêt (publique/privée), le type de peuplement, l'essence dominante, l'essence affectée par le problème sanitaire, le pourcentage de tiges affectées et le degré de sévérité (échelle de 0 à 4). La présentation des facteurs de site liés au rougissement se concentre sur les observations effectuées entre janvier et mai, afin de garantir que les données relatives au rougissement estival ne soient pas incluses dans l'analyse. Les informations géographiques et topologiques, telles que la localisation avec coordonnées GPS, l'altitude, l'exposition et la topologie, ont été ajoutées à l'aide des portails Geoportail (<https://www.geoportail.gouv.fr>) et Google Earth (<https://earth.google.com>). Bien que les provenances ne soient pas toujours connues et précisées, la provenance Luzette représente environ 80% de la ressource.

Ainsi, les données relevées par le DSF regroupent uniquement des cas positifs, *i.e.* des parcelles ayant rougies partiellement ou totalement. Le rougissement hivernal n'étant visible que de fin-février à juin, les observations de juillet à décembre ont été exclues de l'analyse afin de retirer tout rougissement potentiellement induit par la sécheresse estivale.

▪ *Données climatiques*

Les données climatiques ont été obtenues auprès de Météo France et téléchargées via la plateforme SICLIMA développée par AgroClim-INRAE. Ces données portent sur la période 1959-2016 sur la France entière, à une résolution de 8 x 8km (maille Safran, MétéoFrance). La base de données associe des données climatiques quotidiennes (CodeC, NomC, UnitéC) aux caractéristiques de la maille (CodeM, NomM, UnitéM ; Tableau 1)

Tableau 1: Liste des variables climatiques quotidiennes (CodeC, NomC, UnitéC) et celles caractéristiques de la maille (CodeM, NomM, UnitéM).

CodeC	NomC	UnitéC	CodeM	NomM	UnitéM
Tmin	Température minimale	°C	Lat	Latitude	DD
Tmax	Température maximale	°C	Long	Longitude	DD
Tmean	Température moyenne	°C	Alt	Altitude	m
Rad	Rayonnement visible	Cumul, J.cm ⁻²	Hcc	Humidité à la capacité au champ	%
SH	Précipitations solides	Mm	Hpf	Humidité du point de flétrissement	%
RF	Précipitations liquides	Mm	Pro	Profondeur du sol	cm
Q	Humidité spécifique	g.kg ⁻¹	Rumax	Réserve utile maximale	mm
RH	Humidité relative	%	Rumin	Réserve utile minimale	mm
WS	Vitesse du vent à 10 m	m.s ⁻¹	Ru	Réserve utile moyenne	mm
SFG	Fraction d'eau gelée dans le sol	%	--	--	--
SRH	Humidité relative du sol	%	--	--	--
PET	Evapotranspiration potentielle	Mm	--	--	--
SH	Hauteur de neige	Mm	--	--	--

▪ *Choix des variables climatiques*

Les variables suivantes ont été sélectionnées en lien avec les hypothèses de l'étude : température moyenne journalière (Tmean - °C), température minimale journalière (Tmin - °C), température maximale journalière (Tmax - °C), vitesse du vent (WS – m.h⁻¹), rayonnement journalier (Rad - J.cm⁻²), précipitations liquides journalière (RF - mm), taux d'humidité du sol (SRH - %), fraction d'eau gelée dans le sol (SFG - %), hauteur de neige sur le sol (SH – mm) et l'évapotranspiration potentielle (PET).

Le temps thermique (GDD - °C. jour⁻¹) correspond à la somme des températures moyennes journalières entre le premier janvier et le jour étudié par le modèle. Cette variable reflète l'effet cumulé des températures pour le développement phénologique de l'arbre. Le nombre de jour de gel a été calculé entre le 1er juillet de l'année précédente et la date étudiée (FD – jours). La somme de l'évapotranspiration (PETcum), la somme du taux de précipitation (RFcum) ainsi que la balance hydrique (WB = RF-PET en mm) a été calculée en cumulé afin de se rendre compte d'un éventuel déficit hydrique environnemental. L'amplitude thermique (dT - °C) a été également été calculée en faisant la différence entre la température maximale et la température minimale journalière.

- ***Lien entre les observations de rougissement et les données climatiques***

Les observations ont été géolocalisées sur un fond de carte OpenStreetMap (© les contributeurs d'OpenStreetMap) en utilisant le logiciel de SIG (systèmes d'information géographique) QGIS (QGIS.org 2020). 272 observations de rougissement, avec 218 sites de rougissement et 318 observations de terrain (plus d'un rougissement peut être observé dans un point la même année), ont été analysées.

B. Analyse statistique

- ***Détermination du z-score ou score standard***

Le z-score normalisé est un paramètre qui mesure la force des valeurs extrêmes ou évalue la différence entre un score spécifique et un score standard. Il correspond à l'écart normalisé par rapport à la valeur moyenne, calculé pour chaque variable climatique en fonction de la moyenne et de l'écart-type observé le même jour de l'année dans les 218 sites de rougissement en France. Deux types d'analyses ont été menées. Dans un premier temps, nous avons analysé les variations inter-sites annuelles c'est-à-dire que nous estimons l'impact global des variations climatiques, les années avec et sans rougissement, en considérant tous sites indifféremment. Dans un second temps, nous avons considéré les impacts des variables climatiques sur chaque site individuellement (variation intra-site pour chaque année).

Deux plages temporelles ont été considérées pour chaque observation de rougissement, c'est-à-dire qu'à partir de chaque date d'observation - comprise entre le 15 février et le 31 mai – ont été retranchées soit 152 jours soit 200 jours.

➔ Tred_152 : qui permet de couvrir la période depuis octobre jusqu'à mai.

➔ Tred_200 : qui permet de couvrir la période depuis aout jusqu'à mai.

Cette approche temporelle permet de regarder si le rougissement est observé directement à la suite d'anomalies climatiques ou bien s'il y a un « lag » entre les anomalies climatiques observables et les observations de rougissement. En effet, nous avons présumé que le rougissement était une conséquence des conditions hivernales particulières (dires d'expert et observations de rougissement) mais cette approche permet d'explorer la temporalité et d'éventuels aléas climatiques ayant lieu lors de la saison estivale ou automnale précédant l'hiver à rougissement.

La moyenne et l'écart type, permettant de calculer le z-score, ont été calculés au pas de temps journalier, sur l'ensemble des données météorologiques (58 ans) et pour chaque maille à l'aide des formules suivantes :

$$(1) \mu = \frac{\sum_{i=1}^n (xi)}{n}$$

Avec μ la moyenne, x_i la variable calculée et n le nombre d'années.

$$(2) \sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \mu)^2}{n-1}}$$

Avec σ l'écart type, x_i le paramètre calculé et n le nombre d'années.

$$(3) z = \frac{(x_i - \mu)}{\sigma}$$

Cette opération, réalisée pour chaque variable climatique, aura pour effet de centrer la moyenne de la distribution sur 0 et de réduire l'écart-type sur 1. On obtient ainsi une distribution des scores dite « centrée réduite » où chaque score z exprime directement la « distance » d'une variable d'un hiver à rougissement à la moyenne de la variable lors d'un hiver asymptotique, en nombre d'écart-type. Un z -score peut être positif ou négatif, indiquant respectivement si la valeur est supérieure ou inférieure à la moyenne des années asymptotiques, pour une variable donnée.

▪ *Détermination du nombre d'anomalies climatiques*

Une anomalie climatique est définie comme une valeur située dans les 5 % les plus basses ou les 5% les plus élevées, sous l'hypothèse d'une distribution normale, soit $z < -1.654$, soit $z > +1.654$.

Pour chaque variable, le nombre d'anomalies a été calculé au pas de temps journalier pour chaque année et point de maille. Deux plages temporelles ont été considérées (*cf.* § précédent).

▪ *Tests statistiques*

Le z -score ainsi que le nombre d'anomalies positives et négatives ont été calculés pour chaque variable lors des années avec rougissement (symptomatiques) et les années sans (asymptomatiques) pour chaque site et pour tous les sites. La proportion d'anomalies a été comparée entre les années symptomatiques et les autres années. La distribution des anomalies ne suivant pas une distribution normale (test de Shapiro-Wilk, P -value > 0.05), nous avons utilisé un test non paramétrique (test de Wilcoxon-Mann-Whitney) afin de tester l'hypothèse nulle suivante : les deux médianes de deux groupes de données sont égales.

II. Résultats de l'analyse climatique

■ Analyse des z-scores

Pendant la période du rougissement hivernal (DOY_152), la plupart des variables climatiques quotidiennes sont écartées de la moyenne des trois décennies (Figure 12). Dans un site, le z-score est positif pour l'évapotranspiration potentielle (PET ; 0,138), le rayonnement dans le visible (Rad ; 0.126), la température maximale (Tmax ; 0.103), l'amplitude thermique (dT ; 0.084), la température moyenne (Tmean ; 0.079), la vitesse du vent (WS ; 0.074) et la température minimale (Tmin ; 0.045 ; Figure 12A). Le z-score est négatif pour l'humidité du sol (SRH ; -0.106) et l'humidité relative de l'air (RH ; -0.086), la hauteur de neige (SH ; -0.063), la fraction d'eau gelée dans le sol (SFW ; -0.049) et les précipitations (RF ; -0.028).

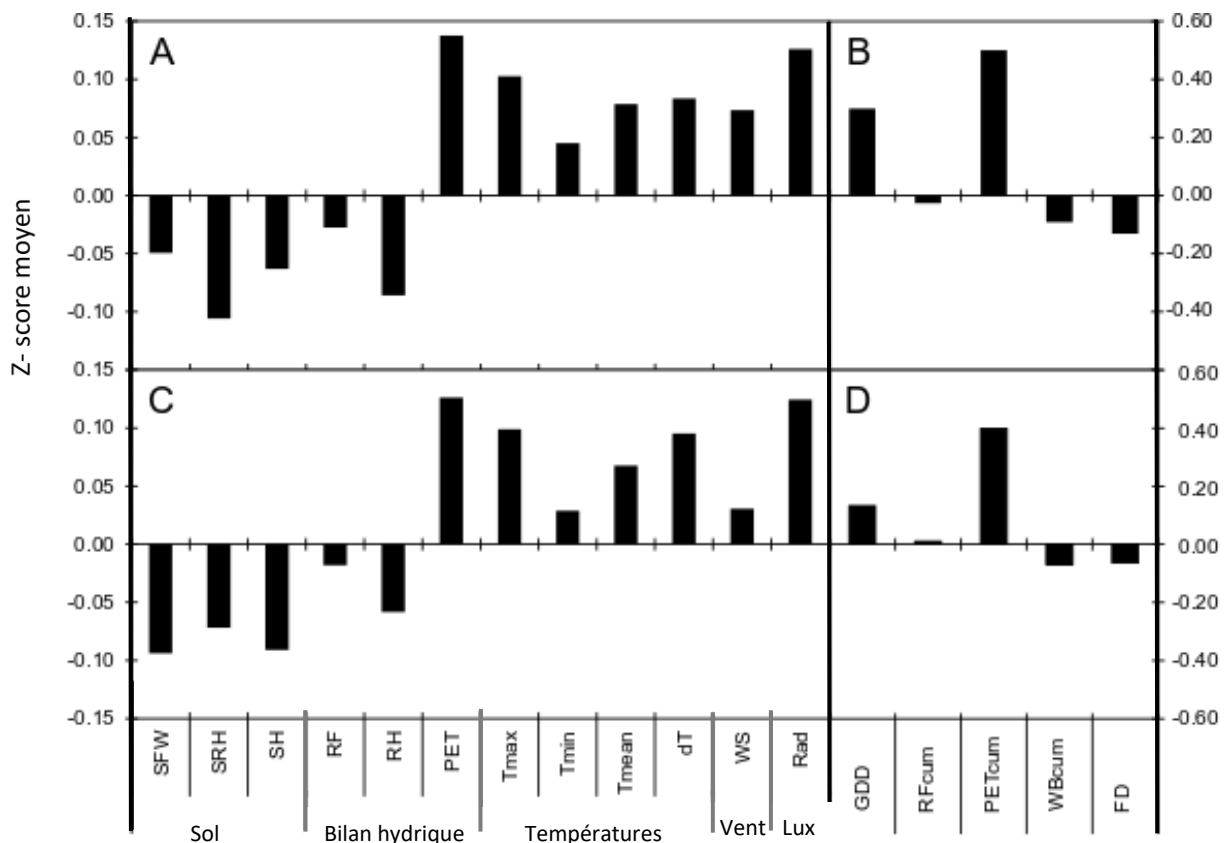


Figure 12: Tred – 152 : Z-scores moyens pendant les années de rougissement pour différentes variables climatiques quotidiennes (A, C) et cumulées sur la fin de l'hiver et le début du printemps (B, D). Les z-scores journaliers ont été calculés en utilisant la moyenne et l'écart-type pour chaque site (A, B) ou pour l'ensemble des sites (C, D). SFW est le taux d'eau gelée dans le sol, SRH l'humidité relative du sol, SH la hauteur de neige, RF la chute de pluie, RH l'humidité relative de l'air, PET l'évapotranspiration potentielle, Tmax, Tmin et Tmean les températures maximale, minimale et moyenne, dT l'amplitude thermique, WS la vitesse du vent, Rad le rayonnement solaire, GDD le temps thermique, RFcum les précipitations cumulées, PETcum l'évapotranspiration potentielle cumulée, WBcum le bilan hydrique cumulé et FD le nombre de jours de gel.

Sur l'ensemble de la période, le temps thermique cumulé (GDD) et le PET cumulé sont supérieurs à la normale (0.300 et 0.501). Le z-score moyen est négatif pour l'humidité relative du sol (SRH ; -0.106) et de l'air (RH ; -0.086), la hauteur de neige (SH ; -0.063), la fraction d'eau gelée dans le sol (SFW ; -0.049) et les précipitations (RF ; -0.028). Les précipitations cumulées (RFcum), le bilan hydrique (WBcum) et le nombre de jours de gel (FD) sont inférieurs à la normale les années de rougissement (-0.026, -0.091 et -0.131, respectivement). La variabilité inter-site et intra-site sont très similaires, quelle que soit la variable considérée.

Ainsi, les variables climatiques qui évoluent entre des années à rougissement par rapport à des années sans sont : Tmax, PET, Rad et dT, SRH et RH. Si SRH et RH sont moins élevés en cas de rougissement, Tmax, PET, Rad et dT sont plus élevés.

- **Combien de jours avec anomalies sur les variables climatiques testées les années avec - sans rougissement ?**

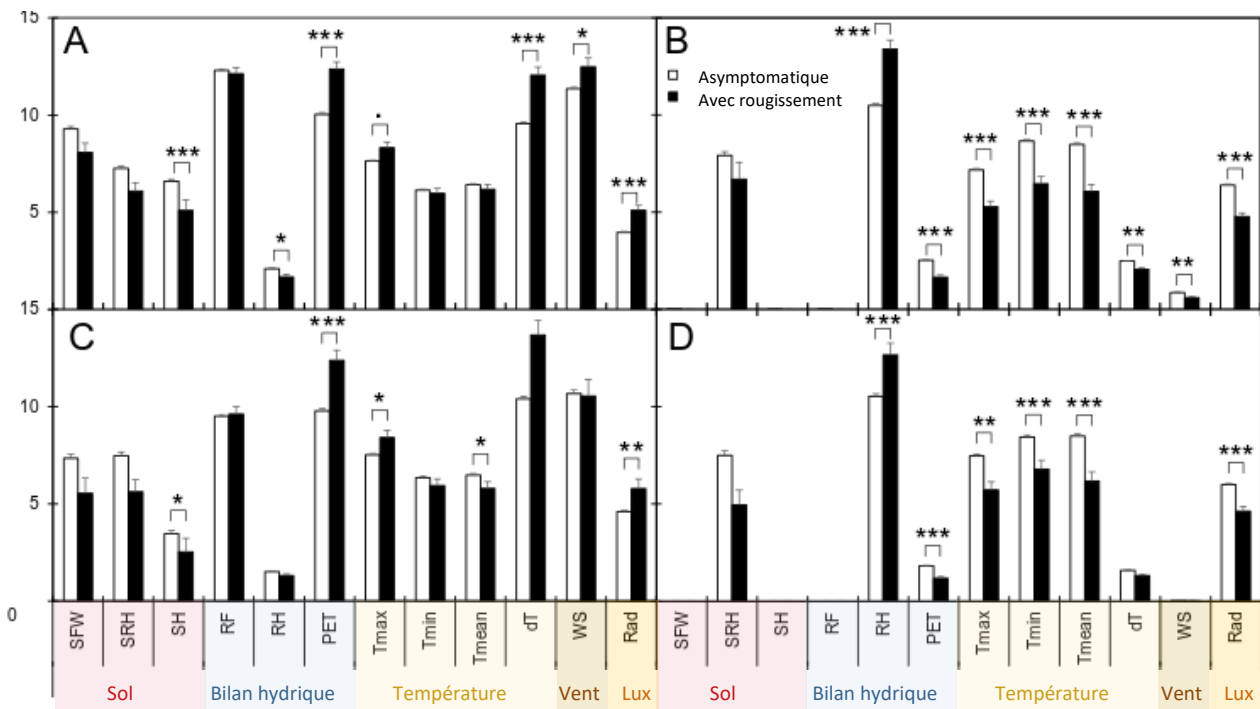


Figure 13 : DOY_152 : Nombre de jours avec anomalies positives (A, C) et négatives (B, D) pendant les années asymptotiques (barres blanches) et les années de rougissement (barres noires). Les anomalies ont été calculées en utilisant le z-score journalier pour chaque site (A, B) ou pour l'ensemble des sites (C, D) avec ± 1.645 comme seuil. SFW est le rapport de l'eau gelée du sol, SRH l'humidité relative du sol, SH la hauteur de neige, RF les précipitations quotidiennes, RH l'humidité relative, PET l'évapotranspiration potentielle, Tmax, Tmin et Tmean respectivement le maximum, le minimum et la moyenne quotidienne, dT l'amplitude thermique quotidienne, WS la vitesse du vent et Rad le rayonnement solaire quotidien dans le domaine visible. Les symboles correspondent à la valeur P selon le test non paramétrique de Wilcoxon : P < 0,1 ; *P < 0,05 ; ** P < 0,01 ; *** P < 0,001.

Le nombre d'anomalies positives, pendant les années de rougissement, est significativement plus élevé pour PET, dT, WS et Rad, Tmax et significativement plus faible pour SH et RH (Figure 13A). Pour tous les sites, des différences similaires ont été observées pour quasi toutes les variables à l'exception de WS et de RH (Figure 13C). Quant aux jours avec nombre d'anomalies négatives, seule la variable RH apparaît comme étant significativement plus élevée les années symptomatiques tandis que les variables Tmax, Tmin, Tmean, dT, PET et Rad sont plus élevées lors d'années asymptomatiques (Figure 13B). Pour tous les sites, des différences similaires ont été observées pour quasi toutes les variables à l'exception de dT (Figure 13D).

Parmi toutes les variables, seules six présentent **un nombre de jours significativement plus important avec anomalies** positives ou négatives, que ce soit au sein d'un même site ou entre les sites, pendant les années de rougissement : **RH, PET, Tmax, dT, WS et Rad.**

▪ **Estimation de la date de l'aléa déclencheur du rougissement**

Le rougissement semble pouvoir être prédit lorsque les variables Rad, WS, PET, Tmax sont concomitamment positives et RH négative. Le z-score établi, sur une plage temporelle plus longue, *i.e.* Tred-200, soit 200 jours avant la date du rougissement observé, montre un effet retardé des anomalies climatiques pour ces six variables (Figure 14). Pour PET, Tmax, dT et Rad, la dynamique du z-score est variable avant les observations du rougissement, c'est à dire qu'il augmente fortement pour atteindre un maximum autour du jour 60 avant l'observation du rougissement pour diminuer progressivement et se stabiliser sur la durée temporelle de 60 jours à 200 jours avant l'observation du rougissement. Pour RH, la dynamique est contraire mais similaire, c'est-à-dire que le z-score diminue fortement jusqu'au jour 60 pour augmenter et se stabiliser du jour 60 à 200. Le z-score moyen le plus élevé (PET, Tmax, dT et Rad) et le plus faible (RH) a été observé environ deux mois avant l'observation du rougissement (63 à 65 jours). Pour WS, le z-score le plus élevé est observé seulement après 3 jours et une diminution autour de la valeur nulle sur une durée plus longue.

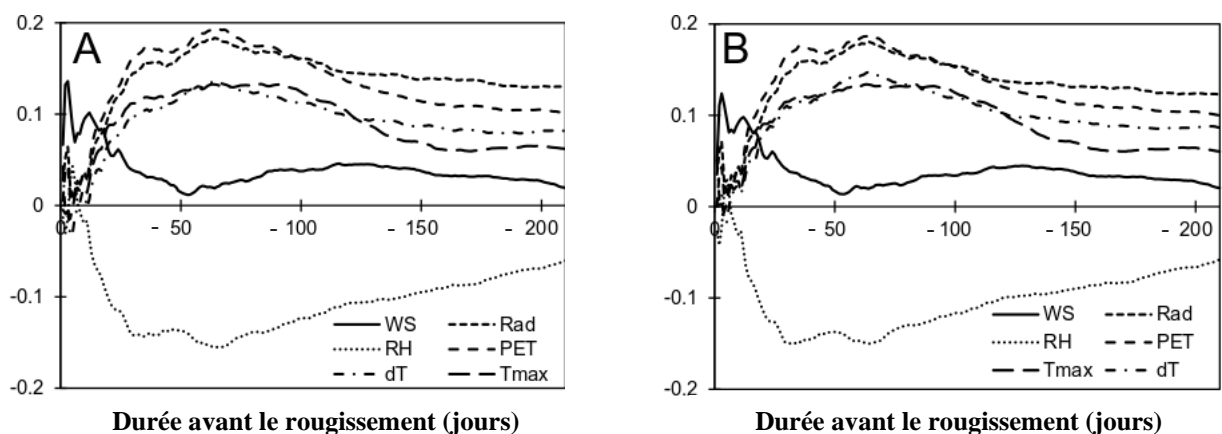


Figure 14 : Z-score des variables climatiques sélectionnées sur 200 jours avant l'observation du rougissement, fixée au jour 0, pour chaque site (A) ou entre les sites (B) : RH l'humidité relative, PET l'évapotranspiration potentielle, Tmax la température maximale, dT l'amplitude thermique quotidienne, WS la vitesse du vent et Rad le rayonnement solaire quotidien dans le domaine visible.

III. Discussion

- ***Années à rougissement : des hivers plus doux caractérisés par un aléa climatique au cours du mois de janvier***

L'analyse bioclimatique du rougissement hivernal chez le Douglas a permis de sélectionner cinq variables climatiques impliquées dans le rougissement hivernal à savoir la température maximale, l'humidité de l'air, l'amplitude thermique, le rayonnement et la vitesse du vent. L'évapotranspiration fait aussi partie des variables climatiques qui changent entre les hivers avec ou sans rougissement. Cependant, comme elle résulte de la température et de l'humidité, elle ne peut être considérée comme une variable climatique indépendante, pas comme une variable climatique au sens strict. Par conséquent, les hivers à rougissement sont caractérisés par des températures de l'air plus chaudes, une humidité de l'air plus faible et un rayonnement plus élevé que les années asymptomatiques, de janvier à mai (cf. Figure 13). Ainsi, une température maximale plus élevée lors des années à rougissement combinée à une température minimale similaire à celle des années normales entraîne une plus grande amplitude thermique quotidienne.

La dynamique d'évolution des cinq variables climatiques de novembre à mai suggère que le dysfonctionnement climatique se produit deux mois avant les observations du rougissement hivernal *i.e.* début janvier. Ainsi, la réponse du Douglas à la somme de toutes ces anomalies climatiques se traduit par une décoloration de l'aiguille deux mois plus tard.

La vitesse du vent est un paramètre climatique qui semble jouer un rôle uniquement lorsque l'on compare les années avec et sans rougissement sur un même site, ce qui suggère que la vitesse du vent doit changer en fonction des caractéristiques stationnelles de la plantation. Nous notons une anomalie dans la vitesse du vent quelques jours avant l'observation de rougissement, ce qui pourrait être un élément déclencheur du rougissement ou bien un artefact de mesure.

- ***Hiver à rougissement : entre des températures maximales élevées et des événements gélifs similaires aux hivers asymptomatiques***

Un hiver à rougissement est caractérisé par **des températures maximales plus élevées** que les températures saisonnières habituelles. Or, des températures maximales élevées peuvent sur une courte période induire la désacclimatation au froid des arbres (DeHayes et al. 1990 : 45 heures à 15°C pour *Picea rubens*). Chez le Douglas, une fois que les besoins en froid sont satisfaits et que l'endodormance est levée, des températures de l'air supérieures à +5°C suffisent à déclencher la désacclimatation des pousses (Bailey et Harrington 2006). Quand l'arbre est désacclimaté au froid, il est plus vulnérable aux épisodes de gels, susceptibles d'induire des dommages gélifs sur les aiguilles et les rameaux qui seraient

moins résistants au froid (Man et al. 2009). Ainsi, même si les températures minimales ou les jours gelés sont moins importants les années avec rougissement (Figure 12 B-D), une désacclimatation précoce peut rendre le Douglas plus vulnérable à des épisodes gélifs même s'ils sont plus rares et moins forts (températures minimales atteintes plus élevées que les années sans rougissement).

- ***Hiver à rougissement : Amplitude thermique journalière élevée & sécheresse de l'air***

Un hiver à rougissement est caractérisé par **une amplitude thermique journalière plus élevée** ainsi qu'une **température maximale plus élevée** qu'un hiver sans rougissement (Tmax, dT, Figure 13A-C). Des températures de l'air supérieures à 5°C favoriseraient la photosynthèse hivernale, donc la transpiration du Douglas (Guehl et al. 1985). De plus, **un faible taux d'humidité de l'air** (RH ; Figure 13B-D) associé avec des températures chaudes induit un VPD (déficit de pression de vapeur) élevé, générant une plus forte demande évaporative (Figure 13). Ainsi, l'ouverture contrôlée des stomates dans un premier temps, combinée avec des flux hydriques passif via la transpiration cuticulaire, pourrait génère une évapotranspiration potentielle élevée (PET).

Une amplitude thermique élevée, couplée à des températures maximales élevées, atteste d'une exposition à des températures minimales froides et même gélives, dans le même ordre de grandeur que celles des années sans rougissement. De plus, la présence d'une couverture neigeuse (SH ; Figure 14A-C) bien que moins importante les années avec rougissement, induit une faible conductivité thermique. Une couche de neige agit alors comme un isolant thermique. Gold (1963) souligne que la couverture neigeuse est la principale raison pour laquelle la température annuelle moyenne du sol est de plusieurs degrés plus chaude que la température annuelle moyenne de l'air dans les régions froides (Gold 1963). Ainsi, la température du sol est maintenue à des températures basses, rarement inférieures à -2°C dans les premiers horizons du sol (Prévost et al. 1989). **Ainsi, si les températures de l'air peuvent connaître de grandes variations thermiques, les températures du sol restent froides et stables en hiver.** Pour des températures inférieures à 8°C, l'absorption racinaire est limitée (Améglio et al. 2002 ; Mellander et al. 2006), même si le sol n'est pas gelé. Par conséquent, une demande évaporative élevée pourrait entraîner des pertes hydriques élevées, via les stomates et la cuticule, non compensées par l'absorption racinaire dans un sol froid. Ces deux phénomènes simultanés pourraient engendrer une diminution importante du potentiel hydrique de la sève du xylème. Lorsque la pression de sève du xylème atteint un seuil critique et devient trop négative, le fonctionnement hydraulique est altéré par la cavitation du xylème (Cochard 2006). La rupture de la colonne d'eau est généralement suivie de l'embolie des trachéides qui ne contribuent plus à l'alimentation hydraulique de l'arbre, entraînant la déshydratation des verticilles supérieurs.

Mayr et al. (2003 ; 2007) souligne qu'un nombre important de cycle gel-dégel (à partir d'une trentaine de cycle gel-dégel potentiel) pourrait induire un niveau d'embolie létal pour les trachéides des

conifères. Ainsi, le nombre d'épisodes gélifs est pris en compte dans notre analyse via le nombre de jours gelés, qui étant plus faible les années avec rougissement, ne semble pas constituer un facteur décisif dans la genèse d'un stress hydrique suffisant pour entraîner un rougissement hivernal. Néanmoins, l'impact du nombre de gel-dégel est exacerbé par l'induction d'un stress hydrique préalable de l'arbre due à une forte demande évaporative au préalable (Mayr et al. 2003 ; 2007), ou d'une désacclimatation précoce, rendant l'arbre plus vulnérable à des épisodes gélifs même ponctuels. Ainsi, il est difficile de conclure que le nombre de cycles gel-dégel n'interfère pas avec le phénomène de rougissement hivernal du Douglas, bien que cette variable ne semble pas être essentielle.

Les températures minimales ne sont pas plus froides les années avec rougissement que les années sans, mais des températures gélives nocturnes pourraient endommager les stomates, limitant leur fermeture. La régulation stomatique hivernale étant moins performante qu'en été (Zweifel et al. 2007), des flux hydriques incontrôlés peut avoir lieu via l'écorce, la cuticule et des stomates moins fonctionnels (Duursma et al. 2019) malgré une absorption racinaire très limitée. Par conséquent, le Douglas pourrait connaître une très forte contrainte hydrique induisant une défaillance hydraulique des parties distales de l'arbre, susceptibles de rougir par la suite (*cf.* Partie I - §III.A).

- ***Hiver à rougissement : Un rayonnement très important induisant un stress photo-oxydatif ?***

Un hiver à rougissement est caractérisé par **des intensités lumineuses plus élevées** que les intensités lumineuses hivernales habituelles. Elles peuvent perturber la photosynthèse, résultant en une absorption lumineuse plus élevée par les photosystèmes mais qui ne sera pas potentiellement pas entièrement assimilée par la chaîne photosynthétique (Ensminger et al. 2006). Même s'il existe chez les conifères des mécanismes de photoinhibition très efficaces (Chang et al. 2021), des amplitudes thermiques élevées peuvent les inhiber, ce qui favorise la propagation de ROS et de dommages cellulaires dans les aiguilles (Adams et Demmig-Adams, 1994 - Partie I - §III.B). Des taux de dommages cellulaires trop importants peuvent aboutir à la dégradation de la chlorophylle et potentiellement à un rougissement de l'aiguille (Guadagno et al. 2017). Ainsi, un stress photo-oxydatif peut résulter de ces variables environnementales (*cf.* Partie I - §III.B).

- ***Hiver à rougissement : La vitesse du vent, un rôle déclencheur ou négligeable ?***

La vitesse du vent est un paramètre qui ne ressort que dans la comparaison intra-site (Figure 13 A-C, WS), ce qui souligne que le lien étroit entre la variable et la topographie de la parcelle. Certaines plantations doivent être balayées par les vents, présentant des zones ouvertes sans lisière(s) adjacente(s) – crête – par exemple. Le vent peut réduire la résistance de la cuticule et peut donc augmenter la perte d'eau dans une mesure critique. L'abrasion des cuticules, par les particules de glace, peut même être

totale (Hadley et Smith 1983; 1986; Hadley et Amundson 1992; Dahms 1992). Comme les arbres vulnérables en rougissement présentent des hauteurs d'a minima 1 m-1.5 m, il est possible qu'un vent accru accentue les conditions météorologiques anticycloniques. Néanmoins, l'occurrence de cette variable climatique trois jours avant l'observation de rougissement soulève des questions sur sa pertinence. Ainsi, si la perte en eau des aiguilles peut être accélérée par une forte vitesse de vent, le rôle du vent comme « déclencheur », ne semble pas être évident.

- ***Pourquoi un rougissement seulement quand l'ensemble des conditions sont réunies ?***

Le rougissement hivernal semble être la conséquence de la somme de ces cinq paramètres climatiques, à un moment précis. Ainsi, il est envisageable qu'une faible humidité de l'air, couplée à des températures maximales élevées, peut entraîner une transpiration accrue du Douglas (visible à travers une évapotranspiration accrue pendant les hivers à rougissement). Des amplitudes thermiques élevées peuvent à la fois suggérer des basses températures racinaires mais aussi des gelées nocturnes. Or, des stomates partiellement ou complètement dysfonctionnels favoriseraient des pertes hydriques très élevées pour les aiguilles. Des intensités lumineuses importantes peuvent engendrer un stress photo-oxydatif sur des arbres déjà sous contraintes hydriques. De fortes vitesses de vent peuvent accélérer le dessèchement des aiguilles quelques jours avant l'observation des symptômes de rougissement. Ainsi, un stress hydrique, amplifié par un stress photo-oxydatif et/ ou des vents forts, pourrait induire une forte contrainte hydrique, et des dommages cellulaires létaux.

- ***Limites de cette analyse climatique***

La première limite notable de ce travail se situe autour des observations à rougissement en elles-mêmes. En effet, il y a une incertitude quant aux dates de rougissement effectif par rapport aux observations : les observations de rougissement n'ont pas été réalisées le lendemain de l'apparition du syndrome mais potentiellement avec une, deux semaines, un mois ou plus de retard. Cette incertitude peut modifier la datation de l'aléa climatique par rapport à la date d'observation du rougissement, qui pourrait présenter un décalage de plusieurs jours. La seconde limite se trouve au niveau des données météorologiques et de la maille SICLIMA, qui estime les paramètres climatiques tous les 8 km². Cette maille ne permet de caractériser finement le macroclimat à l'échelle de la parcelle en altitude où les températures/ rayonnement peuvent fluctuer fortement d'un versant à l'autre.

Nous avons choisi d'étudier le rougissement hivernal via une analyse sans *a priori* des séries climatiques, jours par jours. Néanmoins, une analyse *a priori*, c'est-à-dire qui découlerait directement des mécanismes susceptibles d'induire un rougissement, pourrait être une autre approche. Pour ce faire, il serait pertinent de créer une séquence climatique susceptible d'induire un rougissement hivernal dont nous pourrions tester l'occurrence dans la base de données climatiques.

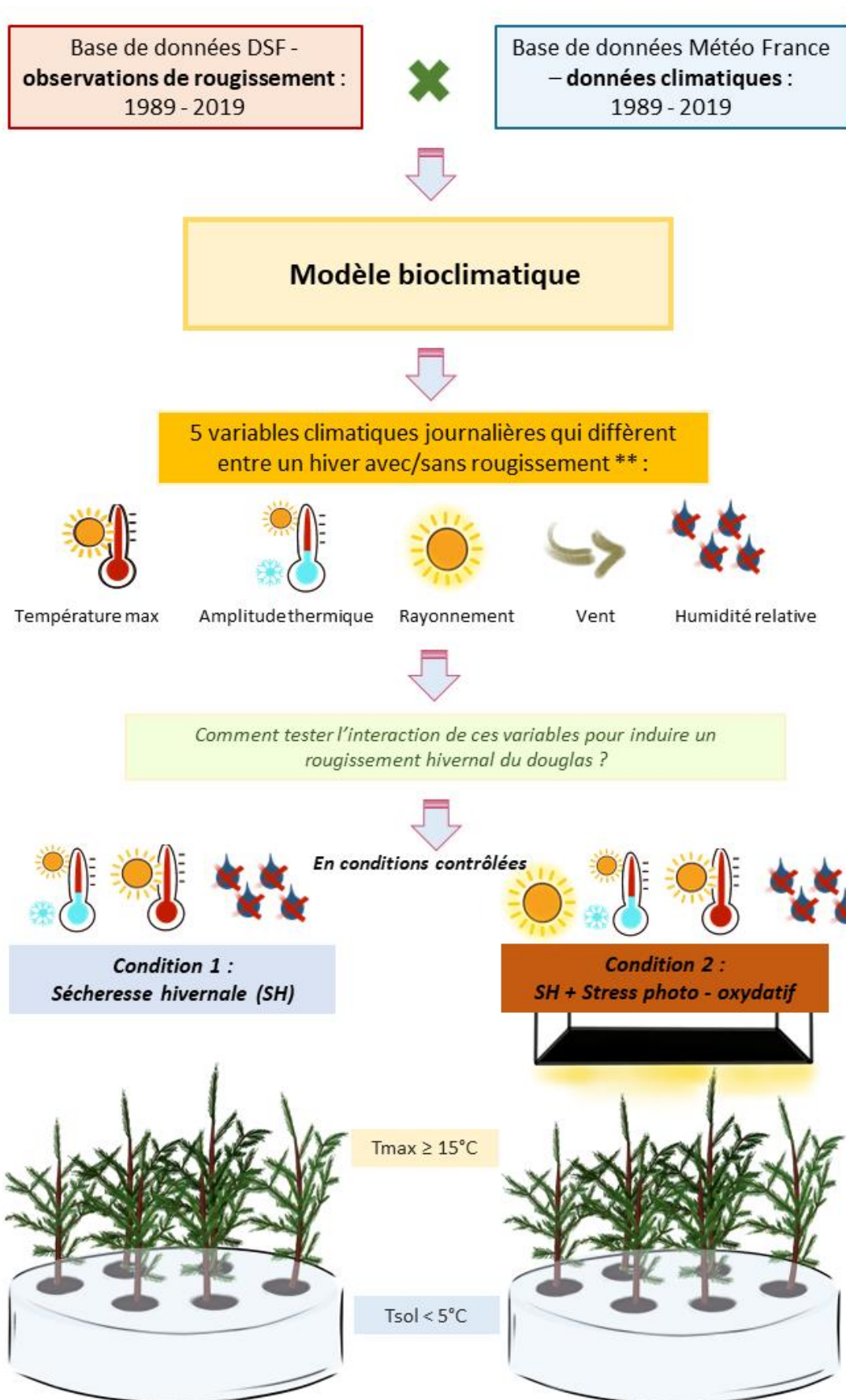
Conclusion

Pour conclure, nous avons proposé une analyse bioclimatique du rougissement hivernal qui permet de relier les données climatiques avec des données d'observations de rougissement terrain sur trente hivers successifs *i.e.* depuis 1989. Cinq variables journalières ont émergé des années symptomatiques à savoir la température maximale, l'amplitude thermique, le rayonnement, l'humidité relative de l'air et la vitesse du vent. Les variations de ces variables climatiques convergent pour montrer qu'un aléa climatique particulier a lieu deux mois avant les observations de rougissement soit courant janvier. Ainsi, un hiver avec rougissement semble se caractériser par une forte intensité lumineuse, des températures maximales supérieures à la moyenne, ce qui résulte en une amplitude thermique importante pour des températures minimales et des événements gélifs similaire aux hivers sans rougissement. De plus, l'humidité de l'air est plus faible couplée avec une vitesse du vent plus élevée.

L'analyse climatique suggère que des hivers à rougissement seraient plus chauds, plus venteux, plus secs et plus ensoleillés que des hivers normaux. Cette analyse climatique ne semble pas nous amener préférentiellement vers un des mécanismes inducteurs du rougissement en particulier, *cf.* partie 1., mais semble suggérer qu'ils ne sont pas exclusifs : il pourrait y avoir une désacclimatation précoce au froid tout en ayant un fort stress hydrique hivernal. En effet, même si les événements gélifs ne semblent pas être l'élément clé qui induirait de l'embolie du xylème, il est possible que de fortes variations thermiques au niveau de l'aiguille liées à des températures du sol stables et froides (couche de neige isolante et/ou inertie thermique du sol élevée) pourraient engendrer une contrainte hydrique. En effet, des températures chaudes pourraient favoriser les pertes d'eaux diurnes au niveau du houppier par la transpiration stomatique ou cuticulaire tandis que les températures basses du sol (non nécessairement gelé) limiteraient l'absorption racinaire. Ces conditions définissent la sécheresse hivernale. Ce phénomène pourrait se retrouver amplifié par un fort rayonnement, susceptible d'induire un stress photo-oxydatif qui pourrait endommager fortement les aiguilles.

Pour tester l'effet des cinq variables climatiques identifiées dans cette partie, nous avons mis en place des expérimentations en conditions contrôlées sur des jeunes Douglas, qui seront l'objet du chapitre 1 de la partie 3. L'objectif principal est de reproduire le rougissement en induisant une sécheresse hivernale *i.e.* en exposant de jeunes Douglas à des températures racinaires inférieures à 5°C et des températures d'air maximales élevées, des conditions variables d'exposition lumineuse, une faible humidité relative afin d'induire une transpiration importante du Douglas, tout en bloquant l'absorption racinaire (Figure-bilan, p.13). Mesurer les désordres physiologiques découlant de ces conditions environnementales particulières permettrait de mieux comprendre la physiologie hivernale du Douglas.

FIGURE - BILAN



** hauteur du couvert neigeux, fraction du sol gelé, nombre de cycle gel-dégel légèrement inférieurs lors des hivers avec rougissement => sol froid quelque soit les hivers

Partie III

Etude du rougissement physiologique du Douglas en conditions contrôlées.

L'arbre est devant la fenêtre du salon.

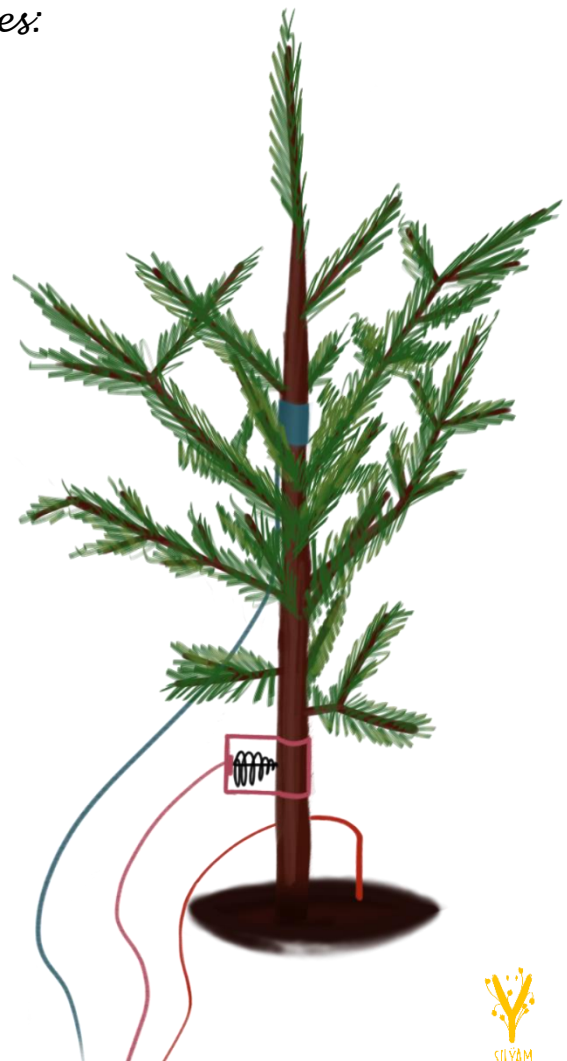
Je l'interroge chaque matin :

- " Quoi de neuf aujourd'hui ?"

*Et la réponse vient sans tarder,
donnée par des centaines de feuilles:*

- " Tout. "

Christian Bobin



Cette partie se concentre sur la genèse d'un rougissement et du suivi de la réponse physiologique de plants de Douglas en conditions contrôlées. Pour ce faire, lors de l'hiver 2021 et 2022, une trentaine d'arbres sous serre ont été instrumentés et suivis pendant plusieurs semaines consécutives. Ils ont été exposés à des conditions environnementales, préalablement identifiées comme stressantes (*cf.* : Partie II), pouvant engendrer un rougissement des aiguilles. Si le rougissement étudié dans le cadre de cette thèse a lieu en fin d'hiver – début du printemps, nous savons que les aiguilles du Douglas peuvent aussi rougir en réponse à une sécheresse édaphique en été (Guadagno et al. 2017). En conséquent, l'étude de la physiologie du Douglas lors d'un rougissement estival, pourrait nous apporter des connaissances et des informations sur la gestion du stress hydrique du Douglas. Ainsi, cette partie, qui rassemble les expérimentations en conditions contrôlées, s'articule autour de deux chapitres bien distincts. Le premier vise à déterminer les mécanismes susceptibles d'induire un rougissement hivernal - présentés dans la partie 1 - tandis que le second cherche à comprendre comment une sécheresse édaphique peut aboutir à un rougissement physiologique des aiguilles du Douglas.

Le chapitre 1 concerne les résultats de l'expérimentation menée de décembre 2021 à avril 2022. L'objectif de l'expérimentation était d'induire un stress hydrique hivernal de type sécheresse hivernale (Partie I, §III.A), en imposant des températures froides dans les racines ($< 5^{\circ}\text{C}$) et des températures chaudes au niveau du houppier ($> 13^{\circ}\text{C}$). Si les températures élevées au niveau du houppier induisent une transpiration accrue, les températures froides du sol sont connues pour limiter fortement l'absorption racinaire, générant une contrainte hydraulique pour les jeunes Douglas. Pour tester l'effet d'un stress photo-oxydatif hivernal (Partie I, §III.B), un sous-groupe de Douglas exposés aux conditions expérimentales précédemment décrites, a été soumis à des intensités lumineuses très élevées. Ce chapitre se présentera sous la forme d'un article, qui sera soumis suite au rendu du manuscrit.

Le chapitre 2 concerne la mise en place d'une expérimentation de sécheresse édaphique afin de caractériser la physiologie d'un Douglas en cas de stress hydrique extrême. Un stress hydrique léthal étant associé à un rougissement du houppier par déshydratation de l'aiguille. L'objectif est double. Dans un premier temps, il s'agira de caractériser le stress hydrique induit avec nos méthodes de mesures pour dans un second temps, observer comment se propage l'embolie au sein d'un Douglas à différents stades de stress hydrique.

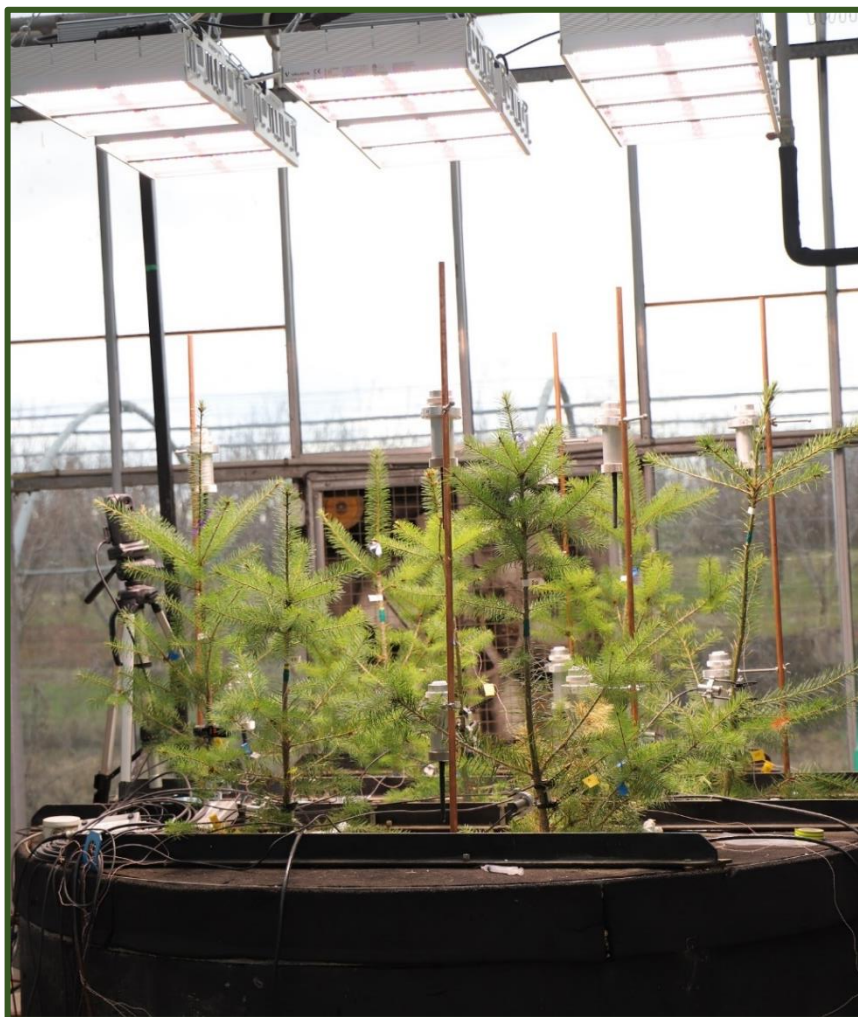
Chapitre 1

Heads warm, feet cold:

The role of cold soil counterbalanced by light in the resumption of Douglas-fir growth

“L’émerveillement est infini.”

Matt Haig



01/02/2022 : Deuxième expérimentation en conditions contrôlées dans l’objectif de reproduire un rougissement hivernal.

Introduction

L'analyse bioclimatique précédemment réalisée, propose que le cumul de cinq facteurs climatiques peut mener au rougissement hivernal du jeune Douglas (amplitude thermique journalière élevée, température diurne chaude, faible humidité relative et forte intensité lumineuse, vent ; Partie II). La littérature scientifique et forestière associe le rougissement hivernal à des conditions météorologiques particulières *i.e.* des périodes anticycloniques. Pendant plusieurs jours successifs voir plusieurs semaines, des températures anormalement chaudes, des vents au moins modérés, un rayonnement important et de fortes amplitudes thermiques journalières sont notés lors des années à rougissement (Henson 1952 ; Malmqvist et al. 2018 ; Christersson et Fircks 1990). Les températures de l'air peuvent varier sur +15°C/jour (Malmqvist et al. 2018) alors que la température du sol reste froide et stable en raison de l'inertie thermique du sol et de la couche de neige isolante (Lindström et Troeng 1995). Si ces conditions climatiques ont été identifiées comme génératrices de rougissement, les causes physiologiques restent largement incomprises bien que trois hypothèses aient été proposées (Partie I, §III.A ; B ; C) : i) une défaillance hydraulique hivernale, ii) un stress photo-oxydatif, et iii) une désacclimatation précoce. La désacclimatation précoce ne sera pas étudiée dans ce chapitre.

Les variables climatiques proposées par l'analyse climatique (Partie II) ont été testées avec objectif d'induire un rougissement hivernal via i) une sécheresse hivernale et ii) une sécheresse hivernale combinée à un stress photo-oxydatif. Afin de tester l'effet d'une Sécheresse Hivernale (SH), les jeunes Douglas ont été exposés à une amplitude thermique élevée entre les racines et le houppier. Une température chaude et une faible humidité relative journalière augmente les pertes hydriques par transpiration, tandis que la faible température du sol limite l'absorption racinaire malgré un sol bien irrigué. Pour tester des conditions environnementales susceptibles d'induire un stress photo-oxydatif, une partie des arbres exposés à la SH, a été soumise à de forte intensité lumineuse.

Afin d'étudier les effets de ces conditions environnementales sur la physiologie du Douglas, des Douglas dormants ont été soumis à une sécheresse hivernale via un conditionnement thermique différentiel avec un sol froid (<5°C) et de l'air chaud ($T_{\text{MOYENNE}} \sim 14^{\circ}\text{C}$). Une partie d'entre eux a également été exposée à une intensité lumineuse élevée en journée pour assurer la saturation des photosystèmes. Le stress hydrique a été mesuré via le potentiel hydrique, la conductance stomatique et la perte de conductance pour les deux traitements. Le stress photo-oxydatif a été évalué en mesurant la fluorescence à l'obscurité pour les deux traitements. Les variations de diamètres ont été mesurées en continu à l'aide de dendromètres, et les stades phénologiques ont été annotés pour comprendre l'impact de ces conditions environnementales sur la croissance primaire et secondaire, ainsi que sur la physiologie générale du Douglas.

Résumé

Au cours des trente dernières années, l'occurrence du phénomène de rougissement hivernal a augmenté en France (1/3 ans - données DSF), entraînant à la fois une diminution de la croissance du Douglas (*Pseudotsuga menziesii* Mirb. Franco) et de la densité de ses plantations. Néanmoins, les causes physiologiques sous-jacentes du rougissement hivernal chez le Douglas restent inconnues. Dans cette étude, nous avons examiné les potentiels mécanismes déclencheur du rougissement hivernal parmi lesquels une sécheresse hivernale pouvant induire une défaillance hydraulique ainsi qu'un stress photo-oxydatif. Nous avons mené des expériences dans des conditions contrôlées, exposant des jeunes Douglas à des traitements de sécheresse hivernale (basse température du sol et air chaud) combinée ou non à un stress photo-oxydatif (forte intensité lumineuse). Alors que les conditions générales sont restées similaires (température moyenne de l'air $\geq 14^{\circ}\text{C}$, température maximale = $26.2 \pm 5^{\circ}\text{C}$, température minimale = $8.3 \pm 2.3^{\circ}\text{C}$, température du sol $< 5^{\circ}\text{C}$), l'intensité lumineuse a varié entre les traitements (traitement Cold Soil (CS) avec PPFD = $640 \pm 47 \mu\text{mol photon.m}^2.\text{s}^{-1}$; Cold Soil High Light (CSHL) avec PPFD = $1\,835 \pm 265 \mu\text{mol photon.m}^2.\text{s}^{-1}$).

Nous avons étudié l'impact de ces traitements sur divers aspects de la physiologie des Douglas, à travers l'étude de la phénologie des pousses, des carbohydrates non solubles des aiguilles, de l'efficacité photochimique, du potentiel hydrique, de l'embolie, de la conductance stomatique et des variations du diamètre. Les températures froides du sol ont induit un stress hydrique en réduisant le potentiel hydrique et la conductance stomatique. Les premiers jours, une décroissance du diamètre a été observée, suggérant une inhibition de l'absorption d'eau par les racines. Cependant, le Douglas a pu s'acclimater à ce nouvel environnement, en régulant la conductance stomatique et en augmentant l'absorption d'eau par les racines (non mesurée) pour atteindre un nouvel équilibre. L'efficacité photochimique (F_v/F_m) est restée inchangée après le traitement CS, bien que la teneur en amidon des aiguilles ait augmenté. La croissance primaire et secondaire a été retardée par les températures basses du sol. L'exposition à une intensité lumineuse élevée a compensé le retard de croissance secondaire sans intensifier l'embolie du xylème ni causer de dommages photo-induits irréversibles. Les effets des traitements ont été visible à la fin de la saison de croissance. Les températures basses du sol ont entraîné une diminution de moitié de la croissance secondaire et de la longueur des pousses apicales par rapport aux arbres témoins. Pour le traitement CSHL, la croissance secondaire était similaire aux témoins alors que la longueur des pousses apicales a été fortement inhibée (diminution par quatre), conduisant à la mortalité de trois arbres sur sept. Malgré des conditions environnementales stressantes et des répercussions sur la vitalité des Douglas, les aiguilles des Douglas sont restées vertes sans rougissement hivernal du Douglas, remettant ainsi en question nos hypothèses initiales.

Mots-clés : Douglas (*Pseudotsuga menziesii* Mirb. Franco), température basse du sol, forte intensité lumineuse, stress hydrique, phénologie

Heads warm, feet cold:

The role of cold soil counterbalanced by light in the resumption of Douglas-fir growth

Van Rooij Mahaut, Dusart Nicolas, Hartmann Félix, Serre Christophe, Améglio Thierry, Charrier Guillaume

Université Clermont Auvergne, INRAE, PIAF, 63000 Clermont-Ferrand, France

Abstract

Over the past three decades, the incidence of winter reddening has increased in France (every third year according to FFHD data), reducing both Douglas-fir growth and plantation density. None of the less, the physiological causes of winter reddening in Douglas-fir are unknown. In this paper, we tested hypothesis of winter hydraulic failure and photo-oxidative stress. Winter drought treatments (low soil and warm air temperature) combined with photo-oxidative treatment (high irradiance) are thought to induce winter reddening in Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* Mirb. Franco). The experiment was conducted under controlled conditions with similar conditions ($T_{\text{mean}} > 14^{\circ}\text{C}$, $T_{\text{max}} = 26.2 \pm 5^{\circ}\text{C}$, $T_{\text{min}} = 8.3 \pm 2.3^{\circ}\text{C}$, $T_{\text{soil}} < 5^{\circ}\text{C}$), but light intensity varied between treatments (Cold Soil treatment (CS) PPFD = $640 \pm 47 \mu\text{mol photon.m}^2.\text{s}^{-1}$; Cold Soil High Light treatment (CSHL) PPFD = $1\ 835 \pm 265 \mu\text{mol photon.m}^2.\text{s}^{-1}$). The effect of both treatments on shoot phenology, needle carbohydrate dynamics, chlorophyll fluorescence, water potential, embolism, stomatal conductance and diameter variation of 4-year-old Douglas-fir seedlings was studied.

Low soil temperatures induced water stress by decreasing water potential and stomatal conductance. Stem variation decreased during the first days, suggesting root water inhibition. However, Douglas-fir was able to adapt to this stressful environment by regulating its stomatal conductance and increasing its root water uptake to reach a new equilibrium. Photochemical efficiency (F_v/F_m) was not affected by CS treatment, while an increase in needle starch content was observed. Both secondary and primary growth were retarded by low soil temperatures. Exposure to high irradiance compensates for the delay in secondary growth without inducing more xylem embolism or irreversible photodamage.

The after-effects of the treatments were observed at the end of the growing season. Low soil temperatures reduced secondary growth and apical shoot length by 2, while the CSHL treatment reduced apical shoot length by 4, resulting in the death of 3/7 trees. However, reddening did not occur, thus invalidating our hypothesis.

Key words: Douglas-fir, low soil temperature, high irradiance, water stress, phenology

I. Introduction

Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* Mirb. Franco) is one of the most valuable timber trees, known for its rapid growth, high productivity (up to 20 m³.ha⁻¹.a⁻¹) and excellent wood quality (Hermann and Lavender 1999; Nicolescu et al. 2023). Due to its widespread planting in recent decades, Douglas-fir covers more than 0.83 million ha (van Loo 2020). The current decline of forest and conifer plantations has been attributed to either biotic or abiotic factors. Abiotic stressors are mainly amplified by climate change, characterised by extreme droughts, heat waves and false spring events, while biotic factors are mainly related to interregional movement of insects and diseases (Allen et al. 2010; Pavlov 2015; Hartmann et al. 2022). Symptoms of decline and tree mortality have been documented in Douglas-fir (Wyant et al. 1986; Negron 1998; Sergent et al. 2014).

The decline of mature Douglas-fir has been linked to multiple factors, including frequent drought events (Sergent et al. 2014), mechanical disturbance from wind and snow, root rots caused by *Armillaria* spp. and other pathogens, wood attack by the Douglas-fir beetle (*Dendroctonus pseudotsugae* Hopkins), and interactions among these factors (Fettig et al. 2007; Freeman 2017). Dieback of Douglas-fir seedlings is mainly caused by other factors such as winter reddening (Malmqvist et al. 2018; from the French Forest Health Department: FFHD), deer browsing (Crouch 1981) and boron deficiency (Carter et al. 1984). Over the past three decades, the incidence of winter reddening has increased in France (every third year according to FFHD data), reducing both Douglas-fir growth and plantation density.

Winter reddening is a phenomenon observed in North America, Scandinavia and central Europe and is associated with anticyclonic weather conditions, including unseasonably warm temperatures, moderate to strong winds, high solar irradiance and large diurnal thermal variations (Henson 1952; Malmqvist et al. 2018; Christersson and Fircks 1990). In late winter, the air temperature can fluctuate by up to 15°C (Malmqvist et al. 2018), while the ground temperature remains colder and more stable than the air temperature due to the higher thermal inertia of the ground and the insulating snow cover (Lindström and Troeng 1995).

As the physiological causes of winter reddening in Douglas-fir are not well understood, we have proposed three mechanisms (Van Rooij et al., unpublished opinion paper): i) winter hydraulic failure, ii) photo-oxidative stress, and iii) early deacclimation. Climatic analysis confirms that some simultaneous climatic factors can lead to winter reddening (large daily thermal variation; warm daily temperature; low humidity and high solar irradiance; Part 2). Winter hydraulic failure (i) would be tested by large daily thermal amplitude between roots and shoots. Warm temperature would increase water loss through open stomata, while low soil temperature would limit root water uptake in a well-watered soil. We define this phenomenon as 'winter drought'. Even if water is available in the soil, root water uptake is limited or completely inhibited by low temperature (Améglio et al. 2002; Mellander et al.

2006. Low soil temperature reduces root water uptake and water flux by: decreasing membrane permeability of the root cell plasmalemma (Kramer 1946, Améglio et al. 1990; Day et al. 1991; DeLucia, 1986; Strand et al. 2002), reducing cell-to-cell water transport through effects on aquaporins (Lee et al. 2005; 2012), and inhibiting root growth (Wan et al. 1999). Root water uptake flows mainly through the symplastic pathway, *i.e.* the root membrane, due to the interruption of the apoplastic pathway by barriers such as exo- and endodermal Casparian bands (Lee et al. 2005). Thus, the movement of water across the bilayer lipid membrane is limited by a decrease in membrane fluidity and a change in aquaporin conformation (Ranganathan et al. 2016). Limited root water uptake leads to an increase in resistance to water flow through the xylem of the plant, which can result in a decrease in leaf water potential at midday (Lopushinsky et Kaufmann 1984; Thierry Améglio et al. 1990). This can result in a decrease in water potential up to the point of xylem embolism formation (Cochard, 2006), potentially leading to winter reddening. Photooxidative stress (ii) would also be induced by high irradiance, which can saturate the photosynthetic electron transport chain and induce high production of reactive oxygen species (ROS; Choudhury et al. 2017). As cold soil is expected to induce water stress, we expect that the combination of cold soil, warm air temperature and high irradiance would limit CO₂ fixation in the chloroplast. Coupled with overproduction of the electron transport chain when photoprotective mechanisms are not efficient enough, ROS can damage essential cellular components and chlorophyll (Suzuki et Mittler 2006), leading to needles red discolouration.

In this chapter, Douglas-fir saplings were subjected to differential thermal conditioning with cold soil (< 5°C) and warm air (T_{mean} ~ 14°C) in late winter. In addition, a subset of trees was exposed to high daytime irradiance to ensure photosystem saturation. To characterise drought stress, water potential, stomatal conductance and percent conductance loss were measured. To characterise photooxidative stress, dark-adapted fluorescence was measured for both treatments. Growth and daily shrinkage were measured continuously with dendrometers, while phenological stages were observed to understand the consequences of such environmental conditions on primary and secondary growth, and more generally on the physiology of Douglas-fir.

II. Material and methods

▪ *Plant material and experimental setup*

Four years old Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* M. provenance FRANCE 2) saplings from the Dubost Foret nursery (France, Celle-sur-Durolle) were transplanted to 10-L pots in March 2021. The soil was composed of a clay-sandy soil mixture (Terre de Limagne). The trees were well-watered and kept under natural conditions at INRAE Clermont-Ferrand (45.877N, 3.814E, France) from April 2021 until January 2022. Two weeks before the start of the experiment (1st February 2022, day 1), trees were transferred in a greenhouse to acclimate to the greenhouse conditions, under natural light and frost-free conditions ($> 5^{\circ}\text{C}$). From March 17th, at the end of the controlled experiment, the trees were transferred under natural conditions close to the greenhouse.

Twenty-five trees were used and randomly splitted into three conditions. Five control trees were exposed to natural light and to similar soil and air temperature (daily Mean temperature during all the experiment were measured at approx. 14°C whereas maximal temperature was higher than 30°C). Twenty trees were exposed to soil temperature lower than 5°C and warm air temperature (approx. 14°C) – cold soil treatment (CS). Seven of these trees were exposed to low soil temperatures and high light irradiance ($2000 \mu\text{mol.m}^2.\text{s}^{-1}$ - PPFD -) from day 14 to day 45 - cold soil ant high light treatment (CSHL). Low soil temperature was maintained with three temperature-controlled systems thank to a cooling system. Preliminary data confirmed that low soil temperatures combined with warm air temperature generated hydraulic stress on Douglas-fir (Figure Sup 1).

Soil temperature was monitored for all the trees by using type-T thermocouples inserted into an isolated material. The surface temperature of the stem was measured with a type-T thermocouple attached to the bark. In each pot, soil moisture was determined with the aid of time-domain reflectometry probes (Spectrum WaterScout SM100). REW (relative extractable water) was maintained to pot capacity to avoid edaphic water deficit. Thermocouples and TDR were connected to a data logger (Model CR1000, Campbell Scientific LTD) and measurements were recorded at 15-min intervals.

The Photosynthetic Photon Flux Density (PPFD) sensors (PAR/CBE 80, Solems, Palaiseau, France) were mounted in aluminium bodies housing batteries and an electronic card dedicated to data storage and wireless communication. These homemade devices were placed on a gyroscopic mount fixed to an aluminium mast above the Douglas trees. The sensors measured local PPFD every minute and stored 15-minute averages in the internal memory. The PPFD sensors were placed approximately at 20 cm from the leafy shoots at the apical shoot height and at half the height of each tree (~ 50 cm).

Two climatic sensors HygroVUE 10 (Campbell Scientific LTD, UK) measuring relative air humidity and temperature were installed on the North and South sides of the greenhouse. VPD was

calculated by using data from climatic sensors (Supplementary data 1). Both sensors were connected to a CR1000 data logger (Campbell Scientific LTD, UK) and measurements were recorded at 15-min intervals.

- **Physiological measurements:**

- Budburst

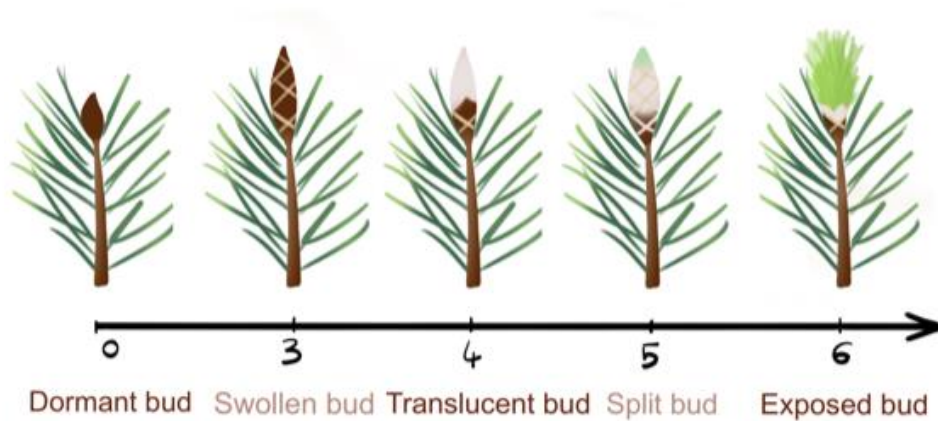


Figure 15: Phenological stages of Douglas-fir buds, inspired by Dhont et al.,2010.

The phenological stages of the buds were observed on each tree for both treatment by using the seven-stage identification method of Dhont et al (2010), corresponded with: 0, dormant bud; 3, swollen bud; 4, translucent bud; 5, split bud; 6, exposed shoot (Figure 15). The average proportion of buds in each stage was measured 6 times from 1st February to 15th March. Visual inspection of stage 1 and 2 was not taken in account in this study because of the difficulty to accurately determine these stages.

- Length of apical shoot

The length of the terminal shoot was measured at the end of the growing season, *i.e.* in September 2022 as the distance between the basis of the shoot to the basis of the terminal.

- Daily stem diameter variation

Stem diameter variations were monitored continuously by linear variable differential transformer (LVDT: Solartron DF5.0, AMETEK SAS, Elancourt, France) sensors (one LVDT per individual) during all the experiment. The sensors were fixed to the stem with a sensor holder, 10 cm approximately above the collar, using silicon glue and were connected to a data logger CR1000 (Campbell Scientific LTD, UK) recorded at 15-min intervals. Preliminary results showed the relevance of using dendrometers to characterize hydraulic status under cold soil stress (Figure Sup 2). Three parameters were estimated from dendrometers data: daily growth rate (GR; see (1)) and stem increment

(SI; (2)) associated to cumulative growth rate and the maximal diameter shrinkage (MDS; (3)) linked to water tissue movement. Each of the following index was calculated as:

$$GR = \text{Maximum}(\text{day}_{i+1}) - \text{Maximum}(\text{day}_i) \quad (1)$$

$$SI(\text{day}_i) = \sum_{i=0}^n GR(i) \quad (2)$$

$$MDS = \text{Maximum}(\text{day}_i) - \text{Minimum}(\text{day}_i) \quad (3)$$

For calculating (3), if $\text{Maximum}(\text{day}_{i+1}) < \text{Maximum}(\text{day}_i)$ else $\text{Maximum}(\text{day}_{i+1}) = \text{threshold}$ until $\text{Maximum}(\text{day}_{i+1})$ is superior or equal to $\text{Maximum}(\text{day}_i)$.

▪ Date of secondary growth resumption

Secondary growth resumption was determined based on a threshold growth rate. For each tree, the growth rate (in $\mu\text{m}\cdot\text{day}^{-1}$) was computed from the diameter variation after a two-step smoothing process (Figure 16a). In the first step, the daily medians were computed to smooth out intraday fluctuations and focus on radial growth. In the second step, the daily median radii were approximated using a cubic smoothing spline. This step was performed using the CSAPS Python library, with a smoothing factor of 0.25 (<https://github.com/espdev/csaps>).

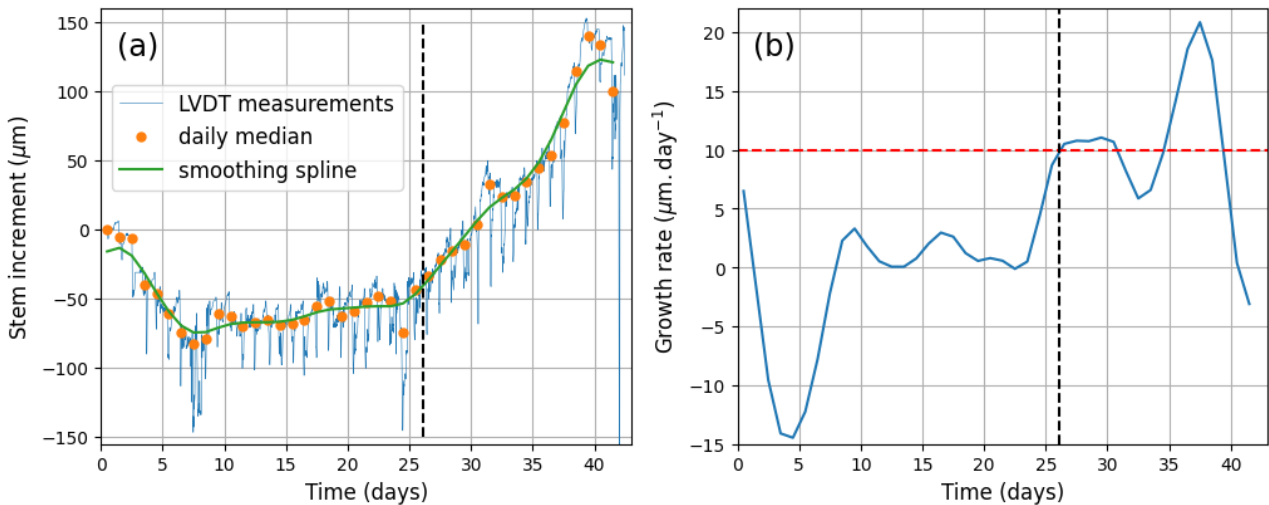


Figure 16: Illustration of the determination of the date of secondary growth resumption on individual CS4. (a) A smooth growth curve is obtained from the daily medians of the LVDT curve using a cubic smoothing spline. (b) This spline is differentiated to get the growth rate, from which the date of secondary growth resumption (dotted vertical black line) is determined based on a growth rate threshold (red horizontal dotted line)

The cubic smoothing spline was then differentiated to get the growth rate as a function of time (Figure 16b). The date of secondary growth resumption was then defined as the first day the growth rate exceeded a threshold value set at $10 \mu\text{m}\cdot\text{day}^{-1}$, with a minimal date of resumption set at 11 days after the beginning of the experiment. The threshold was chosen linked to the cold-acclimation of the Douglas-fir. Indeed, the trees needed approximately ten days to acclimate to the cold soil and stabilise diameter

variations linked to stomatal closure and reduction - stabilisation of water potential. This range of value (10 days for this peculiar climatic conditions) was similar to the one found in the preliminary experiment (Sup data 2).

- Shoot water Potential

Midday stem water potentials were measured on upper branches every week between 1 and 2 PM. using a Scholander-type pressure chamber (PMS Instrument, Albany, USA) on at least three individuals per condition.

- Gas exchange and chlorophyll fluorescence

Gas exchange and chlorophyll fluorescence were measured using a LI-6400 Portable Photosynthesis Systems with 6400-40 Leaf Chamber Fluorometers (LI-COR, Lincoln, NE, USA) on the same branches - needles during all the experiment on, at least, three plants per treatment. From the beginning of the experiment until stomatal closure, measurements were performed every 3 days and after stomatal closure, once a week. Measurements were performed under non-limiting climatic conditions in a measurement chamber (PPFD = 1000 $\mu\text{mol m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, leaf temperature = 20 °C, CO₂ concentration = 400 ppmv). Net assimilation (A_{net}) and stomatal conductance (gs) were only measured after CO₂ uptake reached a stable state, after *ca.* 10-15 min of stabilization.

The maximum quantum efficiency of the photosystem II (PSII) was calculated by measuring the fluorescence signal from a dark-adapted leaf when all reaction centers are open using a low intensity pulsed measuring light source (F_o), and during a pulse of saturating light when all reaction centers are closed (F_m) (Genty, Briantais, et Baker 1989). Focused needles were dark-adapted for 30 min using dark-adapting leaf clips (LICOR) for F_v/F_m measurements (4).

$$F = \frac{F_v}{F_m} = \frac{(F_m - F_o)}{F_m} \quad (4)$$

- Carbohydrate extraction and quantification

Lyophilized needles ($m > 2$ g) were ground into a powder, which was used (50 mg) to extract and measure the soluble carbohydrate content using high-performance liquid chromatography. Starch content was measured using an enzymatic method. Both methods were described in Charrier and Améglio (2011).

- Percentage Loss of conductivity

The amount of xylem embolism was measured along all the experiment by direct observation using Micro-Computed Tomography (Micro-CT; Nanotom 180 XS; GE, Wunstorf, Germany). For Micro-CT, one sample per tree (at least 3 trees per treatment) was cut underwater and the ends rapidly soaked in liquid paraffin wax to seal cut ends. Samples were then wrapped in Parafilm (Pechiney

PlasticPackaging, Chicago, IL, USA) to avoid further dehydration. The 2D images were then analyzed using IMAGEJ image analysis software (Version 1.47i, National Institutes of Health, Bethesda, MD) to determine the PLC of each sample by determining the amount of embolized area compared to the totality of the xylem area (Brodersen et McElrone 2013).

- Statistical analyses

Statistical analyses were performed using R 3.1.0 (R Development Core Team) open software. Gas exchanges, water potential, PLC, growth parameters and NSC content and fluorescence parameters were studied using ANOVA with a linear model testing the effects of time, soil temperature and intensity of light with *nlme* packages (Pinheiro et al., 2017). Mean pairwise comparisons between treatments – Tukey test – were done for every time points.

III. Results

A. Experimental treatments

In the control treatment, soil and air temperature were similar: $13.7 \pm 2.1^\circ\text{C}$ and $13.6 \pm 5.6^\circ\text{C}$ (mean \pm se), respectively (Figure 17A). In the cold soil treatment (CS), soil temperature was extremely stable at $3.7 \pm 0.3^\circ\text{C}$ (mean \pm se), while stem temperature remained similar to the control treatment ($13.7 \pm 2.2^\circ\text{C}$, mean \pm se; Figure 17A). In the cold soil and high light treatment (CSHL), soil temperature was maintained at $2.9 \pm 1.3^\circ\text{C}$; mean \pm se). However, from day 21 a drop in the soil temperature of the CSHL treatment was observed. Soil temperature remained positive but dropped close to 0°C ($0.63 \pm 0.1^\circ\text{C}$) for 4 days. The light treatment induced a slight but not significant increase in air temperature of the Douglas stem ($14.5 \pm 2.5^\circ\text{C}$; mean \pm se, $P=0.13$). Finally, the mean thermal difference between soil and stems was negligible in the control ($0.2 \pm 0.6^\circ\text{C}$) and higher than 10°C in cold soil treatments ($10.2 \pm 1.4^\circ\text{C}$ and $11.8 \pm 1.7^\circ\text{C}$, in CS and CSHL, respectively).

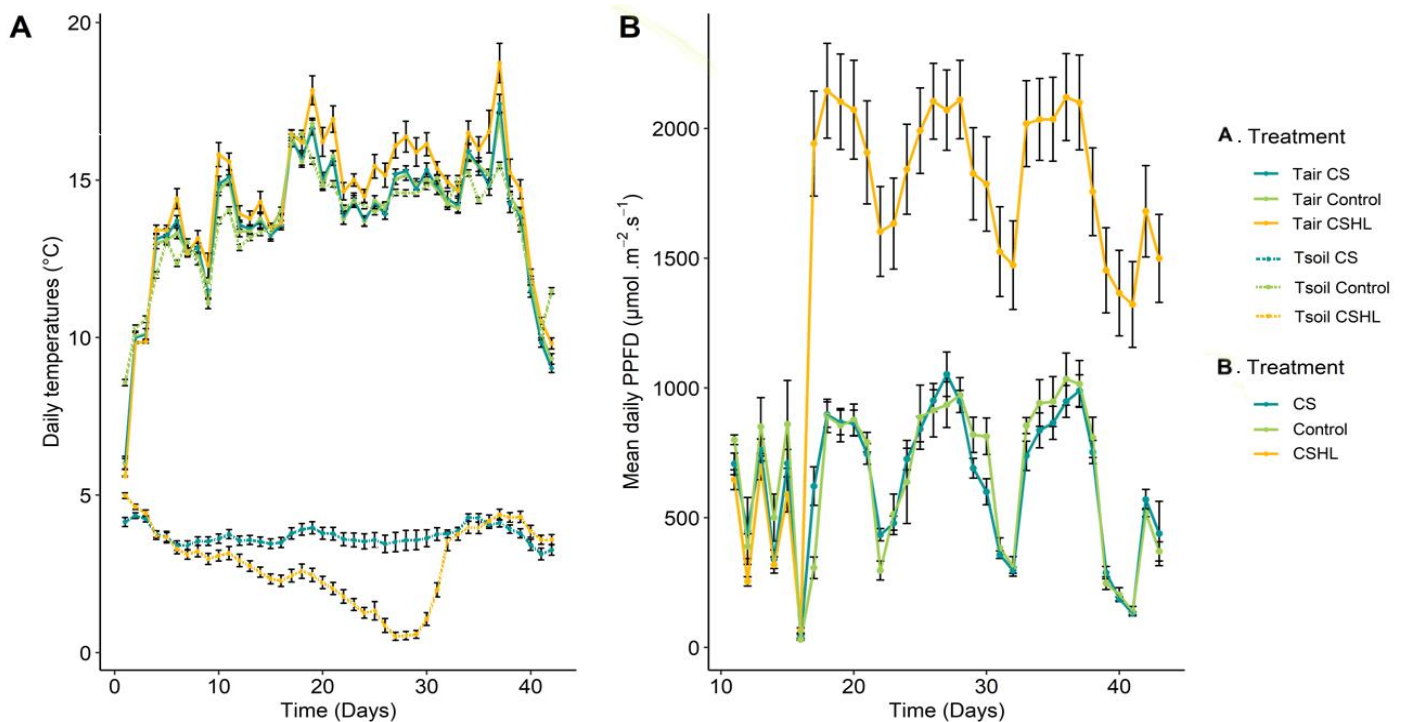


Figure 17: Daily air mean temperature in complete line with soil temperature in dotted line (Mean \pm se; A) and irradiance in the greenhouse during the experiment (B). Control (green), Cold Soil (blue), Cold Soil + High light (orange)

Daily mean photosynthetic photon flux density (PPFD) received by trees reached $1835 \pm 51 \mu\text{mol} \text{ photon} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ for the CSHL treatment while the CS and control were exposed to 640 ± 47 ; $658 \pm 51 \mu\text{mol} \text{ photon} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, respectively (Figure 17B). Relative extractable water (REW) was maintained higher than 90% in all treatments until day 27. Between day 27 and day 35, a slight decrease in REW

was observed in CS for 4 days and in CSHL for 7 days, although REW remained above 80 and 70% in the CS and CSHL treatments, respectively (Figure Sup 3A).

B. Cold soil impairs the water status of the Douglas-fir

In the control treatment, the midday stem water potential (Ψ_{md}) exhibited a slight decrease between day 1 and day 12, from -0.6 ± 0.1 to -0.89 ± 0.2 MPa, and remained stable at about -0.75 ± 0.14 MPa until the end of the experiment (Figure 18A; mean \pm se). In the CS treatment, a stronger decrease in Ψ_{md} was observed between day 5 and day 9, from -0.47 ± 0.15 to -1.31 ± 0.18 MPa. From day 10 until the end of the experiment (day 45), Ψ_{md} remained stable and similar for the control and the CS treatments (-0.86 ± 0.03 MPa and -1.44 ± 0.1 MPa, respectively). Ψ_{md} of CSHL treatment increased around day 30, reaching -1.11 ± 0.09 MPa on day 33 and then, decreased to -1.51 ± 0.08 MPa at the end of the experiment.

In the control treatment, large fluctuations of stomatal conductance (g_s) occurred during the first 20 days of the experiment, but g_s remained above 60% of initial value (initial value: $g_s = 169 \pm 42$ mmol.H₂O.m⁻².s⁻¹; mean \pm se). Ten days after the beginning of the experiment, g_s sharply decreased in the CS and CSHL treatments to reach almost null values (3.6 ± 2.5 % and 2.7 ± 2.4 % for the CS and CSHL treatment respectively; Figure 18B). After two weeks, g_s slightly re-increased in the control treatment whereas it stabilised between 5% and 10% of the initial value in the CS and CSHL treatments. A significant effect of soil temperature on stomatal conductance was observed from day 3 to day 42 ($P < 0.001$).

In the control treatment, maximum daily shrinkage of the stem (MDS) was approximately 35 μm from day 1 to day 8, reached a maximum value of 85 ± 7 μm (mean \pm se) during the warm and sunny days 9 and 10 and stayed stable until day 45 at approximately 51 ± 12.9 μm . A sharp increase in MDS (125 ± 16 μm) from day 1 to day 9 was observed for the CS treatment (Figure 18C). Until day 16, MDS of the CS treatment was higher than for the control treatment but from day 16 until the end of the experiment, MDS were similar for both treatments (63.8 ± 14.4 μm). The CSHL treatment exhibited a twofold increase in MDS compared to the CS treatment from day 20 to day 42 (98.8 ± 15.8 μm).

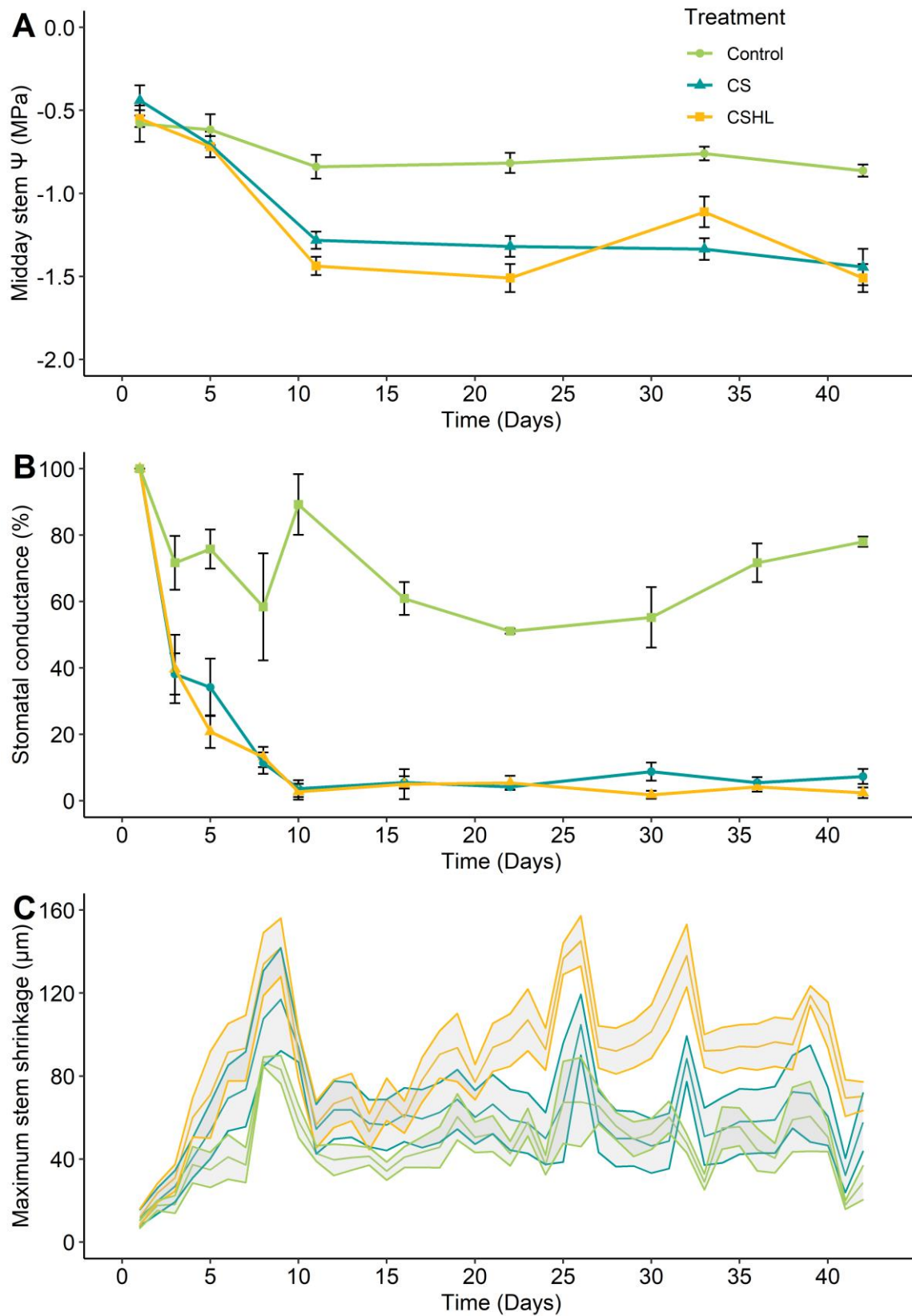


Figure 18: Effect of low soil temperature and high light exposure on water potential (stem midday Ψ) -A-, on stomatal conductance to water vapour (gs) -B- values normalized with the stomatal conductance on day 0, on the daily maximum stem shrinking -C-, Mean \pm se, $n \geq 3$ for control and $n \geq 5$ for CS and CSHL treatment.

The percentage of loss conductivity (PLC) measured in the stem of control trees was stable and remained lower than 5% throughout the experiment (Figure 19A). On day 1, the PLC of the trees exposed to the CS and CSHL treatment was not negligible, although it was lower than 15% (Figure 19A). In the CS treatment, the PLC of Douglas-fir was stable during the whole experiment i.e. below 10% (Figure 19C; $P=0.14$). In the CSHL treatment no significant change in PLC was observed although a slight but not significant increase in PLC was observed on day 22 (Figure 19D; $P=0.15$). There was no significant increase in PLC over time ($P=0.06$). On day 42, PLC is below 10% for all treatments.

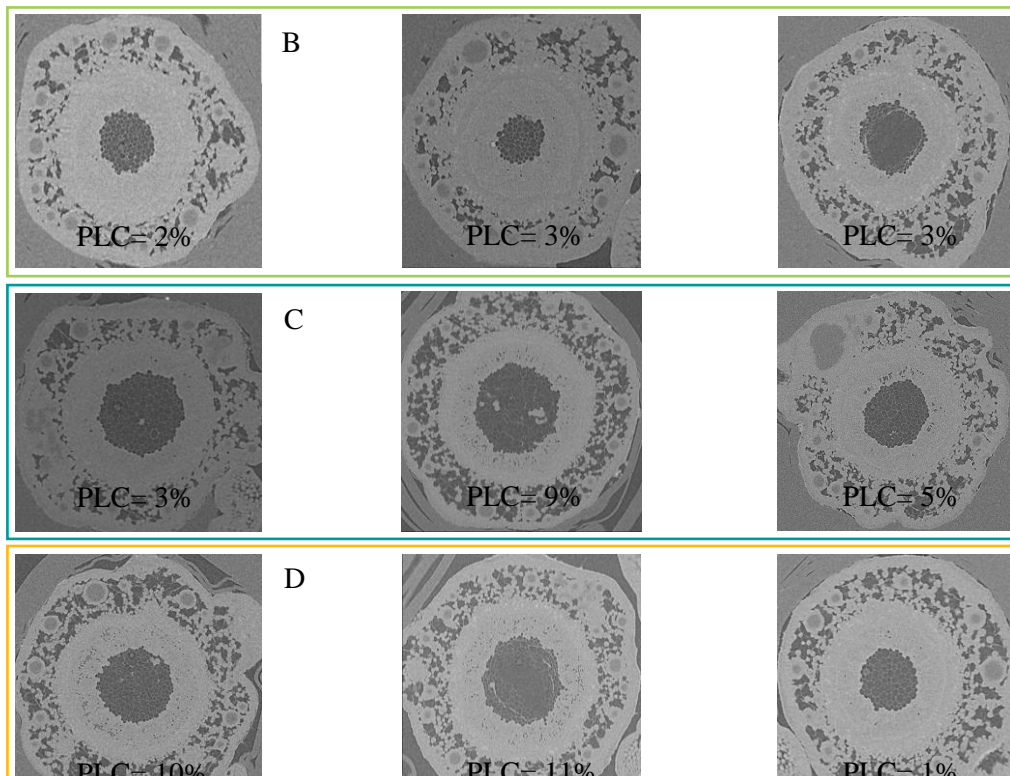
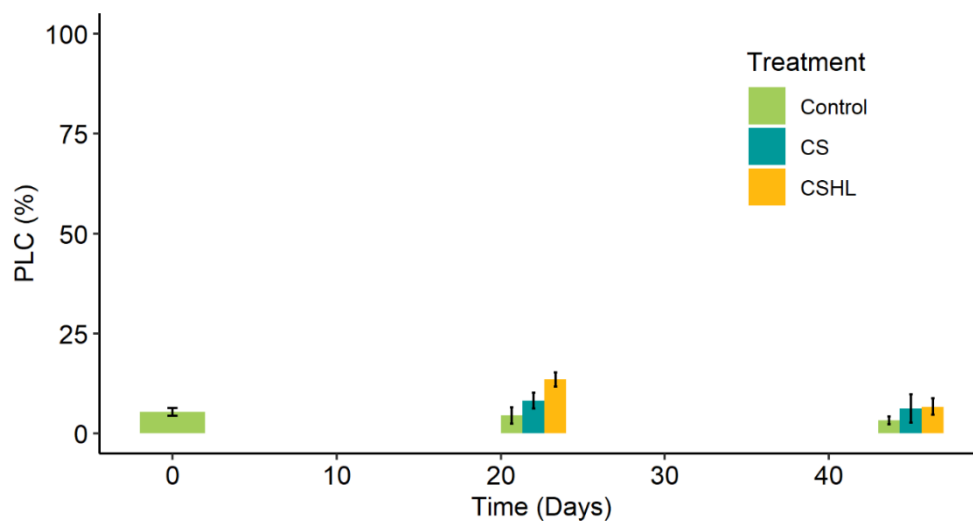


Figure 19: A- Effect of cold soil temperature and high light intensity on Percentage of loss conductivity (PLC). Mean \pm se, $n \geq 3$ for control and $n \geq 5$ for CS and CSHL treatment. Measurement of PLC before experiment on all trees, grouped in “Control” on day 0. B – Example of PLC of control; C – example of PLC of CS treatment; D – example of PLC of CSHL treatment.

C. Cold soil does not induce irreversible photodamages

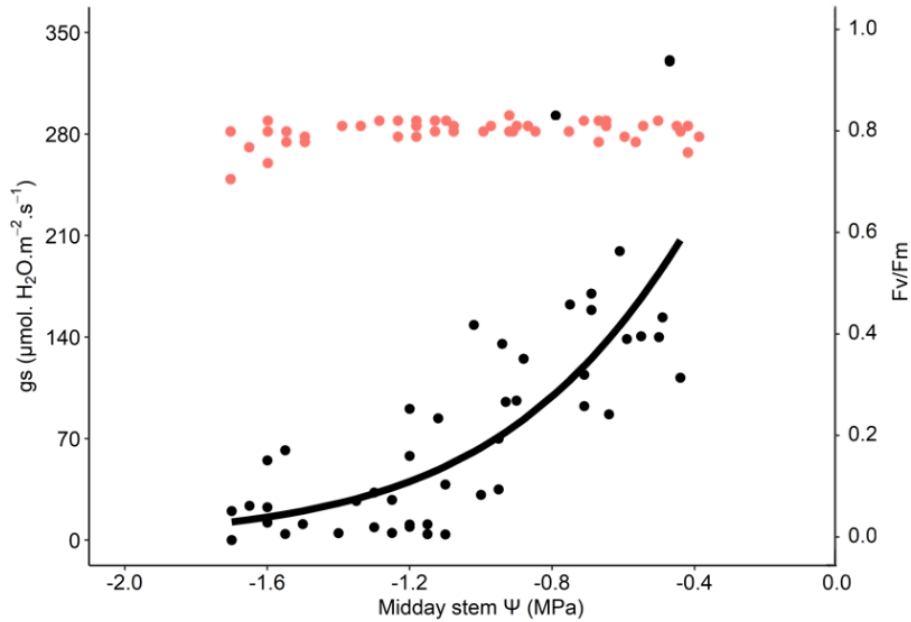


Figure 20: For CS and CSHL treatments, relationship between stomatal conductance (g_s in black), fluorescence (F_v/F_m in orange) and water potential.

From the beginning to day 10, Ψ_{md} and g_s decreased progressively for both the CS treatments. After 10 days, as Ψ_{md} remained stable for $\Psi_{md} > -2$ MPa while g_s stabilised between 5% and 10% of the initial value in the CS and CSHL treatments (Figure 18A – B). Thus, effect of soil temperature on stomatal conductance was observed with the decrease to g_s up to severe stomatal regulation (90% of loss of stomatal conductance) for $\Psi_{md} = -1.26 \pm 0.1$ MPa (Figure 20).

Photochemical efficiency (F_v/F_m) is superior at 0.7 for $-0.4 < WP < -1.7$ MPa (Figure 20). As shown in the Figure Sup 4, F_v/F_m of the control, which reflects the maximum quantum efficiency of photosystem (PSII), increased from 0.81 ± 0.00 to 0.84 ± 0.00 . F_v/F_m of needles of Douglas-fir exposed to CS treatment remains stable during the experiment whereas a decrease is observed for CSHL treatment. After 7 days - exposition to CSHL, a decrease of maximal fluorescence is observed (0.75 ± 0.03) compared to the control ($P < 0.001$, Figure Sup 4) or the CS treatment ($P < 0.001$). On day 45, there is no significant difference in F_v/F_m between the CS and the CSHL treatment.

D. Cold soil delays stem primary and secondary growth

The growth rate of the control decreases until day 6 and reaches negative values ($-4.51 \pm 3.71 \mu\text{m}$; Figure 21B). From day 8 to day 13 it varies between 8.0 ± 1.0 and $12.9 \pm 1.9 \mu\text{m}$. From day 13, the growth rate gradually increased until day 25. Two growth peaks were observed from day 26 to 31 and from day 36 to 39 (maximum growth rates of 30.5 ± 3.3 and $30.65 \pm 3.4 \mu\text{m}$, respectively). The growth rate for the two cold soil treatments, *i.e.* CS and CSHL, is negative until day 7 before becoming positive on day 8. For the CS treatment, the growth rate is stable and remains below 5.25 ± 0.96 (reached on day 9) for 15 consecutive days. The trend of the curve is similar to that of the controls, with two growth peaks observed from day 26 to day 31 and from day 36 to day 39. However, the maximum growth rate observed during the first peak is lower than that of the control, whereas during the second peak the growth rate is similar ($16.7 \pm 2.7 \mu\text{m}$ and $25.6 \pm 1.7 \mu\text{m}$, respectively). For the CSHL treatment, the growth rate is stable and remains below 8.6 ± 2.1 (reached on day 10) until day 19. Compared to the controls and the CS treatment, the trend of the growth rate curve is different, as from day 23 a clear increase in growth rate is observed, reaching its peak on day 37 with $T = 46.5 \pm 4.6 \mu\text{m}$. From day 31, the growth rate is 32.4 ± 3.3 , exceeding the growth rate of the control. Thus, growth resumption of the control trees began on day 14, while date of growth resumption of the CS treatment was shifted by 12 days (day 26; $P < 0.001$). Growth resumption of the CSHL treatment was not significantly delayed (7 days) compared to the control, *i.e.* on day 21 ($P = 0.073$).

Stem increment (SI) of the control was relatively linear from day 14, reaching $767.6 \pm 83.4 \mu\text{m}$ on day 42 (mean \pm se). SI was delayed in both cold soil treatments, but the CS treatment started with a slighter growth rate, resulting in a low SI. Thus, on day 42, the SI of the CS treatment was divided by 2 compared to the control ($338.4 \pm 40.5 \mu\text{m}$; $P=0.024$; Figure 21A), a value that the control trees had already reached on day 25. However, the SI of the CSHL treatment increased faster than the control when growth resumed. On day 42, there was no significant difference from the control, *i.e.* 705.9 ± 72.9 and $767.6 \pm 83.4 \mu\text{m}$ for the CSHL treatment and the control, respectively (mean \pm se).

At the end of the growing season (end of September), control trees exhibited an average shoot length of 29.4 ± 0.4 (mean \pm cm; Figure Sup 6) cm. In the CS treatment, the average apical shoot length was only 15.5 ± 0.5 cm. In the CSHL treatment, apical shoot length was even lower *i.e.* approximately 6.1 ± 0.6 cm.

In the control, buds started to elongate rapidly and 50% of buds quit stage 0 at day 17 ± 0.9 (Mean \pm se; Figure 21C; Figure Sup 5) and 50% of them reach stage 6 at day 44 ± 2.5 (Figure 21D). In the CS treatment, 50% of the buds quitted stage 0 at 21 ± 2 days whereas less than 10% buds at the end of the experimentation reach stage 6. In the CSHL treatment, 50% quitted stage 0 at the same time of the control *i.e.* on day 18 while at the experimentation, less than 20% of the buds reached stage 6. 50% of the buds were at stage 6 on 55 ± 5 day, with a delay of 10 days compared to the control.

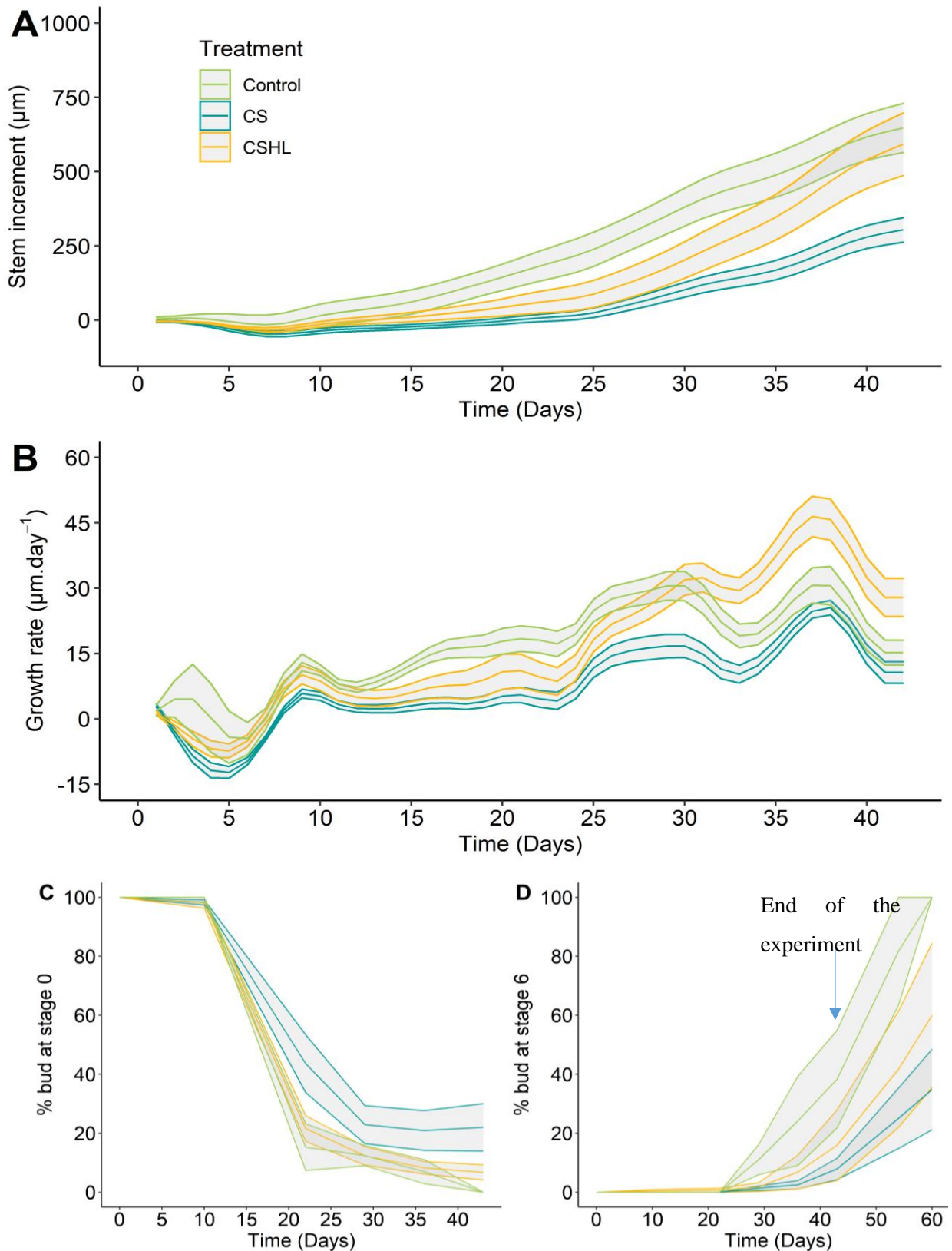


Figure 121: Effect of cold soil temperature and high light intensity on spline fitted secondary growth through the stem increment (A), on spline fitted daily secondary growth rate (B). Data from LVDT: Mean \pm se. $n=11$ for the CS treatment, $n=5$ for the CSHL and $n=5$ for the control. C: primary growth through phenological stage 0. D: primary growth through phenological stage 6. Mean \pm se. $n=11$ for the CS treatment, $n=6$ for the CSHL and $n=5$ for the control.

E. Both treatments affected A_{net} and needle NSC measurement differently

An increase in net assimilation A_{net} was observed in the control treatment from day 5 ($9.06 \pm 2.03 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) to day 42 ($15.75 \pm 1.76 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$). From day 2 to day 16, a sharp decrease in (A_{net}) was observed from 6.9 ± 0.92 to $1.47 \pm 0.6 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ and to $0.83 \pm 0.2 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ in the CS and CSHL treatments, respectively. The CS treatment had a significant effect on A_{net} ($P < 0.001$) whereas no significant effect of the light supplementation was observed ($P = 0.478$; Figure 22). On day 42, A_{net} was measured at 3.05 ± 1.04 and $3.62 \pm 1.4 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ in the CS and CSHL treatments, respectively.

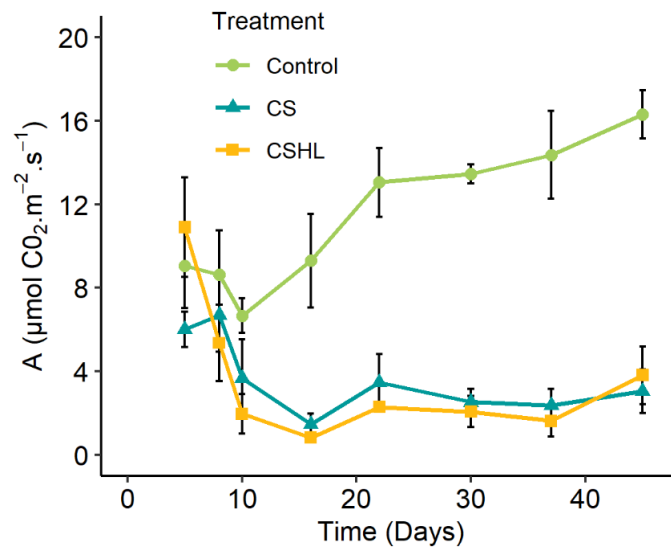


Figure 22: Effect of cold soil temperature and high light intensity on CO₂ assimilation of Douglas-fir during the experimentation. mean \pm se, $n \geq 3$ for control and $n \geq 5$ for CS and CSHL treatment.

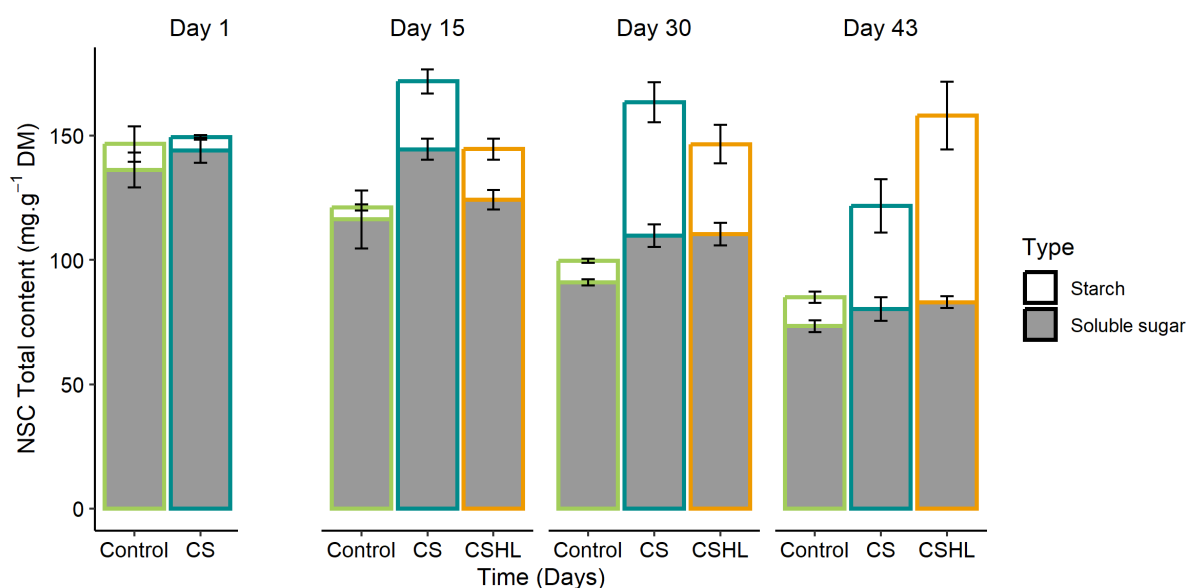


Figure 23: Effect of cold soil temperature and high light intensity on soluble carbohydrates and on starch content in Douglas-fir needles. Mean \pm se. Control (green), Cold Soil (blue), Cold Soil + High light (orange), $n \geq 3$ for control and $n \geq 5$ for CS and CSHL treatment.

Non-Structural Carbohydrates (NSC) included soluble sugars (SST: glucose, sucrose, fructose, raffinose; Figure Sup 7-8) and starch components. Needle NSC decreased significantly in the control treatment during the experiment (Figure 23; $P=0.02$), induced by the decrease in SS from day 1 ($136 \pm 5.35 \text{ mg.g}^{-1} \text{ DM}$) to day 43 ($73.3 \pm 2.35 \text{ mg.g}^{-1} \text{ DM}$; mean \pm se).

For the CS treatment, NSC remained stable from day 1 to day 30 before decreasing on day 43, whereas for the CSHL treatment, no change in NSC was observed during the experiment. For the CS and CSHL treatments, SST remained stable until day 14, whereas starch was more than four times higher than in the control (4.8 ± 2.29 , 27.2 ± 1.07 , $20.4 \pm 4.22 \text{ mg.g}^{-1} \text{ DM}$ for the control, CSHL and CS treatments).

On day 30, starch was more than 5 times higher for CS and more than 3 times higher for CSHL treatment than for control, while SS was similar for CS and CSHL treatment ($P>0.5$; Figure Sup 7). However, the SS of the control was significantly reduced for both CS and CSHL treatment ($P<0.05$).

On day 43, the NSC of the CSHL treatment was significantly higher than that of the control ($P=0.0184$). Interestingly, SST was similar for all treatments: 80.2 ± 4.8 ; 82.9 ± 4.5 ; $73.3 \pm 2.4 \text{ mg.g}^{-1} \text{ DM}$; for control, CSHL and CS treatments, respectively. Starch was higher in the CSHL treatment compared to the others (measured at 64.2 ± 16.9 , 37.2 ± 10.5 , $13.6 \pm 1.8 \text{ mg.g}^{-1} \text{ DM}$ for the CSHL, CS and control treatments, respectively).

Before going further into the interpretation of the results, it is important to note that no needle reddening was observed in any of the treatments.

IV. Discussion

A. Cold soil-induced water stress

Cold soil treatment induces a stomatal closure and a drop in midday leaf water potential (Ψ). Our experimentation shows the same usual markers of soil water deficit but in well-watered condition - relative extractible water content above 80% - at low temperature. Thus, cold soil inhibits or at least limits root water uptake that is defined as winter drought in our study.

- ***From day 1 to 9: simultaneous decrease of Ψ , stomatal conductance, and stem shrinkage reveal an inhibition of root uptake***

At the start of the experiment, trees were in a dormancy state and radial growth resumption did not still occurs. A progressive decrease in stomatal conductance occurs at day 10 for $\Psi = -1.26$ MPa (Figure 20). The simultaneous decrease in Ψ and stem shrinkage confirms the induction of water stress (Figure 18). Indeed, stem diameter variations present a reversible shrinkage and swelling in relation to changing hydration levels, *i.e.* the water status of the whole tree (Ameglio et al. 1990; Zweifel et al. 2001; Zweifel et al. 2005). The reduction in stem increment of the CS treatments is induced by a water deficit related to the whole tree water status.

The greenhouse environmental conditions of our study are closed to moderate winter evaporative demand, *i.e.* $T_{air_day} \sim 14^{\circ}\text{C}$, relative humidity (RH) = 55%. Transpiration fluxes can be buffered by the internal water reserves of the cortical cells, which can be depleted and replenished daily. During the first days of our experiment, the decrease in stem shrinkage highlights the decrease in water content of the bark cells (Knüsel et al. 2021). Water reserves in needles and bark tissue are used daily to be less dependent on soil water content in young Norway spruce (Zweifel et al. 2001). However, when water losses through transpiration exceed water supply (root water uptake) and intrinsic pools (capacitance), tension in the xylem sap increases, resulting in stomatal closure. As the maximum nightly diameter is higher from the previous day to the next, we suggest that cold temperature inhibited root water uptake until day 6. Lopushinsky and Kaufmann (1984) defines a moderate evaporative demand for a similar environment, *i.e.* $T_{air_day} = 20^{\circ}\text{C}$, RH = 57%. For Douglas-fir, similar Ψ ($\Psi = -1.45$ MPa at $T_{soil} = 1.3^{\circ}\text{C}$) are associated with stomatal limitation values. Strong stomatal limitation on day 8 coincides with a re-increase in stem increment, highlighting an improvement in the water status of the whole tree.

- ***From day 9: Toward a new water equilibrium?***

Douglas-fir xylem embolism is not increased by CS treatment throughout the experiment (<15% from day 1 to day 43), suggesting that Douglas-fir has developed a strategy to limit water stress via two processes: i) limiting water loss per stomata and ii) improving root water uptake.

When faced with water stress, *i.e.* summer drought stress, Douglas-fir adopts a conservative strategy characterised by isohydric stomatal regulation (Jones et Sutherland 1991; Kerhoulas et al. 2020). Stomatal closure is associated with $\Psi_{\text{xylem}} \leq -2$ MPa (Bond et Kavanagh 1999). Such great stomatal regulation is aimed at conserving water and maintaining the metastability of xylem sap, which limits the formation of gas bubbles (cavitation). Thus, Douglas-fir may not regularly function at the limit of catastrophic cavitation *i.e.* $\Psi_{\text{xylem}} < -3.5$ MPa. Xylem vulnerability curves for seedling Douglas-fir stems showed no loss of conductance when Ψ_{xylem} was greater than -2.0 MPa – due to a strong stomatal regulation -, and complete loss below -7.5 MPa (Cochard 1992; Bond et Kavanagh 1999). In our study, stomatal closure occurs at $\Psi_{\text{xylem}} = -1.26$ MPa, which is above that for summer drought, suggesting a stronger stomatal regulation in our experimental conditions.

From day 8, the stem diameter of the Douglas-fir reaches its initial diameter, confirming an improvement in the overall water status of the Douglas-fir. The increase in stem diameter can be explained by a partial/total replenishment of the internal water reserves of the bark cells, suggesting a cold acclimation process of the roots. Increased root uptake may be due to an increase in root membrane fluidity and an up-regulation of aquaporins. Membrane composition may change with an increase in unsaturation of fatty acids in plants acclimated to low temperatures. This would allow the maintenance of functional membrane fluidity and membrane integrity (Mikami et Murata 2003; Los et Murata 2004). Lee et al. 2012 show that high water uptake correlates with up-regulation of the aquaporin gene during long-term low-root-temperature-treated rice.

Low soil temperatures limit root water uptake and cause moderate water stress. After a few days, Douglas-fir is able to find a new equilibrium by adopting isohydric strategy and increasing root water uptake. Last but not least, we did not observe any reddening of the needles, suggesting that the water stress induced by our cold soil-warmed air conditions, might either not responsible or not strong enough for winter reddening.

B. Impact of low soil temperatures on growth

- ***Cold soil delay growth resumption***

Low soil temperature induces a delay of 12 days in the resumption of secondary growth and a delay of 35 days in bud break compared to the control. In Douglas-fir, a similar treatment causes a delay

in bud break of 3 (Lopushinsky and Kaufmann 1984) to 14 days (Lavender et al. 1973). Delays are probably minimised by a longer photoperiod, *i.e.* 14h and 16h respectively, than that used in our study (11h). In addition, the level of cold acclimation can also influence bud burst, suggesting a higher level of cold deacclimation for the Douglas-fir used in the two studies mentioned above. In addition, low soil temperatures (< 5°C) in Douglas-fir reduce shoot height while root growth is severely limited (Lopushinsky et Kaufmann 1984; Lopushinsky et Max 1990).

- ***Water limitations may delay growth dynamic***

As previously discussed, water status is altered by cold soil temperature under moderate evaporative demand. Water is essential for cellular processes, including cell growth. Cell growth elongation, defined as an irreversible increase in cell volume, is a process controlled by both physical processes via water turgor pressure and biochemical processes via changes in mechanical wall properties. Water turgor pressure, through increased cell water uptake, can result in higher water content, which can reach up to 90% of the growing cell volume (Lockhart 1965; Schopfer 2006). When the cell wall loosens (mainly due to biochemical factors), turgor decreases, which in turn reduces the internal water potential, which then drives water influx and cell elongation (Schopfer 2006). Growth slows as the water potential decreases due to dilution of the intracellular solute concentration by cell water uptake. However, to develop a steady-state growth and elongation process, growing cells must maintain osmoregulatory solute uptake in parallel with water uptake. Water stress induces water limitations that can reduce both cell growth and elongation. Water deficit induced by severe drought inhibits or strongly limits tree growth, which is a potential drought survival strategy (Volaire et al. 2023; Pflug et al. 2015). Thus, reduction in stem increment can result from a change in the water status of the tree, but also from carbon limitation (Daudet et al. 2004).

Under normal spring conditions, an increase in carbon assimilation is observed in the control needles, while a progressive decrease in NSC content is observed (control treatment; Figure 23). Thus, we suggest that NSC are exported to growth sinks to support organ growth (see stem increment and shoot growth; Figure 21A-B). In Douglas-fir, the first sink for newly produced NSC are the new roots, followed by the growing shoots (Driessche 1969; Philipson 1988). Optimal root growth is above 15°C (Lyr 1996), whereas low soil temperatures limit/inhibit root growth suggesting dysfunction in either photoassimilate production or transport.

- ***Carbon status and impact in growth dynamic***

Variations in stem diameter provide information on secondary growth constraints induced by carbon limitation. Double girdling experiments induce a strong interruption of phloem flow without restricting the water status of the tree (Daudet et al. 2004). Disruption of phloem flow inhibits stem

increment, highlighting the essential role of carbon assimilates flowing from needles to growing cells (Daudet et al. 2004). The low stem increment of the CS treatment (half of the control) could be due to isohydric stomatal limitation resulting in reduced photoassimilate production (Figure 22). New photoassimilates are known to be the primary carbon source for new root and shoot growth in conifer seedlings (Gordon et Larson 1970; Lopushinsky et Max 1990; Lippu 1998) However, starch content accumulates in the needle of the CS treatment while soluble sugars content remains stable. Similar results are found when young conifers are exposed to low soil temperatures (Repo et al. 2004). This suggests that photoassimilates are not exported but converted into starch in the needles. Starch accumulation may be caused by several factors: i) A_{net} measurement may not be representative of the daily trend and our measurement minimises photoassimilate production. It was measured instantaneously in last year's needles between 9:30 and 16:00 - *i.e.* the highest daily evaporation time. ii) There could have been carbon remobilisation from older needles or other bark cells to the young needles. This highlights the fact that we have no evidence of carbon remobilisation on a conifer scale.

Even if A_{net} is reduced by cold soil, growth may not be limited by carbon assimilation, *i.e.* carbon source (in needles), but rather by inhibition of carbon sinks due to low temperature (Körner 1998). Carbon sinks are the new tissues, *i.e.* the growing shoots and the growing roots. Growth processes (cell division, cell elongation and cell differentiation) are more sensitive to low temperature than photosynthesis (Hoch et al. 2003). Cell division, which depends on the activity of the mitotic cell cycle, is not interrupted near 0°C, whereas cell elongation, which is a complex process involving turgor-driven growth, is expected to be affected between 1 and 5°C (Wingler 2015; Nagelmüller et al. 2017). Thus, low soil temperatures may reduce water fluxes by reducing sink strength and increasing phloem viscosity. Transport in the phloem is driven by mass flow, which is induced by a hydrostatic pressure gradient between source and sink (Lacointe 2000; Turgeon 2010). The flow is also influenced by the viscosity of the phloem sap, which is largely determined by the relative concentrations of carbohydrates. Under water stress, viscosity increases and flow capacity decreases as the relative water content of the phloem decreases (Woodruff et Meinzer 2011).

To conclude, low soil temperatures limit root water uptake, creating water stress that does not prevent growth resumption. Thus, water deficit delays, but does not stop, both primary and secondary growth.

C. High light compensates the effect of cold soil on growth dynamic

Douglas-fir, exposed to CSHL treatment, have a 10-day delay in resumption of secondary growth compared to the control, but at the end of the experiment the daily growth rate exceeds the control, while secondary growth reached the control. We want to add, that in September three of the seven CSHL Douglas-fir died. As in CS treatment, reddening was not observed. We could neither relate the dieback with our physiological data nor winter reddening, but it was harmful in a certain way.

- ***No photodamages on photosystem II***

No variation in F_0 during the experiment (data not shown), combined with the final increase in F_v/F_m , highlights the absence of irreversible damage to PSII (Krause 1988). Reversible photoinhibition does not cause severe damage to photosynthetic systems. Reversible photoinhibition is associated with photoprotective mechanisms to dissipate excess light energy: conversion of violaxanthin to zeaxanthin (from the xanthophyll cycle), non-photochemical quenching (NPQ) (Adams et al. 1995; Goh et al. 2012). As there is no difference between CS and CSHL treatment in stomatal conductance, water potential and net assimilation of Douglas-fir at the end of the experiment, we assume that reversible photoinhibition has little effect on water stress (Figure Sup 4). Similar results have been reported for *Pinus sylvestris* (Delucia, 1986). The absence of cell damage or irreversible damage to photosystems is not accompanied by visual abnormalities such as needle discoloration or reddening.

- ***Partial depletion of internal water reserves BUT no more embolism***

During the experiment, the needle water content of the CSHL treatment decreased by 11%, while it remained stable for the control (3%) and the CS treatment (2%). To respond to the high evaporative demand or to the high daily growth rate, water may be released from the bark, which is thought to act as an additional reserve buffer to limit water stress in the conifers (Zweifel et al.). Finally, an increase in root water uptake may be a process that reduces internal water depletion (as discussed above), thereby limiting potential embolism. As there is no more embolism than the other treatment at this end of the experiment ($< 15\%$), water stress is not the main cause of the decline in Douglas-fir.

- ***Impacts of CSHL on secondary and primary growth***

Even though primary and secondary growth are slowed down by low soil temperatures (CS treatment), high light supplementation compensates this effect by having similar growth then the control after 30 days exposure. Although the daily average temperatures were not significantly different between CSHL and the other treatments, there were significant differences between the daily maximums, which could have warmed the tissues and amplified growth. Thus, the strong growth of the CSHL trees could be due to the combined effect of the higher temperature and light intensity of the controls and the CS.

Light responses curves in Douglas-fir seedlings under similar environmental conditions at midday ($T = 19^\circ\text{C}$, PPFD up to $2000 \mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) highlight that $A_{\text{sat}} \sim 9 \mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (PPFD $\sim 600 \mu\text{mol photon CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) whereas $A_{\text{SAT}} = 11.2 \pm 1.6 \mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ at $2000 \mu\text{mol photon}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (Lewis et al. 1999). Thus, Douglas-fir under high light irradiance at equal ambient temperature is able to produce more photo assimilates resulting in high SST and starch content (see Figure 23; on day 45). What is surprising is at the end of the growth season, terminal shoots growth is the lowest compared

to the other treatments. Such regulation of terminal shoot growth may have been induced by the inhibition of gibberellin production when exposed to high light intensity ($500 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$; Potter et al. 1999). Reduced branch elongation with high mortality was also observed *in natura* the year following a clearcut when Douglas-fir were exposed to direct light (Van Pelt et Franklin 1999). Establishment of high direct light increases Douglas-fir mortality. However, lateral shoots length was similar to the control one. The behaviour suggests that high light triggers strong growth resumption, but trees are not able to long-term maintain such a high growth rate. The three trees that died were the first to budbreak.

V. Conclusion:

Late winter exposure of young Douglas-fir to differential thermal conditioning with cold soil ($<5^{\circ}\text{C}$) and warm air ($T_{\text{mean}} \sim 14^{\circ}\text{C}$) induces water stress by initially inhibiting root water uptake for a few days. Moderate water stress is characterised by partial stomatal closure or a decrease in water potential. Despite this water stress, Douglas-fir is able to find a new equilibrium with isohydric stomatal regulation and cold-acclimated root processes that improve water uptake. Thus, no severe hydraulic dysfunction was observed.

The CS treatment shows a delay in primary and secondary growth, but high light exposure can compensate for the effect of low soil temperatures, induce Douglas-fir secondary growth, and bud break timing similar to controls. High light does not increase water stress and does not induce irreversible photooxidative damage. The hypothesis of hydraulic failure during winter drought was rejected in this study. In fact, the induced water stress was not sufficient to induce winter reddening. Further research is needed to investigate how the physiology of Douglas-fir in winter may or may not be able to cope with other climatic parameters. As winter reddening occurs after anticyclonic winter conditions, we could suggest two main constraints: i) wind and ii) frost. Both were excluded in our greenhouse study. However, frozen soil and the freeze-thaw cycle could affect the water status of the trees more, while strong wind could increase the evaporative demand too much.

Conclusion générale

Dans ce chapitre, nous avons testé deux hypothèses susceptibles de générer un rougissement hivernal du Douglas : 1) une sécheresse hivernale et 2) un stress photo oxydatif combiné à une sécheresse hivernale.

- L'exposition de jeunes Douglas, en fin d'hiver, à une **Sécheresse Hivernale (SH)** *i.e.* à un conditionnement thermique différentiel avec un sol froid ($<5^{\circ}\text{C}$) et des températures aériennes chaudes ($T_{\text{moy}} \sim 14^{\circ}\text{C}$) induit un stress hydrique modéré, en limitant fortement l'absorption d'eau racinaire pendant les premiers jours. Malgré ce stress hydrique, les Douglas parviennent à trouver un nouvel équilibre via une régulation stomatique isohydrique et des processus d'acclimatation au froid des racines qui améliorent l'absorption d'eau. Aucun dysfonctionnement hydraulique conséquent n'a été observé. Aucun rougissement hivernal n'a été observé, ce qui invalide l'hypothèse d'une SH comme génératrice d'un stress hydrique létal et d'un rougissement des aiguilles.
- L'exposition à des intensités lumineuses très élevées pendant plus de 30 jours n'induit pas de photo dommages irréversibles et de rougissement de l'aiguille, ce qui invalide le **Stress Photo-Oxydatif (SPO)** comme générateur du rougissement hivernal. De plus, les intensités lumineuses ont été choisies en étant trois fois supérieures à celle mesurées sur le terrain en décembre 2023 dans le Livradois-Forez soit 600 ± 16 PPFD afin d'avoir une réponse très forte si jamais le SPO induisait un rougissement de l'aiguille du Douglas.

Nous rejetons l'hypothèse d'une SH telle que définie dans nos conditions. Comme le rougissement hivernal a été noté suite à des conditions hivernales anticycloniques, nous pourrions suggérer deux autres contraintes climatiques non prises en compte dans cette étude : i) le vent et ii) le gel. En effet, un sol gelé (donc des températures du sol plus basse que celle de notre étude) et/ ou une succession des cycles de gel-dégel pourraient davantage affecter le statut hydrique des arbres. Une vitesse de vent élevée pourrait augmenter la demande évaporatrice de manière excessive, en amplifiant les pertes d'eau cuticulaires et/ou en générant des dysfonctionnements hydrauliques. Des recherches supplémentaires seraient nécessaires pour examiner comment la physiologie du Douglas en hiver peut ou non faire face à d'autres paramètres climatiques.

Si les conditions environnementales génératrices de SH et de SPO n'ont pas induit de rougissement de l'aiguille, certains résultats demeurent intéressants à noter. Des températures froides racinaires retardent la croissance primaire et secondaire (traitement CS), mais ce retard est compensé par l'exposition à une forte intensité lumineuse (traitement CSHL). L'exposition simultanée à des températures racinaires froides et à des fortes intensités lumineuses, n'induit pas de stress hydrique supplémentaire ni de dommages photo-oxydatif irréversibles. À la question de savoir qui du statut

hydrique ou du statut carboné limite la croissance des jeunes arbres, la co-occurrence d'une réduction de la croissance des pousses et d'une augmentation du stockage de NSC, observée dans les traitements CS et CSHL, souligne que l'assimilation du carbone n'est pas le facteur limitant pour la croissance. Une absorption d'eau limitée peut réduire la croissance primaire et secondaire en diminuant la turgescence cellulaire, le transport à longue distance des photoassimilats ou les changements dans l'allocation du carbone associés à une réduction de la force d'attraction des puits *i.e.* pousses/racines en croissance. Par conséquent, l'état hydrique peut être considéré comme le facteur limitant le plus important.

Une partie des variables climatiques proposées par l'analyse bioclimatique (Partie II) ont été testés pour objectif d'induire soit une sécheresse hivernale soit une sécheresse hivernale combiné avec un stress photo-oxydatif afin d'induire un rougissement hivernal. Pour induire une sécheresse hivernale, des jeunes Douglas ont été exposés à une température maximale journalière (26.2 ± 5.8 °C ; Moyenne \pm ET ; Figure Sup 9) couplées avec des amplitudes thermiques de 17.9 ± 6 °C ainsi qu'à une humidité relative minimale faible (40.4 ± 7.3 °C) pendant 43 jours à compter du 1^{er} février 2022. Une partie de ces arbres a été exposée à une intensité lumineuse très élevée ($> 1\ 500$ PPFD). Ces conditions stressantes n'ont malgré tout pas déclenchées de rougissement hivernal. Ainsi, ces résultats sont en contradiction partiel avec ceux de l'analyse bioclimatique. Néanmoins, l'ensemble des variables n'a volontairement pas été testé pour comprendre les interactions entre variable et savoir si l'une d'entre elles ressortaient par rapport aux autres. Les éléments nouveaux apportés par l'expérimentation en conditions contrôlées pourraient permettre de revoir l'analyse en tenant compte de l'interaction des diverses variables et de possible effet synergique entre eux. Il serait intéressant de confirmer ou d'infirmer l'approche sans a priori par une approche avec a priori qui pourrait permettre de tester plusieurs variables et de jouer sur l'effet synergique des variables entres elles.

Chapitre 2

Etude du rougissement induit par une sécheresse édaphique estivale

“Ton verre est à moitié vide ou à moitié plein? “, demanda la taupe.

“Je suis bien content d’avoir un verre“, dit l’enfant.

Charlie Mackesy



22/04/2022 : début de l’expérimentation d’une sécheresse estivale édaphique.

Introduction

La sécheresse édaphique est une diminution suffisamment importante de la disponibilité en eau du sol pour être susceptible d'entraver le fonctionnement optimal des plantes (Bouriaud et al. 2004). Elle induit un abaissement du potentiel hydrique du sol et une augmentation de la résistance hydraulique à l'interface sol-racine. Elle peut être générée par l'absence d'eau dans le sol (cas typique d'une sécheresse estivale - Granier et al. 2007) ou bien par des températures basses, qui limiteraient voire inhiberaient totalement l'absorption racinaire (Mellander et al. 2006 ; Améglio et al. 2002). Le chapitre précédent a montré que dans le cas d'une sécheresse hivernale (température du sol inférieure à 5°C et température aérienne supérieure à 14°C) conduisant à la mise en place d'un stress hydrique modéré sans rougissement de l'aiguille, l'arbre est capable de s'adapter à son nouvel environnement. Cependant en été, le déficit hydrique du sol, en inhibant totalement l'absorption racinaire, est susceptible d'induire un stress hydrique pouvant amener le Douglas à rougir, et souvent même à sa mortalité (Drénou et Rosa, 2014).

Le premier objectif de cette étude a été de caractériser la physiologie et en particulier le fonctionnement hydraulique du Douglas, en cas d'exposition à une sécheresse édaphique estivale. Cela nous permettra de comparer le stress hydrique induit par une sécheresse estivale édaphique aboutissant à un rougissement de l'aiguille, avec le stress hydrique créé lors d'une sécheresse hivernale (chapitre 1 partie III). L'hypothèse posée serait, au vu du comportement physiologique observé lors d'une sécheresse hivernale, que les Douglas développerait une stratégie 'isohydrique', c'est-à-dire avec une fermeture stomatique rapide afin de préserver le statut hydrique lors d'une exposition à des fortes contraintes environnementales édaphiques.

Le second objectif de notre étude a été de caractériser la contrainte hydrique en elle-même, c'est-à-dire la propagation de l'embolie au sein d'un Douglas. Pour cette essence, les valeurs rapportées pour 50% de perte de conductivité hydraulique (P50) varient de -2,45 à -6,3 MPa pour les branches, de -1,3 à -4,7 MPa pour les segments de tronc et, de -1 à -3,8 MPa pour les racines (Sperry et Ikeda 1997; Martínez-Vilalta et al. 2002; J.-C. Domec et al. 2004; Dalla-Salda et al. 2009). Cette forte disparité peut être expliquée par l'utilisation de différentes sous-espèces qui peuvent différer dans leur vulnérabilité à l'embolie, mais aussi surtout par l'utilisation de différentes techniques hydrauliques. Ainsi, l'étude de la vulnérabilité à l'embolie des différents organes *i.e.* rameaux, troncs, racines pour différents niveaux de contrainte hydrique, devrait permettre de mieux comprendre où et comment se propage l'embolie.

Pour suivre en continu l'état physiologique des plants lors d'une sécheresse édaphique, les mêmes dendromètres, qui mesurent les variations du diamètre des tiges, ont été utilisés sur de jeunes Douglas pour cette expérimentation. Des mesures ponctuelles de conductance stomatique, de potentiel hydrique de pousse, de fluorescence chlorophyllienne (1-2 fois/ semaine) ont été mises en place. Pour répondre au second objectif de segmentation de la vulnérabilité à l'embolie, des courbes de vulnérabilité

ont été construites pour trois sections du tronc (apex, milieu tronc, collet), les rameaux inférieurs et supérieurs des verticilles et les racines.

I. Matériels et méthodes

▪ *Matériel végétal et plan expérimental*

Des plants de Douglas (*Pseudotsuga menziesii* M. provenance Darrington) âgés de quatre ans – 1 m de haut – provenant de la pépinière Dubost Foret (Celle-sur-Durolle, France) ont été transplantés dans des pots de 10 L en mars 2021. Le sol était composé d'un mélange argilo-sableux (Terre de Limagne). Les arbres ont été bien arrosés et maintenus dans des conditions naturelles à l'INRAE de Clermont-Ferrand (45.877N, 3.814E, France) d'avril 2021 à avril 2022. Quinze arbres ont été transférés sous serre le 15 avril 2022, arrosés à saturation, pour commencer l'expérimentation le 22 avril 2022. L'expérimentation s'est achevée le 6 juillet, le temps que le dernier arbre atteigne le même niveau de déshydratation que les autres.

Quinze arbres ont été répartis aléatoirement entre un groupe témoin (trois arbres) et un groupe sécheresse (douze arbres). La sécheresse édaphique a été réalisée par arrêt d'arrosage à partir du 22 avril 2022.

Expérience 1 : **Caractérisation d'une sécheresse édaphique d'un jeune Douglas**. Le potentiel hydrique foliaire minimum, la conductance stomatique, la fluorescence chlorophyllienne ainsi que les variations de diamètres ont permis de suivre avec précision la contrainte hydrique des arbres jusqu'à la déshydratation extrême.

Expérience 2 : **Etude de la propagation de l'embolie au sein d'un jeune Douglas lors d'une sécheresse édaphique**. Les plants, non irrigués, issus de l'expérience 1 ont été découpés en section pour caractériser la vulnérabilité à la cavitation des divers parties et/ou organes du Douglas. Ainsi, quatre niveaux importants de contrainte ont été distingués préalablement : la fermeture stomatique ($\Psi \sim -1.5$ MPa), le P50 du Douglas estimé autour de -3 MPa (Bond et Kavanagh 1999), un niveau de stress intermédiaire entre le P50 et le P88 (soit $\Psi \sim -5$ MPa), la P88 ($\Psi < -7.5$ MPa ; l'arbre est totalement embolisé). Pour chacun de ces points, trois arbres ont été découpés en 6 sections : Apex, milieu tronc, collet, racine, rameau du verticille inférieur et rameau du verticille supérieur. Ces sections ont été scannées au micro tomographe à rayon X afin de pouvoir en déterminer les PLC.

La fluorescence chlorophyllienne (mesurée tous les 10 jours), le potentiel hydrique de pousse (mesuré deux fois par semaine) et la PLC (mesurée au moment où l'arbre est coupé en sections) ont été mesurés comme précédemment décrit Partie III, chapitre 1, Matériels & méthodes.

- **Mesure de la conductance stomatique**

La conductance stomatique a été évaluée sur la surface inférieure des aiguilles des rameaux de l'année précédente à l'aide d'un poromètre (AP4 ; Delta-T Devices Ltd, Cambridge, UK). Pour chaque point cinétique, trois points (bas, milieu, haut de houppier) ont été mesurés sur chaque Douglas de l'expérience. Elle a été mesurée deux fois par semaine jusqu'à la fermeture stomatique.

- **Etablissement des courbes de vulnérabilité**

Le PLC a été déterminé pour six organes différents à différent potentiel hydrique du xylème (3 arbres pour potentiel hydrique). L'évolution du PLC et du potentiel hydrique en cours de sécheresse ont permis la détermination de courbes de vulnérabilité.

Une fonction sigmoïdale a été utilisée pour établir la courbe de vulnérabilité (VC) de chaque organe selon l'équation suivante :

$$PLC = \frac{K}{(1 + e^{S*((\Psi_{MID}-P50)/25)})}$$

Où S est la pente de la sigmoïde, K est le maximum de perte de conductivité ici K = 100, P50 est la pression dans le xylème pour atteindre 50% de perte de conductivité hydraulique. ; Ψ_{MID} le potentiel hydrique à midi.

Le P12, aussi appelée « point d'entrée d'air » (Sparks and Black, 1999), se calcule selon l'équation:

$$P12 = P50 + \frac{50}{S}$$

Le P88 ou « point complet d'embolie » est défini comme le potentiel hydrique induisant 88% de perte de conductivité hydraulique. Il se calcule selon l'équation suivante :

$$P88 = P50 - \frac{50}{S}$$

- **Mesure des variations de diamètre et calcul de l'amplitude de contraction maximale (ACM), ce qui est l'équivalent de MDS du chapitre 1 - Partie III, Matériels & méthodes**

Le pourcentage de perte de diamètre – Percentage Loss of Diameter (PLD) a été calculé pour chaque arbre, avec Dmax le diamètre maximal atteint par l'arbre (le diamètre initial mesuré avant la pose du dendromètre) et Dmin le diamètre minimal *i.e.* celui atteint avant d'être découpé en section. Cette notion a été définie par Lamacque, 2020.

$$PLD = 100 * \frac{(Dmax - Dmin)}{Dmax}$$

- **Détermination de la réduction de diamètre en lien avec la déshydratation des tissus du tronc**

L'analyse des scans du microtomographe à rayon X (Nanotom 180 XS; GE, Wunstorf, Germany) a permis d'estimer sur chaque scan le diamètre total du tronc, du diamètre des tissus dits « élastiques » - soit le cambium, le xylème en cours de formation, le phloème ainsi que l'écorce – ainsi que celui des tissus non-élastiques. Ils sont considérés comme « élastiques » car leur contenu en eau varie quotidiennement, ils ont la capacité de se déshydrater et de se réhydrater tous les jours en cas de transpiration (Zweiffel et al. 2001). Ainsi, le logiciel ImageJ nous a permis d'estimer les diamètres représentés par ces tissus élastiques à 23.5 ± 1.6 % du diamètre total du tronc (moyenne \pm es ; Figure 24). Le diamètre de ces tissus a été calculé par différence entre le diamètre du tronc (mesuré au pied à coulisse et rapporté sur ImageJ) avec le diamètre des tissus non élastiques (mesuré pour chaque scan sur ImageJ, suite à une identification visuelle). Les tissus non élastiques sont les tissus centraux à savoir la moelle et les trachéïdes qui seraient moins à même de pouvoir ajuster leur contenu en eau en fonction du stress hydrique.

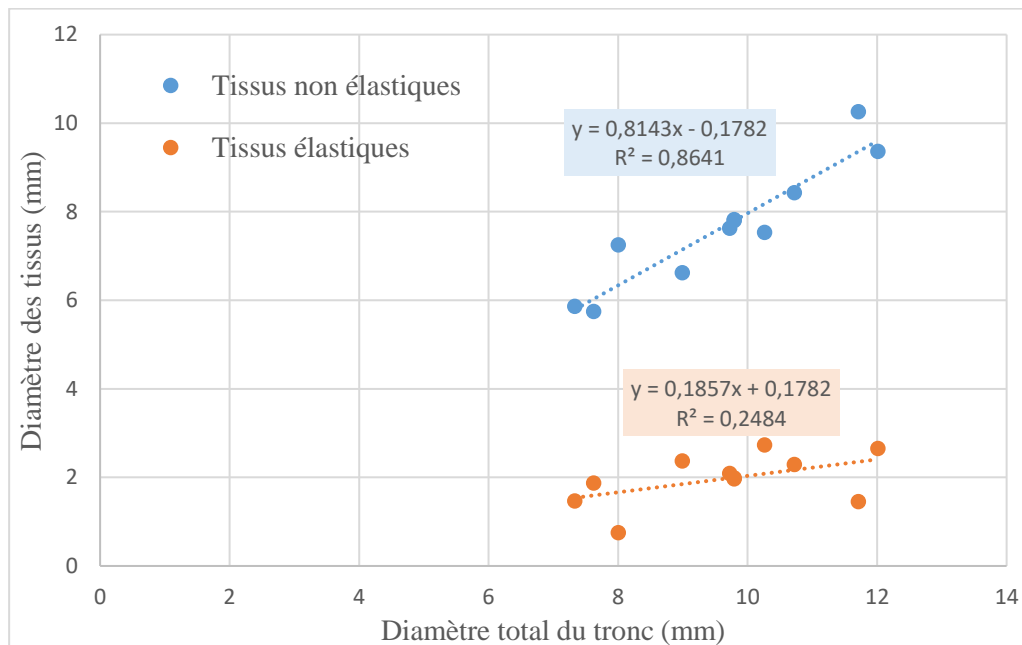


Figure 13: Relation linéaire entre le diamètre des tissus non élastiques et élastiques en fonction du diamètre total.

- **Statistique**

Les analyses statistiques et les figures ont été réalisées à l'aide du logiciel libre R 3.1.0 (R Development Core Team). Les conditions d'application d'un test paramétrique n'étant pas rassemblées, les comparaisons de moyenne ont été réalisées à l'aide du test non paramétrique de Kruskal-Wallis, suivi d'un test post-hoc de Conover-Iman. La fonction sigmoïde a été utilisée pour ajuster la relation entre PLC, Contenu en eau, fuite d'électrolytes. Toutes les analyses statistiques ont été basées sur un niveau de signification inférieur à 0,05. Les figures ont été réalisées à l'aide du package avec ggplot2 (Wickham 2009).

II. Résultats & discussion

A. Réponse physiologique du Douglas à un arrêt d'irrigation

- ***Fermeture stomatique et maintien du statut hydrique pendant 20 jours avant d'amorcer une déshydratation létale des tissus***

La conductance stomatique des arbres témoins diminue de $99 \pm 1 \text{ mmol.m}^2. \text{s}^{-1}$ au jour 1 à $67.7 \pm 10 \text{ mmol.m}^2.\text{s}^{-1}$ au jour 11, puis ré-augmente à partir du jour 18 pour ré-atteindre les valeurs initiales *i.e.* $91 \pm 13 \text{ mmol.m}^2.\text{s}^{-1}$ (Figure 25A). La conductance stomatique des arbres non irrigués diminue aussi au jour 6 sans différence significative avec les arbres témoins. En revanche, au jour 11, la conductance stomatique a diminué très significativement, de 66 % par rapport au jour initial et de 52 % par rapport aux arbres témoins. A la différence des arbres témoins, la conductance stomatique continue de diminuer par la suite jusqu'à atteindre des valeurs très faibles à partir du jour 14, voire nulle dès le jour 18 (respectivement de 6.1 ± 3.1 ; $1.1 \pm 0.8 \text{ mmol.m}^2. \text{s}^{-1}$).

Le potentiel hydrique de pousse à midi des arbres témoins reste stable pendant les deux mois d'expérimentation, c'est-à-dire entre -1 et -1.3 MPa (Figure 25B). Au 10^{ième} jour, les Douglas non irrigués connaissent une diminution significative de leur potentiel hydrique qui diminue de -1.12 ± 0.05 MPa au jour 1 à -1.44 ± 0.04 au jour 10. Pendant 20 jours *i.e.* jusqu'au jour 18, le potentiel hydrique reste similaire puis diminue très fortement pour atteindre des potentiels hydriques faibles ($\Psi = -3.7 \pm 0.7$ MPa) treize jours après. Des potentiels hydriques inférieurs à 5 MPa sont notés à partir du jour 40.

Il est possible de noter la corrélation entre la première légère diminution du potentiel hydrique au 10^{ième} jour et la fermeture stomatique (Figure Sup 10). Au jour 13, les stomates sont considérés comme fermés - moins de 10% de pertes hydriques - pour $\Psi_{\text{close}} = -1.55 \pm 0.05$ MPa. Cette valeur de fermeture stomatique est en adéquation avec celles mesurées à environ -1,6 MPa par d'autres auteurs (Lassoie et Salo 1981; Kavanagh et al. 1999). La fermeture stomatique permet de maintenir le potentiel hydrique en limitant les pertes hydriques au niveau du houppier pendant au moins 8 jours supplémentaires.

La décoloration de l'aiguille du vert au « vert séchant » est homogène sur tout le houppier à partir de potentiel hydrique inférieur à -3 MPa. Le rougissement de l'aiguille est quant à lui noté à partir de potentiel hydrique inférieur ou égal à -8 MPa et principalement sur la plus vieille cohorte d'aiguille, c'est-à-dire celle présente à la base des branches, et cette observation a été faite uniformément sur tout le houppier.

L'efficacité photochimique, estimée à travers le rapport F_v/F_m , est mesurée au jour 1 à 0.83 ± 0.01 pour les arbres témoins et à 0.80 ± 0.02 pour les arbres non irrigués (Figure 25C). La fluorescence

chlorophyllienne des arbres témoins reste similaire tout au long de l'expérience, c'est-à-dire supérieure à 0.80. Il s'agit de valeurs types d'un arbre non stressé, traduisant la haute efficacité du photosystème II (PSII) à utiliser la lumière pour la conversion photochimique (Guadagno et al. 2017). La diminution significative de Fv/Fm commence 12 jours après, au jour 22, pour atteindre 0.5 ± 0.09 . Au jour 39, le rapport de Fv/Fm est mesuré à 0.27 ± 0.17 . Des valeurs de Fv/Fm < 0.4 sont associées à des photodommages irréversibles, une activité biochimique fortement réduite voire nulle, caractéristique des sécheresses très sévères (Vilagrosa et al. 2003; Pritzkow et al. 2021).

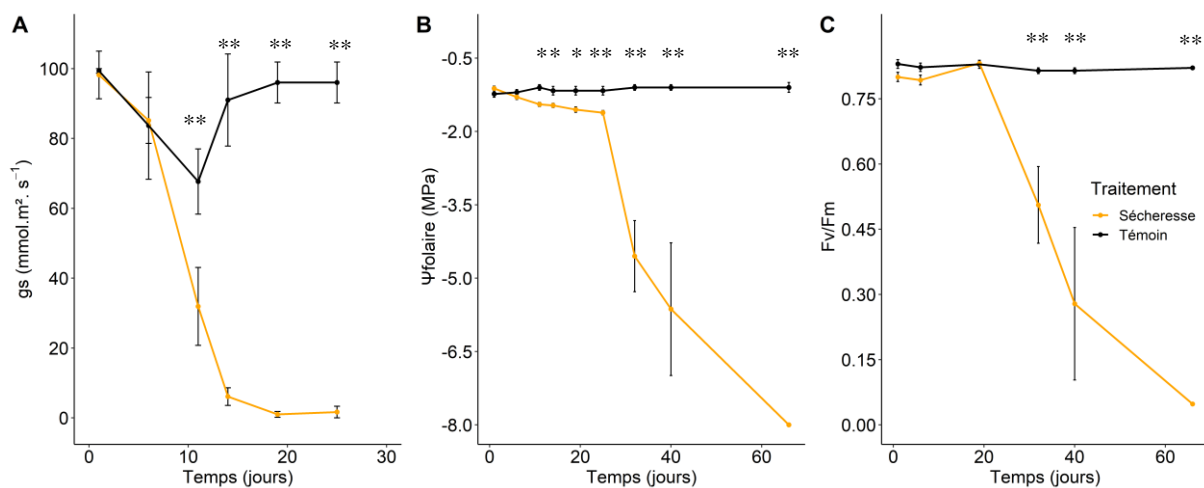


Figure 25 : Evolution dans le temps dans la conductance stomatique (A) ; du potentiel hydrique de pousse (B) ; de la fluorescence chlorophyllienne (C). Moyenne \pm erreur standard. En orange, les arbres en cours de sécheresse. En noir, les témoins. Les astérisques '*' et '**' indiquent respectivement une différence significative ($P < 0.05$) ou très significative ($P < 0.01$) entre les deux traitements des Douglas.

■ **Un stress hydrique léthal induit une contraction du diamètre de 12%**

Nous n'avons pas pu, comme pour les mesures physiologiques précédentes, présenter les variations de diamètre en fonction du temps pour deux raisons : i) la vitesse de déshydratation des arbres était très différente (en fonction de la grande disparité des surfaces foliaires – données non mesurées dans notre étude) et ii) comme trois arbres étaient retirés de l'expérience pour être scannés au tomographe à divers potentiels hydriques (-1.5 ; -3 ; -5 ; -8 MPa). Aussi, moyenner les variations de diamètre en fonction du temps induisaient alors plusieurs chutes brutales dans la courbe de variation de diamètre, qu'on ne retrouvait pas sur des variations de diamètre individuelles. Afin d'éviter ces biais, il a été choisi de montrer les variations de diamètre en prenant en compte l'Amplitude de Contraction Maximale (ACM) en fonction du potentiel hydrique. Par la suite (§. *Synthèse sur la physiologie du Douglas face à la sécheresse édaphique*), nous avons retenu l'exemple d'un arbre sur les 3 déshydratés au-dessous de -8

MPa pour étayer en discuter en détail la physiologie du jeune Douglas en cas de sécheresse édaphique mortelle.

Pour des potentiels hydriques entre -1 et -2 MPa, l'ACM est systématiquement inférieure à 0.5 mm, soit 1.7 ± 0.1 % du diamètre total (Tableau 1 ; Moyenne \pm se ; Figure 26). L'équivalent du P50, soit le potentiel hydrique pour lequel l'ACM vaut 50% de la contraction totale, est estimé à $\Psi = -3 \pm 0.11$ MPa. Pour des valeurs de potentiel hydrique comprises entre [-4.7 ; -5.5], l'ACM a été mesurée à 1.51 ± 0.16 mm, soit $9.9 \pm 0.7\%$. Ainsi, pour des potentiels hydriques inférieurs à -6 MPa, l'ACM atteint l'asymptote haute de la sigmoïde, soit des valeurs de contraction de diamètre estimées à 1.93 ± 0.18 mm, soit 12.1 ± 0.9 % du diamètre total.

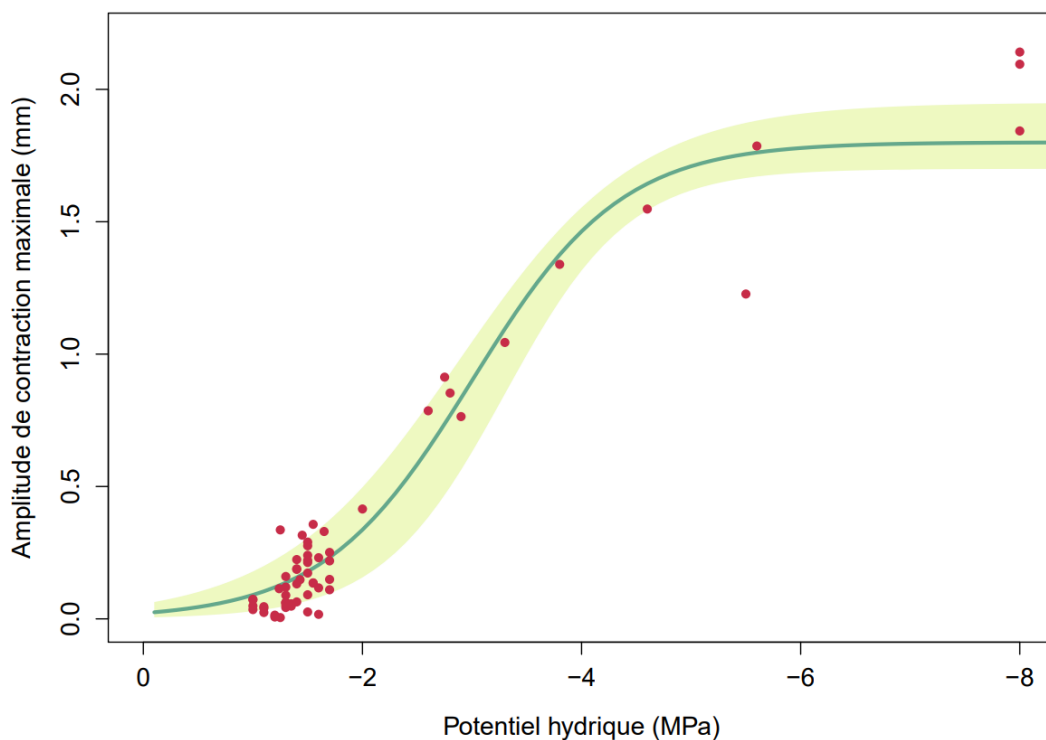


Figure 26: Modélisation sigmoïdale de l'ACM journalière en fonction du potentiel hydrique (Ψ) sur les arbres non irrigués. En vert clair, l'intervalle de confiance. En rouge, les points utilisés pour construire le modèle avec la formule suivante : $ACM = 2 / (1 + EXP(\Psi + 3.4))$.

Tableau 2: Contraction du diamètre (ACM) en fonction des valeurs de potentiels hydriques. Moyenne \pm se.

Potentiel hydrique (Ψ ; MPa)	ACM (mm)	ACM (%)
[-1.5 ; -1.6]	0.24 ± 0.04	1.7 ± 0.1
[-2.8 ; -3]	0.83 ± 0.03	6.4 ± 0.7
[-4.6 ; -5.5]	1.51 ± 0.16	9.9 ± 0.7
[< -7.5]	1.93 ± 0.18	12.1 ± 0.9

■ *Synthèse sur la physiologie du Douglas face à la sécheresse édaphique*

Jones et Sutherland (1991) ont envisagé deux stratégies différentes concernant le contrôle stomatique et la cavitation pour les arbres, en cas d'exposition à des contraintes hydriques importantes:

(1) Les stomates régulent la transpiration pour éviter les pertes hydriques. Ainsi, la fermeture des stomates devrait se produire lorsque le potentiel hydrique s'approche du point de cavitation naissante.

(2) La conductance stomatique est optimisée pour assurer un flux maximal d'eau et donc une photosynthèse maximale, même au prix d'une certaine perte de conductance hydraulique.

Pour comprendre si le Douglas a un comportement correspondant plutôt à une stratégie de type 1 ou 2, nous avons réalisé une synthèse sur la physiologie du Douglas face à une très forte contrainte hydrique en commentant les variations de diamètre en lien avec les différentes mesures physiologiques mesurées ponctuellement.

Les variations de diamètre, les mesures de potentiel hydrique, de conductance stomatique permettent de distinguer trois phases différentes lors d'une contrainte hydrique létale.

Dans la phase A (jour 1 à 15 ; Figure 27), les stomates sont au moins partiellement ouverts, le potentiel hydrique est supérieur à -1.5 MPa, tandis que les variations de diamètre fluctuent entre -150 et 200 μm avec une amplitude de contraction journalière de $99.6 \pm 13.2 \mu\text{m}$. Du jour 1 au jour 10, les variations de diamètre indiquent une légère croissance suggérant que le potentiel hydrique du sol est encore assez élevé pour remplir les réserves hydriques du tronc chaque jour, par une absorption racinaire fonctionnelle. A partir du 10^{ième} jour, une légère décroissance est observée, suggérant que les réserves d'eau du tronc sont utilisées dans la journée sans être entièrement remplies par l'absorption racinaire nocturne. Les stomates se ferment au jour 14 pour un potentiel hydrique de -1.4 MPa.

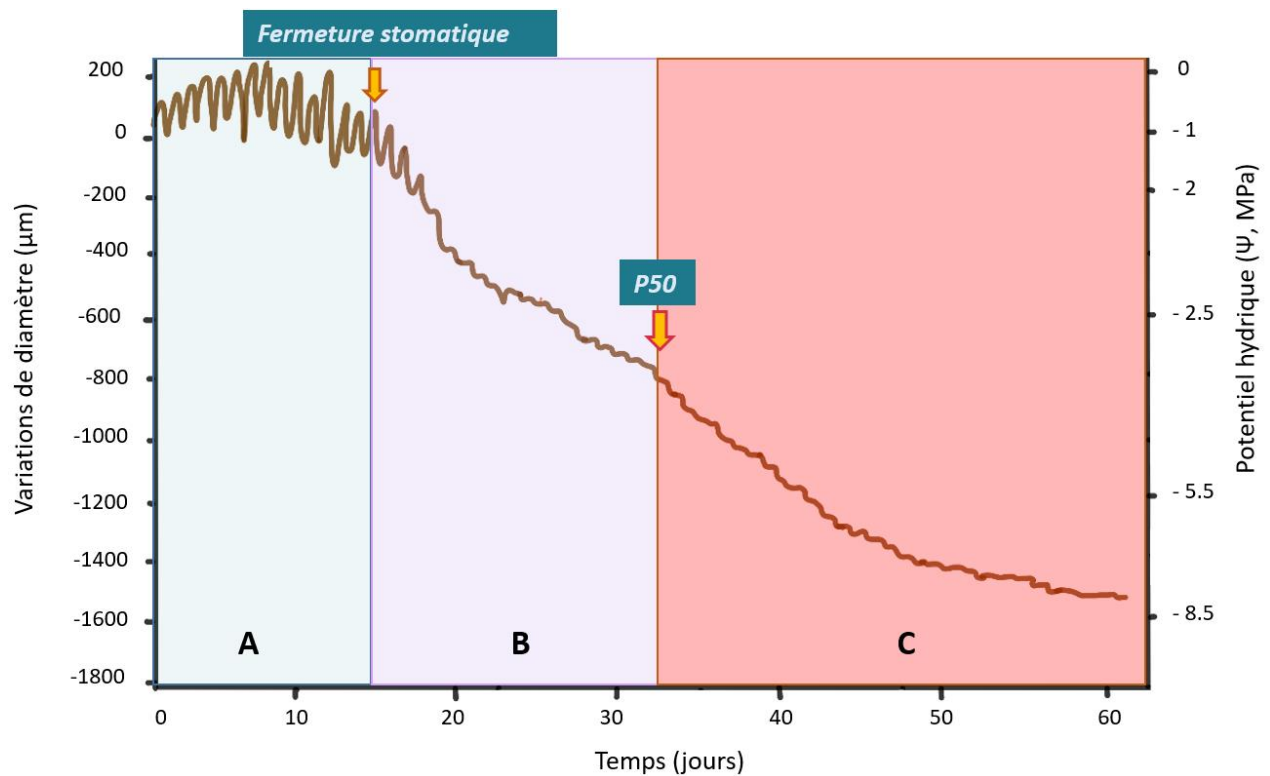


Figure 14 : Figure bilan des mécanismes physiologiques du Douglas 11 (n=1) qui amène à la défaillance hydraulique en cas de sécheresse édaphique.

La phase B se divise en deux phases : la phase B1, du jour 15 au jour 20, et la phase B2, du jour 21 au jour 33. Pendant B1, les variations de diamètre restent encore importantes bien que les stomates soient fermés ($36.3 \pm 20.2 \mu\text{m}$) pour des potentiels hydriques supérieurs à -2 MPa . Cette stratégie de régulation de la transpiration avant d'atteindre un stress hydrique trop élevé correspond à la stratégie de type 1 au sens de Jones et Sutherland (1991). Ce comportement est associé à une régulation stomatique dite « isohydrique » (Tardieu et Simonneau 1998). Ce comportement isohydrique du Douglas est surprenant, car son anatomie du xylème avec de petits diamètres de lumen suggère que les troncs doivent être relativement résistants à la cavitation (Miller et Johnson 2017). Néanmoins, cette régulation isohydrique est confirmée par la fermeture stomatique associée à des potentiels hydriques élevés ($-1,5 < \Psi_{\text{xylème}} < -2 \text{ MPa}$; Bond et Kavanagh, 1999) tandis que Newton et Preest (1988) notent que le Douglas cesse de photosynthétiser lorsque le potentiel hydrique atteint -2 MPa . En effet, le maintien des stomates ouverts, à des potentiels hydriques bas, pour privilégier la photosynthèse est plutôt caractéristique des essences à régulation stomatique dite anisohydrique ou de type 2.

La phase B2 est caractérisée par une conductance stomatique nulle, des variations de diamètre décroissantes, des potentiels hydriques diminuant jusqu'à atteindre le P50, c'est à dire au jour 33. Le P50 correspond au seuil de non-retour pour les conifères (Brodribb et Cochard 2009) *i.e.* à niveau d'embolie associé à la mortalité. Pour le Douglas, il est estimé entre $-3 \leq \Psi \leq -3.5 \text{ MPa}$ (Bond et

Kavanagh 1999). La vitesse de déshydratation du Douglas est calculée à $0.1 \text{ MPa} \cdot \text{j}^{-1}$, tandis que les fluctuations de diamètres journalières s'effondrent à des valeurs inférieures à $3 \mu\text{m}/\text{jours}$ ($1.8 \pm 1.5 \mu\text{m}$).

La phase C (du jour 33 au jour 66 ; Figure 27) se caractérise des potentiels hydriques inférieurs au P50 du Douglas. La vitesse de déshydratation des tissus est accrue, *i.e.* $0.25 \text{ MPa} \cdot \text{j}^{-1}$ jusqu'au jour 50, où le diamètre se stabilise avec l'absence quasi-totale de variation de diamètre journalière. Cette stabilisation du diamètre induit souligne la déshydratation totale des tissus de réserves au niveau du tronc. Ainsi, il faut atteindre des potentiels hydriques largement supérieurs au P50 pour déshydrater totalement un Douglas *i.e.* approximativement -6 MPa . Cette observation remet en cause la limite du P50 comme trait de survie hydraulique du Douglas.

Face à un déficit hydrique du sol, le Douglas adopte une stratégie conservatrice caractérisée par un comportement « isohydrique » (Jones et Sutherland 1991 ; Kerhoulas et al. 2020), qui vise à conserver l'eau et à maintenir la stabilité des colonnes de la sève du xylème. Néanmoins, lorsque le seuil de déshydratation critique (P50) est dépassé, la vitesse de déshydratation est multipliée par 2.5, ce qui souligne des désordres physiologiques conséquents. La conductance stomatique n'a pas été mesurée pour des valeurs de potentiels hydriques assez faibles, néanmoins un tel emballement du système pourrait suggérer des dysfonctionnements stomatiques importants ou bien une transpiration cuticulaire accrue. Ce phénomène est souvent lié à l'augmentation des températures foliaires (fort échauffement en absence de transpiration).

B. Etude de la propagation de l'embolie au sein d'un jeune Douglas lors d'une sécheresse édaphique

A l'aide de mesures du potentiel hydrique et de la perte de conductivité hydraulique, nous allons établir des courbes de vulnérabilité de divers organes (trois sections de tronc, rameau des verticilles supérieurs et inférieurs, racines) de jeunes Douglas. Cela va nous permettre d'étudier comment se propage l'embolie au sein d'un jeune Douglas (depuis l'apex vers la base de l'arbre ou inversement).

Le potentiel hydrique minimum de pousse a été mesuré sur des rameaux du houppier et considéré comme étant le potentiel hydrique de l'intégralité de l'arbre. Dans cette partie, les scans réalisés par le tomographe à rayons X permettent d'obtenir un pourcentage de trachéides embolisées mais qui sera estimé à des valeurs de PLC.

D'un point de vue fonctionnel, trois paramètres ayant une signification physiologique particulière sont également déduits des courbes de vulnérabilité à la cavitation (P12, P50, P88). Le P12, c'est-à-dire le potentiel hydrique pour lequel il y a 12% de perte de la conductivité hydraulique, a été associé au point à partir duquel il est possible de noter une entrée d'air dans le xylème (Brodribb et Holbrook 2003); le P50 correspond au seuil de non-retour pour les gymnospermes (Brodribb et Cochard 2009) : à partir de ces niveaux d'embolie, même si l'on réhydrate les individus en sécheresse, de la mortalité sera

observée. Enfin, le P88 est considéré comme le seuil de non-retour pour les angiospermes (Barigah et al. 2013; Urli et al. 2015).

Tableau 3 : Estimation des principaux paramètres extraits de CV des divers organes du jeune Douglas: Apex, Milieu tronc, Collet, Rameau inférieur, Rameau supérieur, Racine. Moyenne \pm se. P12, P50 et P88 calculés pour chaque organe de l'arbre.

Organe	P12	P50	P88
Apex	-1.8 ± 0.1	-3.3 ± 0.1	-4.8 ± 0.1
Collet	-1.7 ± 0.2	-3.6 ± 0.3	-5.5 ± 0.2
Milieu tronc	-1.7 ± 0.1	-3.2 ± 0.2	-4.7 ± 0.1
Rameau supérieur	-1.9 ± 0.3	-4.0 ± 0.2	-6.1 ± 0.1
Rameau inférieur	-2.6 ± 0.1	-4.3 ± 0.2	-6.1 ± 0.2
Racine	-1.7 ± 0.2	-5.3 ± 0.5	-8.9 ± 0.4

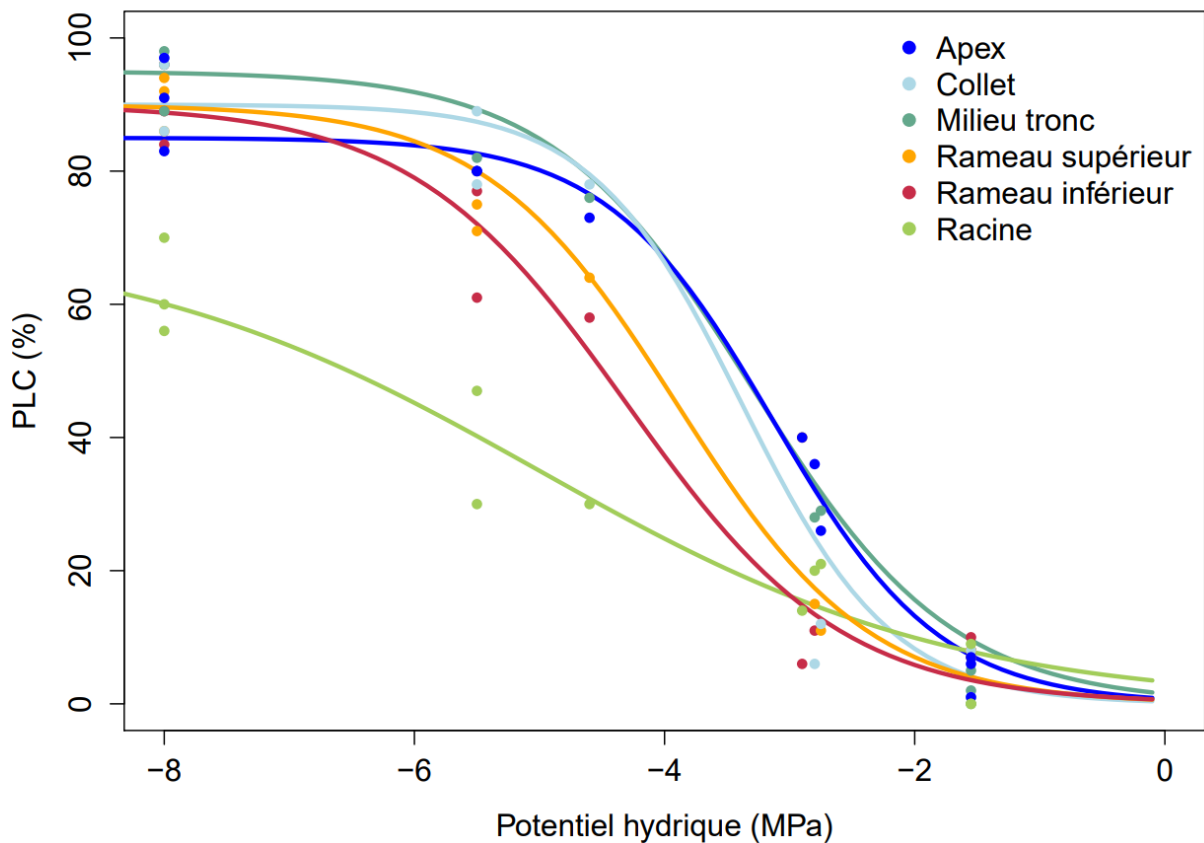


Figure 15: Courbe de vulnérabilité déterminé pour les différents organes du Douglas à partir du % de PLC et du potentiel hydrique foliaire mesuré à midi. Chaque point correspond à un organe d'un individu. N= 3 pour chaque organe.

- ***P12 après la fermeture stomatique afin de limiter les pertes hydriques***

P12 est associé à une fourchette de valeurs entre $-1.6 \leq \Psi \leq -2.6$ MPa, ce paramètre étant organe-dépendant (Tableau 3). Cette valeur assez élevée confirme la stratégie de type 1 (Présentée précédemment), avec une fermeture stomatique ($\Psi_{\text{close}} = -1.55 \pm 0.5$ MPa) ayant lieu avant P12.

- ***L'étude de la P50 permet d'établir 3 groupes distincts de vulnérabilité à la cavitation***

Ces résultats montrent une vulnérabilité à la cavitation qui varie en fonction des sections d'arbres prélevées (Figure 28). Le P50 des courbes de vulnérabilité des diverses parties du Douglas permet d'isoler trois groupes distincts : le tronc, les rameaux et les racines. Le premier groupe, en bleu, concerne les différentes sections du tronc à savoir l'apex, le milieu du tronc et le collet, qui présentent les P50 les plus élevés : -3.3 ± 0.1 ; -3.2 ± 0.2 ; -3.6 ± 0.3 MPa, respectivement (Tableau 3 ; Figure 28 ; $P = \text{ns}$). Les rameaux des verticilles supérieurs et inférieurs représentent le second groupe avec une vulnérabilité à la cavitation plus importante que celle du tronc (Figure 28 ; $P = 0.028$), avec un P50 mesuré à -4.0 ± 0.2 ; -4.3 ± 0.2 MPa, respectivement. Enfin, les racines semblent présenter la vulnérabilité de la perte de conductivité la plus faible avec un P50 à -5.3 ± 0.5 MPa.

Le tronc semble présenter une tendance à la vulnérabilité à la cavitation plus importante que des rameaux, respectivement. L'apex et le haut du houppier sont pressentis comme étant une zone de vulnérabilité accrue à la cavitation par rapport au bas de l'arbre et aux racines, en cas d'équilibre de potentiel hydrique dans l'arbre. Néanmoins, dans notre cas, la cavitation pourrait débiter dans le tronc et se propager ensuite de proche en poche aux rameaux, ce qui semble toutefois surprenant.

Le fait d'avoir une vulnérabilité inter-organes différente vis-à-vis de la cavitation nécessite d'aborder l'Hypothèse de la vulnérabilité de la Segmentation Hydraulique (HSH), définie par Zimmermann (1983). Les parties périphériques (feuilles, pétioles) étant soumises à de fortes tensions hydriques, la cavitation commencerait, à vulnérabilité égale, préférentiellement dans ces organes afin de réduire la transpiration. Ainsi, la cavitation partielle ou complète des petites racines isolerait hydrauliquement la plante du sol, limitant la propagation de l'embolie à la périphérie de l'arbre. Sperry et Ikeda (1997) confirment sur Douglas une vulnérabilité à la cavitation accrue pour les racines par rapport aux rameaux, pour des diamètres racinaires inférieurs à 5 mm (identique à ceux de notre étude). La cavitation partielle de certaines racines permettrait de cloisonner la cavitation et, si les stomates restent fermés, de limiter l'exposition du tronc à des potentiels hydriques très bas, susceptibles d'induire une cavitation létale. Cependant, nous ne retrouvons pas ces résultats. Des études récentes ont remis en question l'HSH, en rapportant de grandes différences dans la résistance à l'embolie inter-organes, les branches étant nettement plus résistantes que le tronc et les racines (Sperry and Ikeda 1997; Martínez-Vilalta et al. 2002; Domec et al. 2006; Vilagrosa et al. 2012). Bouche et al. 2016 n'observent pas de

variabilité inter-organes concernant la vulnérabilité à l'embolie chez le Douglas. Si aucun consensus n'a été trouvé aujourd'hui, nos résultats concordent avec ceux de Johnson et al. (2016). Les branches du Douglas semblent être plus résistantes aux dysfonctionnements hydrauliques que les troncs.

La forte variabilité inter-organes, ainsi que la grande résistance à la cavitation des racines peuvent être amplifiée par certains biais. En effet, le potentiel hydrique de pousse mesuré est celui de midi, qui, s'il peut représenter correctement celui du rameau – tronc (Bouche et al. 2016), peut ne pas représenter de manière optimale le potentiel hydrique racinaire non mesuré. Les racines étant supposées plus sensibles à la cavitation que le tronc (Johnson et al. 2016), cela pourrait suggérer que le potentiel hydrique est plus négatif au niveau de la partie aérienne que dans la partie racinaire pour notre étude. Ainsi, il aurait été pertinent de mesurer un potentiel de base, qui supposerait une homogénéisation du potentiel hydrique entre le sol et les divers organes de l'arbre. Une seconde explication pourrait aussi résider dans la méthode utilisée, c'est-à-dire l'association entre potentiel hydrique – micro tomographe à rayons X (Cochard et al. 2010; Bouche et al. 2016).

- ***Comment le stress hydrique impacte-t-il la propagation de l'embolie et la perte de diamètre du tronc ?***

Dans notre étude, le dendromètre était fixé au milieu du tronc. Comme nous avons mesuré le PLC de diverses sections du tronc que nous avons pu comparer avec le PLD du milieu du tronc, avant de sectionner les arbres, en fonction du potentiel hydrique (Figure 29). Le modèle sigmoïde appliqué aux données de PLD et de PLC montre des paramètres de pentes et des P50 sans différence significative puisqu'au niveau des pentes ($S_{PLD} = 36.7 \pm 6.5$, $S_{PLC} = 32 \pm 8.7$) et du P50 avec $P50_{PLD} = -3 \pm 0.1$ MPa et $P50_{PLC} = -3.2 \pm 0.2$ MPa. Le PLD reflète la dynamique de déshydratation des réserves hydriques du tronc et suit la même dynamique que le PLC.

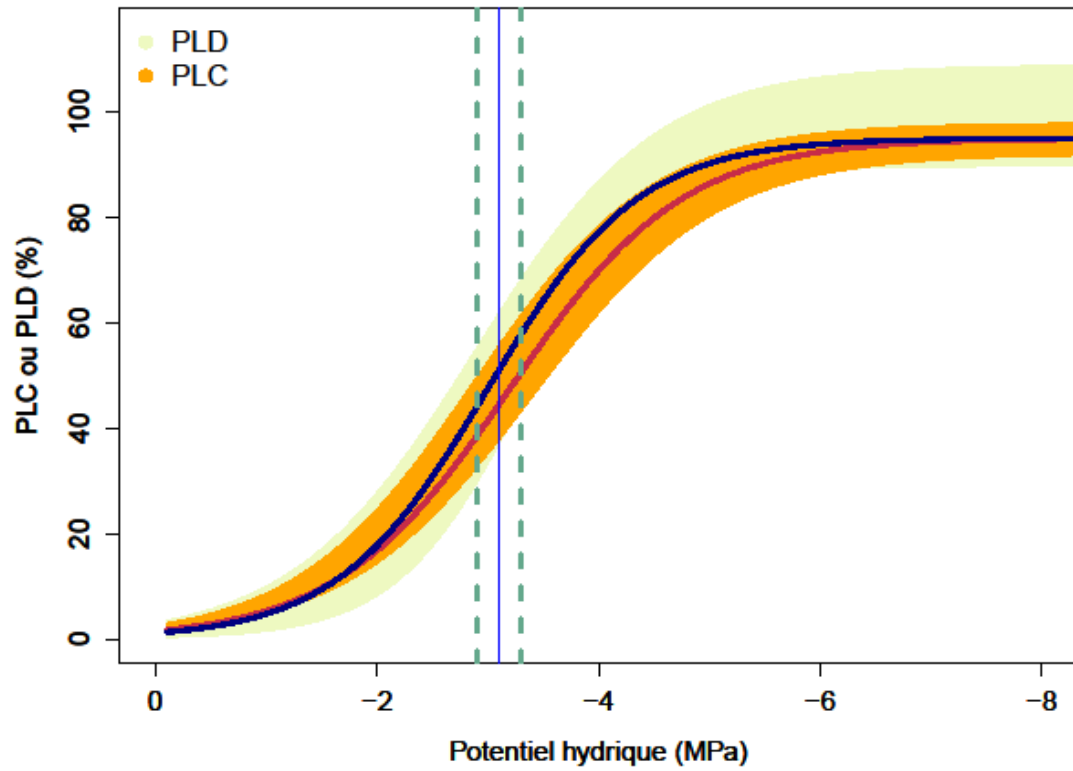


Figure 29: Courbe de vulnérabilité superposée de la PLD et de la PLC en fonction du potentiel hydrique. En pointillés bleu, les écarts types autour de la P50.

- **Comment l'épuisement des réserves hydriques des tissus élastiques contribue-t-il au PLD ?**

Pour des valeurs de potentiel hydrique induisant la fermeture stomatique, la perte totale de diamètre est estimée à 1.7 ± 0.1 %. En considérant que la fermeture stomatique a lieu avant le P12 et donc toute cavitation du xylème, un PLD_{TE} de 7.1 ± 0.4 % induit des valeurs de contraction des tissus élastiques faibles (Figure 30).

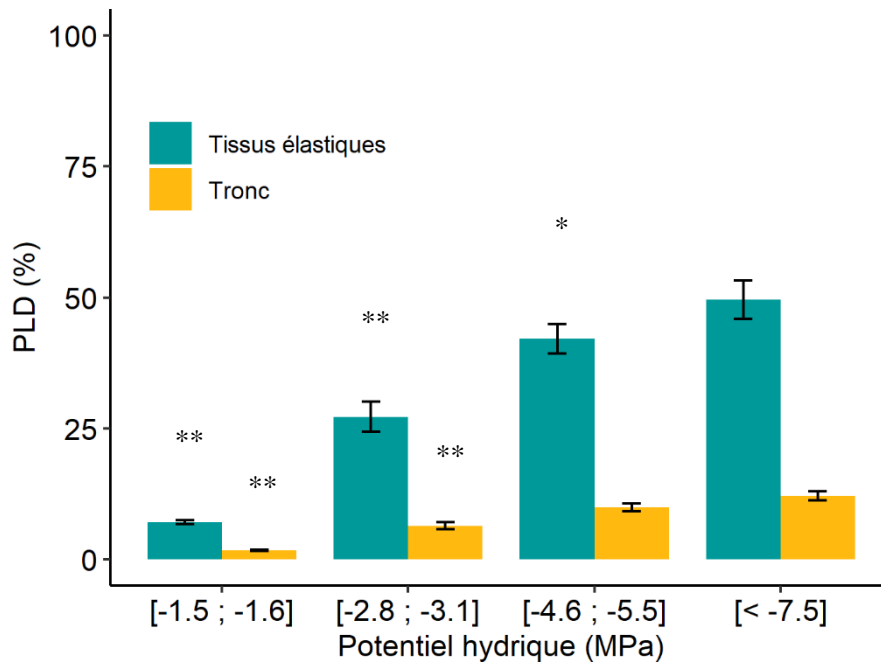


Figure 30 : L PLD des tissus élastiques du tronc et du tronc entier en fonction des potentiels hydriques foliaire à midi. Moyenne \pm es. N=3. La PLD est la valeur du pourcentage de rétraction du tronc. Les astérisques '*' et '**' indiquent respectivement une différence significative ($P < 0.05$) ou très significative ($P < 0.01$) de la variable moyenne des Douglas en cours de sécheresse par rapport au groupe [< -7.5] pour une fourchette de potentiel hydrique donnée.

Pour des valeurs de potentiel hydrique correspondant au P50, la perte totale de diamètre est estimée à 6.4 ± 0.7 %. Si l'on considère pour les conifères que le P50 est le seuil de mortalité, un $PLD_{TE} = 27.2 \pm 2.9$ % doit conduire à la mortalité du Douglas. Pour $\Psi \sim 5$ MPa soit une gamme de valeur pour lequel le Douglas a largement dépassé la mortalité théorique, la perte totale de diamètre augmente de 35%, ce qui amène un $PLD = 9.9 \pm 0.7$ % ainsi qu'un $PLD_{TE} = 42.1 \pm 2.8$ %.

Pour des potentiels hydriques supérieurs au P88, la perte totale de diamètre est estimée à 12.1 ± 0.9 %. Pour de telles valeurs de potentiel hydrique, le seuil de mortalité théorique ayant été largement dépassé, les tissus atteignent leur maximum de déshydratation. Ainsi, un $PLD_{TE} = 51 \pm 4.2$ % doit conduire à la déshydratation complète des tissus du Douglas.

Cette valeur de déshydratation maximale des TE a été retrouvée par une autre méthode que celle du PLD, c'est-à-dire par l'étude des scans de micro tomographie à rayons X avec le logiciel IMAGEJ. En effet, la surface représentée par les TE a été calculée pour des Douglas non stressés initialement (Figure 31A) et pour les arbres complètement déshydratés (Figure 31D), ce qui a permis de confirmer que les TE du Douglas peuvent se rétracter de 49.8 ± 3.3 %. Ainsi, ces différentes méthodes suggèrent qu'une déshydratation totale des TE est atteinte lorsque qu'ils ont perdu la moitié de leur surface.

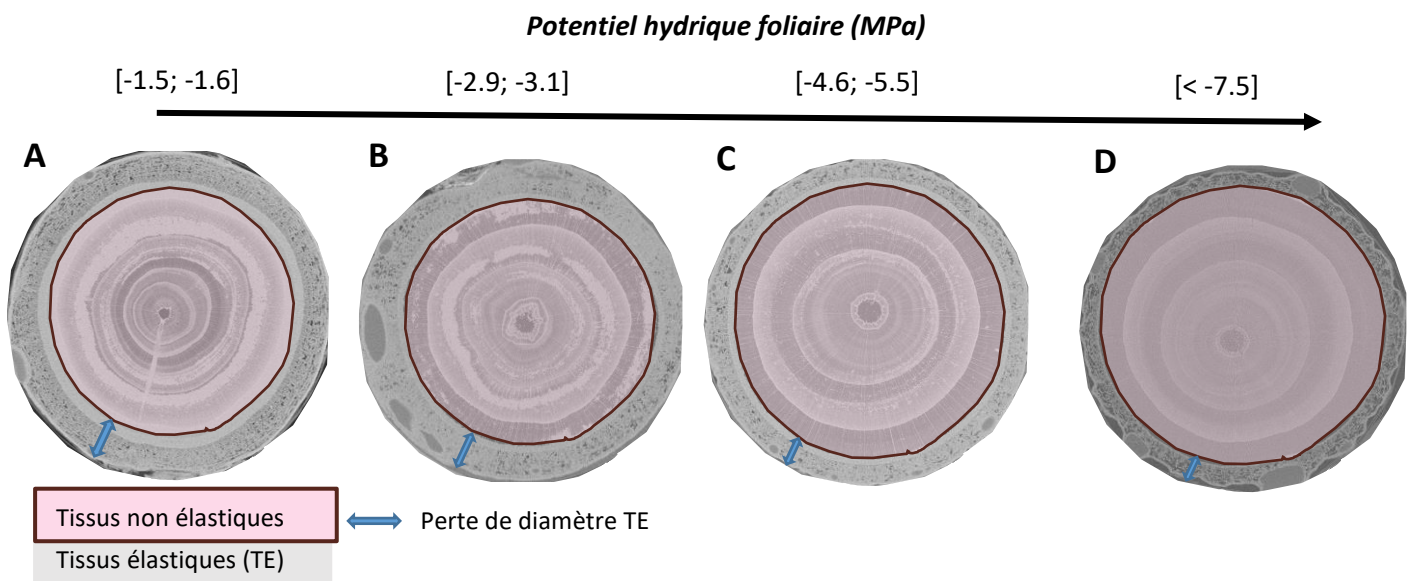


Figure 16: Scans micro-tomographie à rayons X du milieu du tronc au cours d'un stress hydrique progressif. A : $\Psi = -1.5$ MPa ; B : $\Psi \sim -3$ MPa ; C : $\Psi \sim -5$ MPa ; D : $\Psi > -7.5$ MPa. La flèche bleue indique la contraction du diamètre des tissus élastiques.

Chez les conifères, les seuils létaux de défaillance hydraulique ont été suggérés au P50, c'est-à-dire à des valeurs de potentiels hydriques comprises entre $-3 < \Psi < -3.5$ MPa. Or, le PLD que notre étude mesure pour le P50 ne correspond pas à une diminution de 50% des réserves hydriques du tronc mais de 30% soit un PLD de 6% (Figure 30). Ainsi, il n'y aurait que 30% de dommages cellulaires irréversibles au niveau des TE à la valeur seuil du P50. Comme on considère qu'il faudrait avoir 50% de dommages cellulaires irréversibles pour atteindre la mortalité de l'arbre, se pose la question de la pertinence du P50 comme marqueur d'un stress hydrique léthal chez le Douglas (Mantova et al. 2021).

Chez la lavande, le PLD a été associé à des valeurs de $PLD_{LAVANDE} = 21\%$ (Lamacque et al. 2020). Nous pouvons comprendre que cette valeur est plus élevée chez la lavande en raison de la proportion de tissus non élastiques probablement plus importante que celle présente chez le Douglas. Lorsque de telles valeurs de contraction sont atteintes, les tissus élastiques, y compris le cambium, sont probablement endommagés (50 % de perte de diamètre des tissus élastiques – ce qui n'a pas été mesuré) alors que la plupart des vaisseaux sont déjà embolisés. Cependant, il y a une différence significative

entre la contraction de diamètre des tissus élastiques entre des potentiels hydriques de -5 et < -7.5 MPa. Ce que nous ne retrouvons pas chez le Douglas pour $\Psi < -5$ MPa, mais que nous retrouvons pour des valeurs comprises entre le P50 et - 5 MPa, suggérant que la mortalité de l'arbre devrait subvenir pour des potentiels hydriques inférieurs au P50.

IV. Conclusion, limites et perspectives

Dans ce chapitre, nous voulions i) caractériser la réponse physiologique d'un jeune Douglas face à une sécheresse estivale édaphique et ii) observer la propagation de l'embolie au sein de l'arbre.

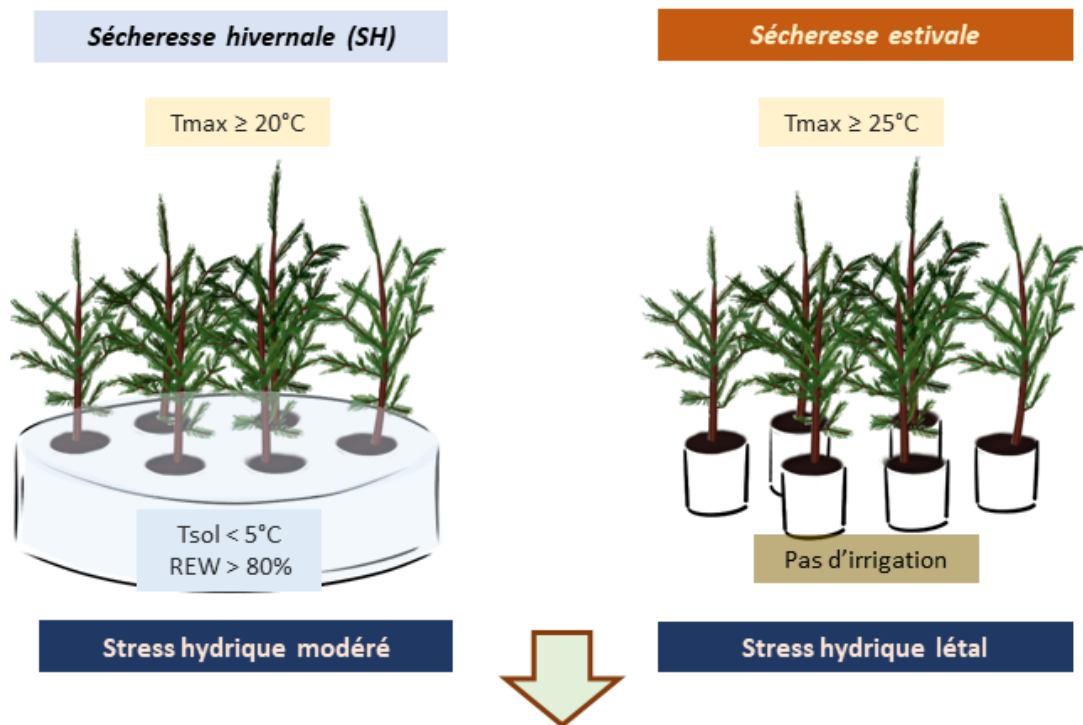
Face à un déficit hydrique du sol, le Douglas adopte une stratégie conservatrice caractérisée par un comportement isohydrique (Jones et Sutherland 1991 ; Kerhoulas et al. 2020), qui vise à conserver l'eau et à maintenir la métastabilité de la sève du xylème. Pour ce faire, la fermeture stomatique a lieu pour $\Psi = -1.55 \pm 0.5$ MPa, soit avant le P12, valeur d'entrée d'air dans le système conducteur de sève. Néanmoins, lorsque le P50 est dépassé, la vitesse de déshydratation est multipliée par 2.5, ce qui souligne des désordres hydrauliques conséquents. La conductance stomatique n'a pas été mesurée pour des valeurs de potentiel hydrique faibles, néanmoins un tel emballement du système pourrait suggérer des dysfonctionnements stomatiques importants ou bien une transpiration cuticulaire accrue.

L'étude de l'embolie dans les divers organes montre une vulnérabilité à la cavitation décroissante dans les organes suivants : le tronc qui est donc l'organe le plus vulnérable, puis les rameaux et enfin les racines qui semblent être plus résistantes à la cavitation. Ces résultats sont très discutables mais suggèrent néanmoins une vulnérabilité à l'embolie accrue dans le haut du houppier, ce qui amènerait à penser que le houppier pourrait être la zone de fragilité *i.e.* de genèse d'embolie du Douglas. Explorer les potentiels hydriques des racines permettrait de limiter l'approximation concernant le potentiel hydrique racinaire et de mieux comprendre la segmentation hydraulique chez le Douglas. L'étude des variations de diamètre et du PLD permet de montrer que le Douglas peut subir une large gamme de capacité de stress hydrique. En effet, il peut mobiliser des réserves d'eau jusque dans des conditions de sécheresse sublétale (10 % de rétraction de diamètre supplémentaire pour les tissus élastiques entre -5 et des valeurs inférieures à -7.5 MPa). Nos résultats nous suggèrent que le seuil de déshydratation létale et des dommages irréversibles cellulaires sont atteints pour une contraction du 12% du diamètre du tronc. Cette expérimentation mériterait d'être répétée pour consolider la fiabilité de l'analyse statistique avec un échantillonnage plus conséquent. Une étude approfondie avec des Douglas sur une plage d'âge variée permettrait de vérifier si 12% de contraction de diamètre constitue une valeur-critique. Cette valeur pourrait être amenée à évoluer en fonction de l'âge des arbres, facteur qui pourrait induire des proportions différentes de tissus élastiques et non élastiques.

Pour conclure, cette expérience de sécheresse édaphique provoque la déshydratation irréversible du Douglas et son rougissement. Le rougissement de l'aiguille a été observé pour des potentiels hydriques très bas *i.e.* inférieurs à -8 MPa. Ainsi, le rougissement de l'aiguille résulte d'un stress hydrique létal. Cette observation fait écho au chapitre précédent en confirmant que le stress hydrique induit par la sécheresse hivernale de nos expérimentations n'était pas assez fort pour induire un rougissement. Si la cause du rougissement hivernal est purement hydraulique, il n'est donc pas étonnant de ne pas avoir observé de rougissement dans nos conditions expérimentales.

FIGURE-BILAN

EXPERIMENTATION EN CONDITIONS CONTRÔLÉES : Sécheresse édaphique



REGULATION STOMATIQUE ISOHYDRIQUE

Mesures physio	SH	SE
Embolie	< P12	> P88
Potentiel hydrique	> -2 MPa	< -8 MPa
Efficience photochimique	> 0.7	~ 0
Couleur de l'aiguille	Verte	Rouge

Stress hydrique létal => Embolie => Rougissement de l'aiguille

- ⇒ Quelles conditions environnementales pourraient induire un stress hydrique létal en hiver ? Sol gelé ? Cycles gel-dégel ? Effet du vent ?
- ⇒ Qu'est ce qui pourrait entrainer des pertes en eau au hiver au niveau du houppier? Dysfonctionnement stomatique ? Transpiration cuticulaire importante ?
- ⇒ Autre mécanisme ?

Partie IV

Etude du rougissement hivernal du Douglas 2022 en Livradois-Forez vs Limousin.

“Toujours les arbres...”

-Où, les arbres m'aident aussi à te répondre, et aussi à répondre à mes propres questions. J'y trouve presque toujours une réponse.

-Eh bien, moi, je ne les comprends pas, ces réponses.

- Moi non plus, pas toujours, mais je les garde au cas où j'y parviens un jour”.

Tina Vallès



Pour reprendre les termes de la Montagne, journal local auvergnat, la fin d'hiver – début du printemps 2022 s'est caractérisée par une « *alerte rouge vif, sur les contreforts du Massif central* ». En effet, les jeunes plantations de douglas ont pris des couleurs peu habituelles : d'un vert vif, elles ont partiellement viré au rouge !

L'étude du rougissement 2022 a été une opportunité incroyable dans le cadre de ma thèse afin de pouvoir appréhender le rougissement à deux échelles : celle de la station et celle de l'arbre. Nous avons également pu l'appréhender à différentes temporalités : non seulement à l'instant t lors du constat de rougissement mais aussi sur une temporalité plus longue. L'instrumentalisation de parcelles entre janvier 2021 et juin 2023 (incluant l'épisode de rougissement du printemps 2022) a permis l'étude de la dynamique de la biologie de l'arbre. Cette partie est divisée en trois chapitres. Nous n'avions pas d'a priori sur le mécanisme susceptible le rougissement puisque les expérimentations sous serre étaient en cours. Il a fallu s'ajuster au mieux pour se diviser entre le terrain et la serre, entre la semaine et les week-ends de février à juin 2022. Ainsi, des prélèvements ont été réalisées afin de répondre à des questions posées sans hypothèses clairement prédéfinies.

Le premier chapitre propose une approche du rougissement à l'échelle du massif. L'objectif est de comprendre la relation entre facteurs de vulnérabilité stationnels et occurrence et intensité du rougissement. Pour cela, la base de données du Département de la Santé des Forêts (DSF) relative aux derniers épisodes de rougissement ainsi qu'une base de données personnelles provenant des observations de rougissement 2022, ont été analysées.

Le deuxième chapitre concerne l'étude du rougissement en comparant des jeunes douglas : i) sain, ii) partiellement affectés ou iii) entièrement rouges. Diverses mesures ponctuelles de la physiologie de l'arbre ont été réalisées sur les aiguilles, rameaux et troncs de ces arbres afin de mieux caractériser le syndrome du rougissement hivernal. Les résultats obtenus ont permis de comparer la réponse physiologique à un rougissement hivernal à la réponse à une sécheresse estivale présentée dans le chapitre 2 partie 3.

Le troisième et dernier chapitre s'intéresse à un suivi en dynamique de la physiologie hivernale par dendrométrie à haute résolution temporelle sur de jeunes douglas, pendant les hivers 2021 et 2022, au sein de 4 parcelles différentes situées sur les contreforts du Massif Central. L'objectif est de comparer les dynamiques dendrométriques aux facteurs climatiques locaux afin d'identifier les facteurs abiotiques et leurs seuils, critiques pouvant aboutir au syndrome du rougissement, comme décrit au chapitre 2.

Chapitre 1

Etude de l'influence des facteurs stationnels sur le rougissement hivernal

*“J'ai bien gardé tous les secrets du vent
Entremêlé la sève épaisse et mon sang*

*Avant les arbres assassinés
Avant que tout soit emporté
Je veux retourner dans l'allée
Entendre les séquoias pleurer“*

Claire Pommet



Avril 2022. Livradois-Forez. St Eloy-la-Glacière.

Introduction

La fin d'hiver 2022 a été marquée par un rougissement de nombreuses jeunes plantations de douglas dans les zones de moyennes montagnes du Massif Central. Le phénomène observé a été d'une intensité forte sur les départements du Puy-de-Dôme, de l'Allier, de la Corrèze et de la Loire. Comme en 2014, dernière occurrence d'un rougissement hivernal conséquent, de forts taux d'atteinte (> 50% d'arbres rouges/parcelles) interrogent les professionnels de la filière bois sur le futur du douglas dans certains contextes géographiques. Le rougissement est généralement associé à des conditions climatiques particulières à savoir des périodes anticycloniques caractérisées par de fortes amplitudes thermiques avec des températures gélives nocturnes et des températures élevées en journée (Baubet et Goudet, 2015; Malmqvist et al. 2018). Comme souligné dans la partie 2, d'autres facteurs climatiques peuvent participer au déclenchement du phénomène de rougissement comme une exposition à de forts rayonnements, à un vent important ou encore à des amplitudes de températures journalières élevées.

Les derniers rougissements de grande ampleur datent de 2008 et 2014. A chaque occurrence de ce phénomène, les mêmes zones géographiques ont été affectées même si l'intensité du rougissement diffère. En 2022, au sein d'un massif très touché par le rougissement (Livradois-Forez), toutes les plantations n'ont pas été affectées avec la même intensité, questionnant l'impact des facteurs stationnels sur le rougissement. Si le rougissement peut être de différentes intensités selon le versant, il est aussi possible de constater que deux parcelles voisines, d'exposition similaire, pouvaient présenter des intensités de rougissement très différentes. Depuis les deux derniers rougissements en 2008 et 2014, y-a-t-il eu une évolution de la spatialité de l'occurrence et de l'intensité du rougissement en France ? A partir de l'étude du rougissement 2022, existe-t-il des facteurs stationnels induisant le rougissement hivernal ? Pourquoi le taux d'arbres rouges par parcelles varie-t-il d'une parcelle à l'autre au sein d'un même massif ?

Dans un premier temps, la base de données du DSF a été analysée afin de comparer la répartition spatiale et l'intensité des rougissements 2008, 2014 et 2022. Cette démarche a permis d'évaluer la répartition spatiale des zones vulnérables, des taux d'atteintes du rougissement et de la redondance des zones géographiques affectées, dites à rougissement. Dans un second temps, cette question a été abordée à travers la constitution d'une base de données et son analyse pour le rougissement du printemps 2022. Soixante-deux plantations de douglas ont été annotées dans deux contextes géographiques différents : le Livradois Forez, et le plateau de Millevaches. Cette base de données a été réalisée en relevant l'ensemble des plantations de douglas présentes dans des quadrats de 8 km². Ainsi, 41 parcelles ayant rougi et 21 parcelles sans rougissement, ont été annotées.

I. Matériels et méthodes

A. Création d'une base de données sur un relevé de parcelles rougissantes et non rougissantes

Afin d'explorer les corrélations entre des caractéristiques stationnelles et les observations de rougissement, nous avons déterminé une grille de notation de critères susceptibles d'avoir une influence sur le rougissement. 62 parcelles de Douglas dans le Livradois-Forez (63 : Puy-de-Dôme) et dans le plateau de Millevaches (23 : Creuse, 19 : Corrèze) ont été annotées afin de voir un potentiel impact de certains facteurs stationnels sur le rougissement. Trois quadras de 8 km² ont été choisis dans ces 3 zones : un quadra autour des parcelles instrumentées en Limousin ; un autour des parcelles instrumentées en Livradois-Forez et le dernier en Corrèze autour d'Ussel. Toutes les parcelles de douglas présentes dans chaque zone ont été annotées. 41 parcelles présentaient des symptômes de rougissement tandis que 21 d'entre elles n'en présentaient pas. 35 parcelles ont été annotées dans le Livradois-Forez tandis que 27 parcelles ont été annotées dans le plateau de Millevaches. Les facteurs relevés étaient l'altitude, la densité de peuplement, l'âge, le pourcentage d'arbres rouges, les conditions sylvicoles (*i.e.* temporalité du dégagement et densité de peuplement), la hauteur relative et la nature de la végétation d'accompagnement, l'exposition de la parcelle ainsi que la présence et la nature des lisières.

Les coordonnées de chaque parcelle ont été notées sur le terrain et l'altitude et l'exposition ont été extraites à l'aide de Géoportail.

L'âge a été évalué sur plusieurs douglas de chaque plantation en comptant le nombre d'entre-cœuds du tronc. La densité de peuplement a été notée en évaluant la distance entre 10 douglas voisins successifs. La densité de plantation a été évaluée à l'hectare à partir de ces relevés.

L'intensité de rougissement a été évaluée à l'aide du protocole du département de la santé des forêts (protocole DSF), c'est-à-dire la moyenne de douglas rouges comptés sur 10 quadras contenant 10 arbres, aléatoirement répartis dans la parcelle.

L'ambiance forestière a été définie comme étant la somme des facteurs externes perceptibles par l'être humain dans les plantations de douglas. Dans notre étude, nous avons pris en compte les différentes essences d'accompagnement (feuillus, buissons, graminées etc.) présentes dans les plantations ainsi que leur hauteur relative par rapport aux douglas. Ces deux facteurs contribuent majoritairement à la mise en place de l'ambiance forestière dans les plantations. L'ambiance forestière est une variable définie à partir de la hauteur relative de la végétation d'accompagnement par rapport aux arbres cultivés (en pourcentage). Dans le cas où la canopée n'était pas fermée, l'ambiance forestière dépendait principalement de la nature de la végétation d'accompagnement : fougère, genet, framboisier, bouleau ou feuillu. Dans le cas des plantations dont la canopée était fermée, il n'y avait pas de végétation

d'accompagnement, la lumière étant presque totalement interceptée par le houppier des Douglas. Ainsi, l'ambiance forestière a été fixée à 100%.

L'environnement de la station forestière a été noté via le nombre et la nature des lisières fermées (feuillus, conifères ou mixtes).

B. Analyse en composantes principales du rougissement

L'analyse en composantes principales (ACP) est une méthode descriptive permettant de visualiser et interpréter rapidement les composantes calculées à l'aide de figures types. L'ACP est un outil de réduction de dimensionnalité d'un ensemble de variables quantitatives pour faciliter la compréhension d'un jeu de données complexe. Elle permet d'explorer les liaisons entre les 8 variables stationnelles (en fonction de leurs corrélations) afin de rendre compte si certaines variables peuvent expliquer le rougissement hivernal du Douglas.

L'ACP consiste à remplacer une famille de variables par de nouvelles variables latentes de variance maximale, non corrélées deux à deux et qui sont des combinaisons linéaires des variables d'origine. Ces nouvelles variables latentes, aussi appelées composantes principales, définissent des plans factoriels qui servent de base à une représentation graphique plane des variables initiales. Les données des différentes variables ont été au préalable centrées et réduites. L'ACP a été réalisée à l'aide du logiciel de statistique libre R v.3.4.3 du package ade4.

Parmi les variables stationnelles considérées (liée à la station c'est-à-dire à la parcelle forestière), l'exposition et le dégagement de la parcelle, sont des variables qualitatives qui ont été traitées comme des variables quantitatives pour l'ACP.

L'**exposition** d'une parcelle est caractérisée par son orientation de son versant. C'est une variable qualitative qui a été transformée en variable quantitative, via le concept d'azimut (Tableau 4). Néanmoins, l'utilisation de l'azimut était trompeuse puisque le Nord-ouest est géographiquement proche du Nord mais les azimuts sont opposés. Ainsi, nous avons utilisé la méthode de l'IGN (Inventaire Géographique National) pour caractériser l'exposition en chiffrant l'écart par rapport au Sud avec l'équation suivante: **Exposition = $\cos(\text{azimut} * (\pi/200))$** .

Tableau 4: conversion de la variable qualitative « exposition » en variable quantitative « azimut ».

Exposition	Azimut (°)	Exposition	Azimut (°)
Nord	0	Sud	200
Nord-est	50	Sud-ouest	250
Est	100	Ouest	300
Sud-est	150	Nord-ouest	350

Ainsi, le plein Sud est associé à la valeur -1, le Nord à la valeur 1 tandis que l'Est – Ouest sont associées à des valeurs proches de 0.

Le **dégagement de la parcelle** a été annoté pour chaque parcelle. C'est une variable binaire :

- 1 : dégagement récent
- 0 : pas de dégagement récent

C. Etude de la base de données du DSF

La base de données, construite par le DSF, comprend des observations de tout désordre pathologique ou physiologique de 1989 à 2019 à l'échelle nationale (utilisée aussi pour l'analyse bioclimatique de la partie II). Pour les observations de rougissement hivernal du douglas, les données comprenaient le jour de l'observation, la localisation, l'intensité des dégâts (pourcentage de tiges touchées sur la parcelle, gravité des dégâts) ainsi que l'essence affectée. Ce phénomène étant visible de fin-février à juin, les observations de juillet à décembre ont été exclues de l'analyse afin d'exclure tout rougissement induit par la sécheresse estivale. Comme les derniers épisodes de rougissement de grande ampleur ont eu lieu en 2008, 2014 et 2022, les signalements erratiques des années 2015, 2017 et 2019 n'ont pas été pris en compte dans l'analyse. Entre 4 et 6 signalements ont été notés sur ces années-là. Ces données ne témoignent que des cas positifs, *i.e.* parcelles atteintes, puisque les correspondants observateurs réalisent des fiches si et seulement si une pathologie est notée.

Pour réaliser les cartes des observations de rougissement lors des derniers rougissements, le logiciel R 3.1.0 (R Development Core Team) a été utilisé. Les données d'observation de rougissement ont été croisées avec les données de l'IGN (Institut national de l'information géographique et forestière). Les données IGN nous renseignent sur les localisations des plantations de Douglas sur le territoire national.

II. Résultats/ Discussion

A. Etude de la spatialité/ intensité du phénomène de rougissement entre 2008, 2014 et 2022

Les observations de rougissement de la base de données du DSF ont été croisées avec un fond de carte sur lequel était localisé toutes les zones plantées en Douglas afin de se rendre compte de l'importance du phénomène et des zones affectées.

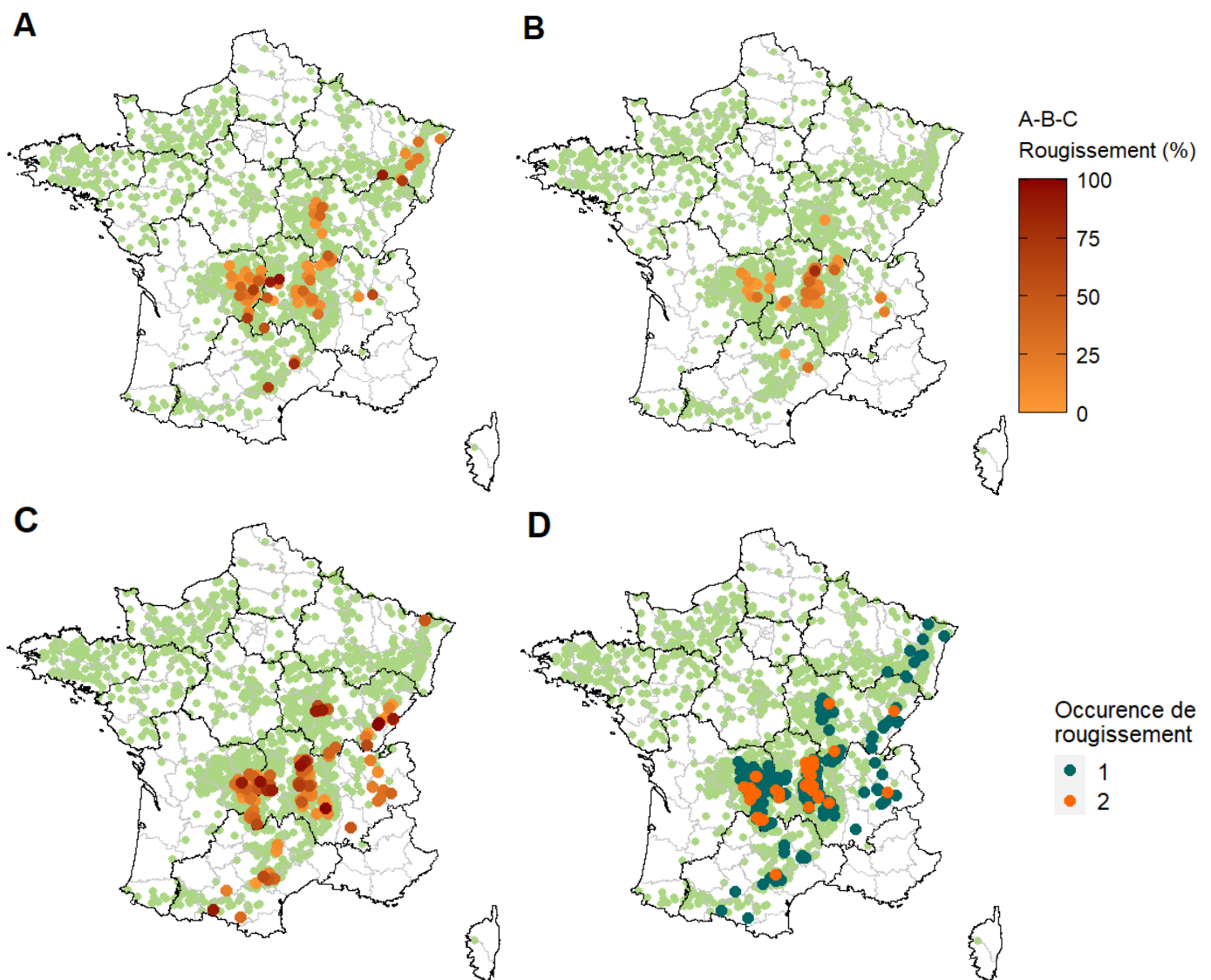


Figure 17: Répartition des parcelles sujettes aux derniers épisodes de rougissements hivernaux de grande ampleur (2008 ; 2014 ; 2022). En fond de carte avec des points verts, localisation des diverses plantations de douglas tout âge. A : Sévérité du rougissement en 2008. B : Sévérité du rougissement en 2014. C : Sévérité du rougissement en 2022. D : Nombre d'occurrences de signalement de rougissement sur la même parcelle sur les 3 années à rougissement.

En 2008, les observations de rougissement se répartissent principalement dans 4 régions (22 départements) - ancienne dénomination - à savoir le Limousin (La Creuse et la Corrèze), l’Auvergne (Puy-de-Dôme, Loire, Haute-Loire et Nord du Rhône), le cœur de la Bourgogne ainsi que la Lorraine (Vosges). Quelques observations erratiques ont été notées dans l’Isère et en Lozère (Figure 32A).

En 2014, les observations de rougissement sont plus concentrées dans le Limousin, particulièrement au niveau du Sud de la Creuse /Nord de la Corrèze, et en Auvergne, à l’est du Puy-de-Dôme et à l’Ouest de la Loire (Figure 32B). Quelques observations ponctuelles ont été notées dans l’Isère, en Bourgogne et en Lozère.

En 2022, les observations de rougissement sont plus nombreuses que celles de 2008 et 2014, soulignant un phénomène de plus grande ampleur que les précédents (Figure 32C). Le rougissement semble avoir affecté plus de régions que les années précédentes :

- Le Limousin et plus particulièrement la Corrèze
- L’Auvergne avec le Sud/ Est du Puy-de-Dôme, la Haute-Loire et l’Ouest/ Nord de la Loire
- Rhône-Alpes avec l’Ouest de la Savoie, l’Est de l’Isère et la Haute-Savoie
- La Bourgogne avec l’Est de la Nièvre, l’Est de la Côte d’Or ainsi que le Jura et le Doubs
- La Lorraine avec les Vosges et l’Alsace avec le Bas-Rhin
- Le Languedoc-Roussillon avec l’Aveyron et le Tarn

L’année 2022 est celle caractérisée par l’intensité de rougissement la plus élevée, suivie par 2008 et 2014 (respectivement $29 \pm 2\%$, $22 \pm 3\%$, $16 \pm 2\%$ de Douglas atteints par parcelle). En effet, si 25 % des parcelles présentent en 2022 des taux d’atteintes supérieur à 40%, des taux d’atteinte similaire sont présents à 1% en 2014 et à 17% en 2008.

Tableau 5: Caractéristiques des plantations atteintes par le rougissement dans différentes régions. Données issues de la base de données DSF. Moyenne \pm es. Nombre observations : Auvergne, n = 92 ; Bourgogne, n = 29 ; Limousin, n = 102 ; Rhône-Alpes, n = 19 ; Languedoc-Roussillon, n = 10.

Régions	Altitude	Age	Années touchées
Auvergne	878 \pm 14 m	\leq 15 ans	2008 – 2014 – 2022
Limousin	700 \pm 19 m	\leq 15 ans	2008 – 2014 – 2022
Bourgogne	754 \pm 55 m	\leq 15 ans	2008 – 2022
Languedoc-Roussillon	815 \pm 55 m	\leq 15 ans	2022
Rhône-Alpes	923 \pm 30 m	\leq 15 ans	2008 – 2014 – 2022

Le point commun des zones à rougissement est qu’elles se situent principalement dans des zones montagneuses (Tableau 5 ; Figure 32). Les contreforts du Massif Central rassemblent les observations de rougissements situées en Limousin autour du plateau des Millevaches, ainsi qu’en Auvergne autour

des monts du Livradois-Forez et de la Montagne thiernoise. Dans le Languedoc-Roussillon, les observations ont été notées autour des Cévennes. En Bourgogne, le rougissement est généralement observé dans le Morvan ainsi que dans le Jura. En Alsace/Lorraine, ce sont les Vosges qui rassemblent les observations de rougissement du douglas. Les contreforts des Alpes du Nord sont aussi concernés par des observations de rougissement mais uniquement en 2022.

Ainsi, si la spatialité des zones à rougissement s'est répandue en 2022 par rapport à 2008 avec des zones nouvelles (Alpes du Nord, Cévennes, Pyrénées, Jura), cela peut s'expliquer par des nouvelles zones de plantations du Douglas (> 1100 m), qui seraient à la limite de la zone de prédilection du Douglas (< 1000 m ; CRPF). Ainsi, il serait possible que les nouvelles plantations soient plantées dans des zones sensibles au rougissement. Les 3 derniers épisodes ne nous permettent pas de conclure sur l'augmentation de l'intensité de rougissement au cours des 15 dernières années.

Plusieurs douglasaies ont été atteintes lors de rougissements successifs, à savoir en 2008 et 2014 ou en 2014 et 2022 (Figure 32D). Si 10% des parcelles ont été affectées successivement lors des rougissements de 2008 et 2014 ; le nombre de parcelles ayant rougies en 2014 et en 2022 atteint les 20%. Il n'y a pas eu de parcelles atteintes par les rougissements de 2008 et 2022 successivement.

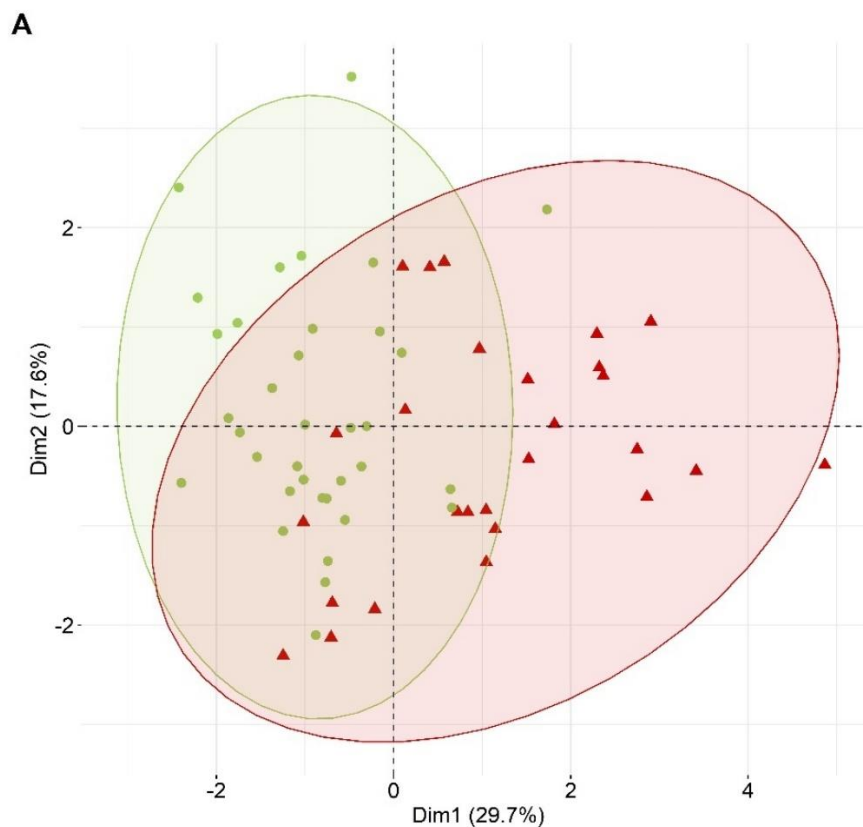
Comme les parcelles sensibles au rougissement sont généralement jeunes (< 15 ans), il semble peu probable que les parcelles touchées en 2008 puissent l'être en 2022, étant donné les 14 ans d'écart entre les deux phénomènes. En revanche, comme il n'y a que 6 ans d'écart entre 2008 et 2014 et 8 ans entre 2014 et 2022, des parcelles plantées peu de temps avant le premier rougissement, ont pu connaître deux épisodes de rougissements successifs. En cas de plantations affectées à un taux de rougissement supérieur à 60% en 2008 ou en 2014, les parcelles touchées ont souvent été replantées en douglas. Or, ces nouvelles plantations replantées sur les mêmes parcelles, auraient entre 5 et 7 ans au moment du rougissement suivant, âge de sensibilité au rougissement hivernal. Ainsi, puisque les mêmes parcelles ont pu être touchées deux fois de suite, les caractéristiques de la station semblent jouer un rôle important dans la vulnérabilité au rougissement.

B. Etude la base de données sur les annotations de parcelles rougissantes réalisée pendant ma thèse

■ *Analyse en Composantes Principales (ACP)*

Les 2 premiers composantes de l'ACP expriment 47 % de l'inertie totale du jeu de données, ce qui implique que 48 % de la variabilité des variables est représentée dans ce plan. Ainsi, ce pourcentage assez important du premier plan représente convenablement la variabilité contenue dans une grande part du jeu de données actif (Figure 33B).

Dans un premier temps et afin de visualiser la distribution des deux groupes (Figure 33A), nous avons créé une variable binaire rougissement (oui ou non). Il en ressort deux ellipses (Intervalle de confiance à 95%) qui se chevauchent en partie avec une ellipse rouge qui représente les parcelles ayant rougi tandis que la seconde ellipse – en vert – rassemble les stations sans rougissement. Le cluster des parcelles ayant rougi est positif sur la première composante et négatif sur la deuxième. Les parcelles n'ayant pas rougi ont des coordonnées majoritairement négatives sur la composante 1 et se répartissent de façon homogène le long de la deuxième dimension. Une ANOVA à un facteur confirme la différence significative entre les deux groupes sur la dimension 1 ($P < 0.0001$) mais l'infirme pour la dimension 2. Ce résultat est principalement dû à la forte contribution de l'intensité de rougissement (26.3%) à la dimension 1.



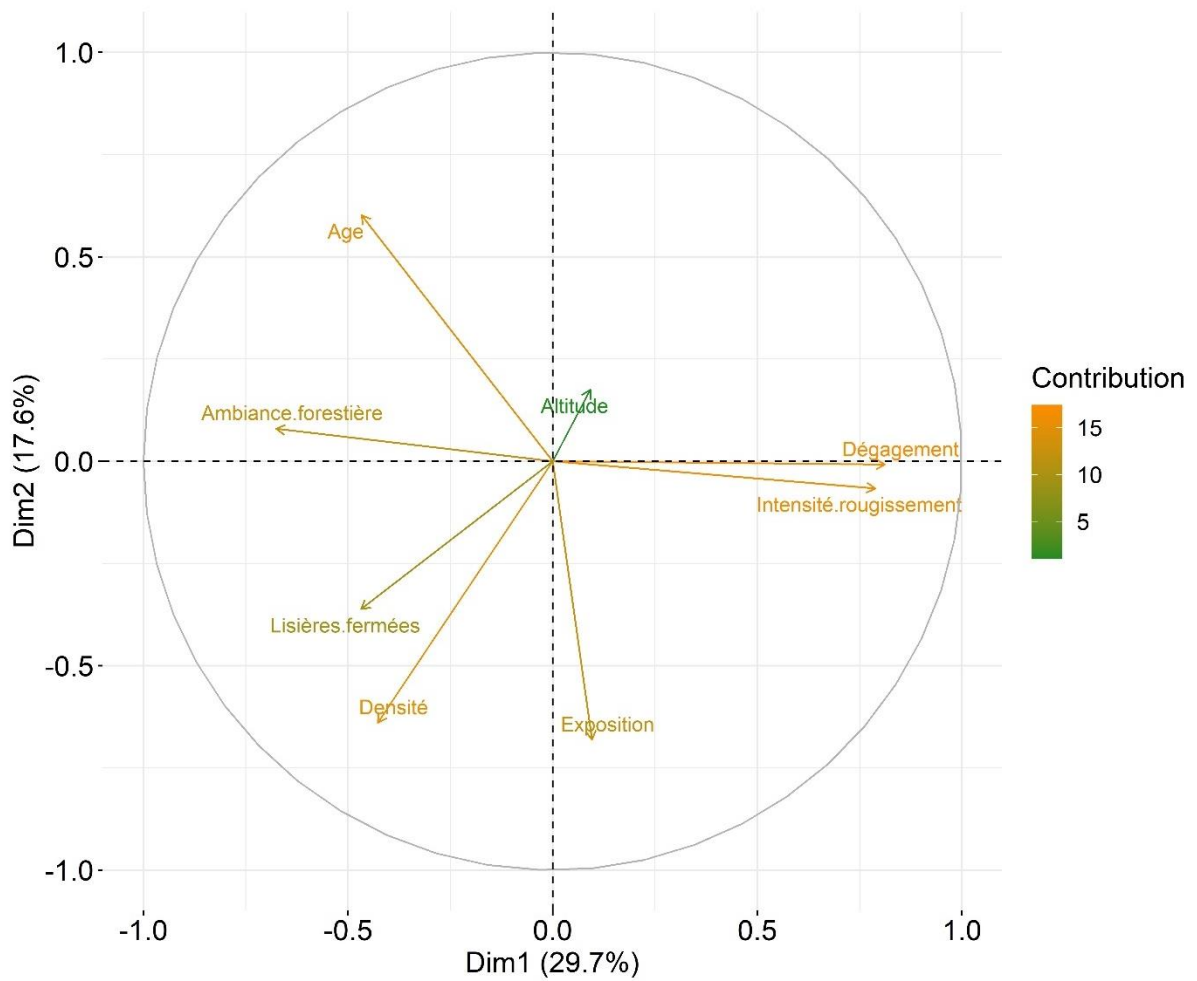
B

Figure 18: Analyse en composantes principales (ACP). A : Les ellipses représentent l'intervalle de confiance à 95% pour deux clusters avec un vert les observations sans rougissement et en rouge les observations de rougissement. Les stations sans rougissement (ronds vert) et celles avec rougissement (triangles rouges), sont représentées. B : cercle des corrélations permettant de visualiser les 8 variables stationnelles explicatives sur un plan factoriel bidirectionnel.

Le tableau des valeurs propres liées à chaque axe suggérerait de restreindre l'analyse à la description des 2 premières dimensions (Figure 34).

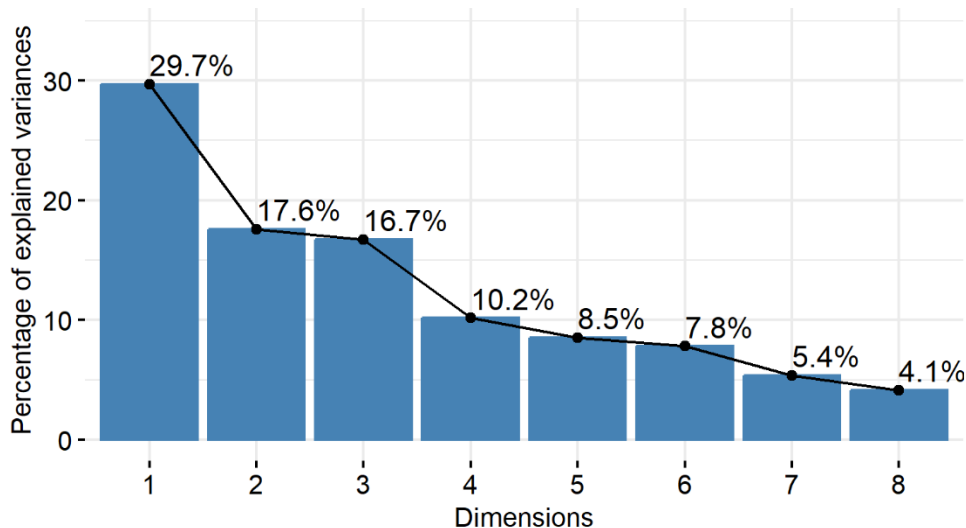


Figure 19: Graphique des valeurs propres avec la décomposition de l'inertie totale des composants de l'ACP.

Le tableau 6 présente la liste des variables quantitatives stationnelles qui contribuent à la première composante principale (dimension 1). La dimension 1 est expliquée par la contribution – à plus de 75% - des 4 variables suivantes à savoir le dégagement, l'intensité de rougissement, l'ambiance forestière et la présence de lisières fermées (Tableau 6). L'intensité de rougissement et le dégagement forestier (0.86) sont corrélés positivement à l'axe 1 mais négativement à l'ambiance forestière (-0.66) ainsi qu'au nombre de lisières fermées bordant la parcelle ayant rougi (-0.47 ; Tableau 6). Par conséquent, la dimension 1 met en évidence la corrélation entre l'intensité de rougissement et la gestion sylvicole des parcelles. En effet, les parcelles caractérisées par une ambiance forestière importante, bordée par 3 ou 4 lisières, sans dégagement forestier récents, semblent être moins sujettes au rougissement hivernal. Une gestion sylvicole importante (que ce soit sur la parcelle en question via des dégagements récents ou bien sur les parcelles voisines via des coupes rases, qui vont entraîner l'ouverture des lisières), est corrélée à un taux de rougissement élevé. L'ouverture des plantations et une exposition plus élevée aux variations climatiques (rayonnement solaire, variations thermiques quotidiennes, vitesse du vent supérieure etc.) pourrait contribuer à augmenter la vulnérabilité des jeunes douglas, déjà stressés par des conditions climatiques particulières.

Nous noterons que si l'âge n'apparaît comme une variable déterminante, de par sa contribution à la dimension 1, il est néanmoins corrélé à la variable « ambiance forestière ». Ceci peut s'expliquer par le fait que l'ambiance forestière dépend des classes d'âge de la parcelle. En effet, des arbres adultes ont une ambiance forestière fermée sans autres essences sur la parcelle que des Douglas avec une canopée fermée.

Tableau 6: Contribution, position et corrélation des variables par rapport à la dimension 1

Variables (Dimension 1)	Contribution (%)	Cosinus²	Corrélation¹
Dégagement	27.7	0.66	0.81
Intensité de rougissement	26.2	0.62	0.76
Ambiance forestière	19.2	0.46	-0.68
Lisières fermées	9.2	0.22	-0.47
Age	9.2	0.22	-0.46
Densité	7.7	0.18	-0.43
Exposition	0.4	0.009	0.11
Altitude	0.3	0.009	0.09

L'exposition (33%), la densité (30 %) et l'âge (26 %) de la station contribuent à 88 % à expliquer la dimension 2. L'exposition (-0.66), la densité de peuplement (-0.64) et l'âge (-0.60) sont corrélées négativement à l'axe 2. Par conséquent, la dimension 2 met en évidence la corrélation entre le rougissement et les caractéristiques stationnelles. En effet, les stations jeunes caractérisées par une faible densité, avec une exposition Nord / Nord-ouest / Nord-est semblent être plus sujettes au rougissement hivernal. Une densité de plantation faible ou bien une plantation ayant subi des dommages préalables soit une parcelle clairsemée avec une exposition Nord semble plus soumise aux variations climatiques (grandes amplitudes de variation thermique, vitesse du vent supérieure etc.) pourrait augmenter la vulnérabilité des jeunes douglas, déjà stressés par des conditions climatiques particulières.

Cette approche générale faite, nous avons décidé de mieux comprendre le lien entre les causes potentielles (dégagement, exposition etc.) et leur conséquence c'est-à-dire l'intensité du rougissement. Ainsi, une analyse de la relation entre les variables principales isolées à l'aide de la dimension 1, soit le dégagement, l'ambiance et le nombre de lisières, va nous permettre de mieux comprendre leur lien avec l'intensité du rougissement dans la partie suivante.

¹ Coefficient de Pearson

C. Etude détaillée des variables composant l'axe 1

■ *Impact d'un dégagement récent sur la sévérité du rougissement*

La variable « dégagement » est corrélée à 0.81 avec la dimension 1.

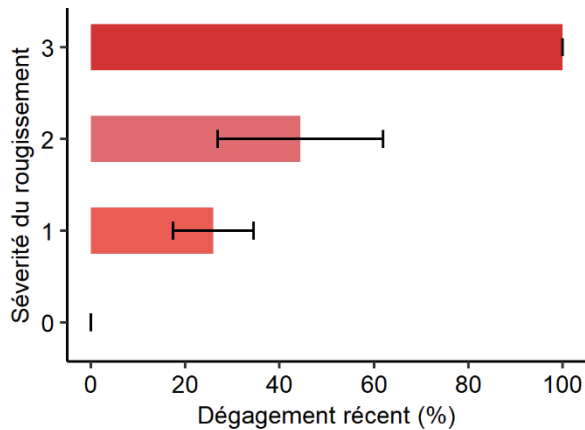


Figure 20: Impact des dégagements récents sur la sévérité du rougissement. La sévérité du rougissement est notée de 0 (pas de rougissement) à 3 (rougissement sévère > 50% d'arbres rouges). Une sévérité de 1 correspond à un faible taux de rougissement *i.e.* <15% et une sévérité de 2 correspond à une sévérité moyenne *i.e.* entre 15 et 30%. Moyenne ± es.

Un dégagement récent est lié à un nettoyage des feuillus de la parcelle, qui est effectué soit en début d'année 2023, soit au cours de l'année 2022. Des parcelles sans rougissement sont des parcelles n'ayant subi aucun dégagement récent (sévérité 0 ; Figure 35). Des parcelles atteintes à plus de 50% (sévérité 3 ; Figure 35) par le rougissement, sont systématiquement des parcelles ayant été dégagées récemment. Un taux de rougissement < 30% apparaît souvent sur des parcelles récemment dégagées : 44 ± 17% (Sévérité 2 ; Moyenne ± es).

Un dégagement forestier en fin d'hiver dénude les arbres, les exposant à des rayonnements plus intenses, à des variations de températures élevées et à des vitesses de vent plus importantes. Ces arbres, acclimatés à un environnement plus tamponné, pourraient se retrouver dans des conditions climatiques très contraignantes (températures extrêmes, intensité lumineuse élevée, vitesse du vent plus importante), dans un contexte de période anticyclonique, déjà critique pour leur survie. Cet effet de la sylviculture a été considéré comme facteur discriminant en notant la corrélation entre les dégagements récents et le rougissement. Baubet et Goudet, dans leur rapport sur le rougissement hivernal 2014, montrent que plus de 50% des observations de rougissement ont lieu sur des parcelles nettoyées au cours de l'année précédente ou de l'hiver précédant le rougissement.

Un dégagement, réalisé au cours de l'année précédant le rougissement, amène à se poser la question de la végétation colonisatrice (graminées, fougères), poussant pendant les mois suivants le dégagement. Les fougères offrent une vraie protection temporaire pendant la période estivale, permettant de préserver l'arbre des températures élevées, des rayonnements lumineux et des vitesses de vents

importantes. Or, en hiver, cette protection s'effondre, exposant les arbres à des conditions favorables pour le rougissement.

- **Etude détaillée de l'ambiance forestière**

L'ambiance forestière est corrélée négativement (-0.68) avec la dimension 1. Ainsi, une ambiance forestière réduite ou clairsemée favoriserait des dommages induits par le rougissement.

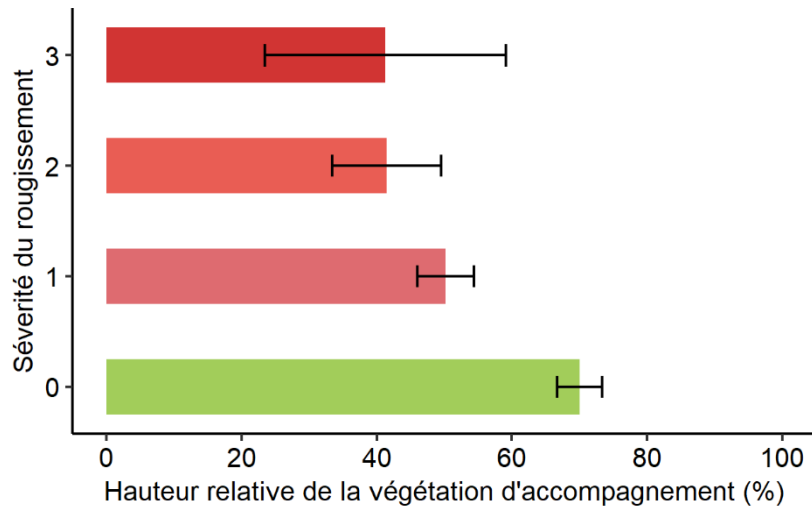


Figure 21 : Impact de la hauteur relative de la végétation d'accompagnement sur la sévérité du rougissement. La sévérité du rougissement est notée de 0 (pas de rougissement) à 3 (rougissement sévère > 50% d'arbres rouges). Moyenne \pm se. Une sévérité de 1 correspond à un faible taux de rougissement *i.e.* <15% et une sévérité de 2 correspond à une sévérité moyenne *i.e.* entre 15 et 30%.

La hauteur relative de la végétation d'accompagnement est très élevée (~70% de la hauteur d'un douglas) dans les parcelles sans rougissement (sévérité 0 ; Figure 36), alors que des hauteurs plus faibles ont été notées dans les parcelles ayant rougies, quel que soit la sévérité de l'atteinte (entre 40 et 50%).

Le relevé des parcelles, ayant été fait en mai-juin 2022, a permis de prendre un compte la nature de végétation d'accompagnement. Un couvert végétal fermé ou presque fermé concerne les plantations d'au moins 12-15 ans, et se caractérise par une absence de végétation d'accompagnement mais une ambiance forestière plus fermée qu'une plantation plus jeune. A travers les termes « Dominante fougères » ou « Dominante genêt », la végétation d'accompagnement était composée d'au moins 60% de fougères ou de genêts, respectivement. A travers le terme « Mixte », la végétation d'accompagnement était composée au moins 30% de genêt - ronces, de quelques fougères (< 30%), de feuillus (sorbier ; sureau ; bouleau ; peuplier - < 40% ; Figure 37).

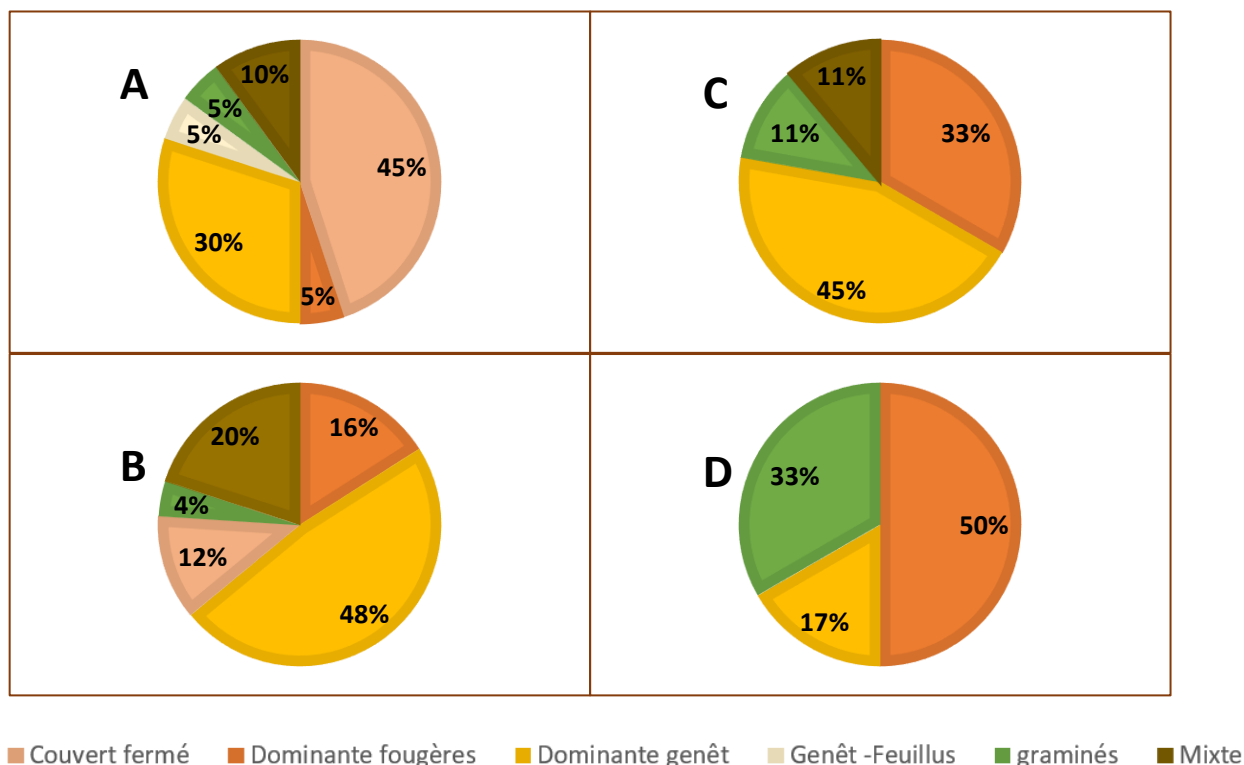


Figure 37 : La sévérité du rougissement en fonction de la végétation d’accompagnement. A : Pas de rougissement – Sévérité 0. B : Une sévérité de 1 correspond à un faible taux de rougissement *i.e.* <15%. C : une sévérité de 2 correspond à une sévérité moyenne *i.e.* entre 15 et 30%. D : La sévérité 3 (rougissement sévère > 50% d’arbres rouges).

Une plantation sans rougissement (sévérité 0 ; Figure 37A) se caractérise par la mise en place d’un couvert fermé dans 45% des parcelles ou bien d’une végétation d’accompagnement pérenne dans 45% des cas. Parmi ces 45% de végétation pérenne, il est possible de noter 70% de dominante de genêt, 30% de mixte de fougères-genêt-feuillus et 10% de genêt-feuillus, c’est-à-dire qu’il s’agit de Douglas protégés par une végétation présente quelle que soit la saison.

Au contraire, une plantation ayant plus de 50% de douglas rouges (sévérité 4 ; Figure 37D) présente une végétation principalement annuelle, qui n’offre un abri qu’en période estivale avec 33% parcelles caractérisées par des graminées, 50% par des fougères et seulement 17% par une végétation pérenne *i.e.* des genêts. En fin d’automne – hiver, l’ambiance forestière disparaît provoquant l’accentuation des contrastes thermiques sur des arbres non acclimatés à ce nouvel environnement. Baubet et Goudet (2015) insistent sur la perte de l’abri latéral induite par les fougères, hors saison de végétation.

L’intensité de rougissement d’une parcelle se marque à travers la présence de végétation d’accompagnement annuelle *i.e.* fougères et graminées. Pour une sévérité 0, 10% des parcelles sont caractérisées par une végétation annuelle. Pour une sévérité 1, la proportion de végétation annuelle double (20%). Cette proportion de graminées et de fougères double entre chaque stade de sévérité dont

les stades 2 et 3 avec, respectivement, 44% et 83% des parcelles rougissantes présentant une végétation de type annuelle. Les plantations, ayant rougi à moins de 30% (sévérité 2 et 3 ; Figure 37B et Figure 37C) sont caractérisées par un type de végétation à dominante genêt, respectivement 48% et 45%, c'est-à-dire une végétation mixte pérenne - annuelle, arrivant à mi-hauteur des douglas. Ainsi, l'ambiance forestière de ces plantations modérément touchées par le rougissement hivernal n'est pas assez fermée pour préserver une ambiance homogène sur l'intégralité de la parcelle, générant des microclimats variés.

Langvall (2000) montre l'effet des coupes progressives (équivalent à laisser une végétation d'accompagnement sur les plantations) par rapport aux coupes rases sur le microclimat des parcelles de jeunes épicéas. Laisser une végétation d'abri modère les flux de rayonnement près du sol et les variations de température journalières sans affecter pour autant la température moyenne. Ainsi, une végétation d'accompagnement pérenne diminue le risque de dommages gélifs aux semis d'épicéa commun en i) réduisant les flux de rayonnement près du sol, ii) en augmentant les températures près du sol et en réduisant les gradients verticaux de température par des nuits claires et calmes, et iii) en retardant le débourrement, par rapport aux conditions dans les coupes claires. Ces effets sont plus prononcés pendant une période sèche. Des coupes à blanc induisent un plus grand nombre de gelées, une durée d'exposition à des températures gélives plus longues ainsi que des températures minimales extrêmes plus basses (Sagar et Waterhouse, 2010).

Petritan (2011) souligne que des jeunes plants de douglas poussant dans une végétation dense et compétitive avec de petits arbustes tels que *Rubus sp.* ont été beaucoup moins affectés par des épisodes gélifs, en comparaison aux dégâts gélifs causés par des graminées concurrentes. Bien que la couverture végétale moyenne soit similaire, les jeunes plants de douglas ont été moins affectés par le gel sous les petits arbustes que sous la végétation herbacée, les petits arbustes ayant une plus grande couverture (+16%). Ces résultats sont en accord avec ceux de LePage et Coates (1994) qui ont montré que la réduction de la couverture de *Rubus parviflorus* peut impliquer une augmentation des dégâts dus au gel. Or, le risque gélif a été identifié comme étant le principal risque léthal pour de jeunes plantations de conifères (Christersson et Fircks 1990).

Pour conclure, l'ambiance forestière tamponne les extrêmes climatiques (températures, vent, rayonnement, fortes gelées...) et produit ainsi un microclimat favorable, isolant les douglas des aléas climatiques. La surface foliaire des strates de végétation absorbe le rayonnement solaire et réduit les pertes de chaleur par son effet isolant et par la réduction de la vitesse du vent.

- **Impact de la présence de lisières**

L'ambiance forestière est corrélée négativement (-0.47) avec la dimension 1. Afin de comprendre cette corrélation entre le nombre de lisières et l'intensité de rougissement, nous avons noté la composition des lisières *i.e.* le type d'essences composant les lisières. Il pouvait s'agir de feuillus, des conifères ou bien des lisières mixtes feuillus-conifères. Les parcelles très atteintes par le rougissement (sévérité 4 ; Figure 38) ont tendance à présenter moins de lisières fermées que les parcelles peu/pas touchées (sévérité 1,2,3 ; Figure 38). L'absence de lisières fermées favoriserait la circulation du vent, l'exposition à la lumière, de fortes variations de températures, amplifiant l'évapotranspiration des plantations non-protégées. Le vent abaisse la température de l'air en réduisant les différences de température entre les plantes et l'air ambiant ainsi qu'entre les sites exposés au soleil et les sites ombragés (Holtmeier et Broll 2010). En général, les sites exposés au vent sont plus frais que ceux qui en sont protégés, sauf pendant les nuits calmes et claires où l'air froid s'accumule dans les concavités topographiques (Holtmeier et Broll 2010).

Les lisières des parcelles fortement atteintes sont généralement composées d'une lisière mixte feuillus/conifères et d'une lisière de conifères alors que les parcelles peu/pas affectées auraient deux lisières de conifères. Ce qui pourrait sembler un peu surprenant car les lisières de conifères (parcelles de conifères avoisinant les parcelles de jeunes Douglas) sont généralement très denses et hautes (>15m). Les arbres denses peuvent réduire la vitesse moyenne du vent et le rayonnement solaire au-dessous du sommet de la canopée d'environ 90 % par rapport aux zones ouvertes (Heisler et Dewalle 1988). Or, une haie très dense serait connue pour favoriser la stagnation de l'air donc en hiver les dommages dus aux gelées blanches (Bonfils, 2011). Au printemps, des haies denses pourraient induire une élévation des températures par effet de serre, ce qui pourrait augmenter l'évapotranspiration (Bonfils, 2011). De plus, une haie peu perméable au vent réduirait l'efficacité « brise-vent » d'une haie en offrant une protection efficace uniquement sur une courte distance *i.e.* ne dépassant pas 8 à 10 fois la hauteur du brise vent. Au-delà de cette distance, l'air redescend en créant une zone tourbillonnaire, amplifiant l'assèchement de la parcelle (Bonfils, 2011). Cependant, les parcelles de jeunes Douglas de notre étude étant majoritairement de petites parcelles, il serait possible que la quasi-totalité de la parcelle soit protégé par l'effet « brise-vent » sans avoir à subir la zone tourbillonnaire sur la parcelle. Ainsi, des lisières de conifères pourraient maintenir une ambiance peu ventée tout en maintenant une stabilité des températures, ce qui expliquerait pourquoi ces parcelles seraient peu/pas touchées par le rougissement. Il serait intéressant d'étudier la répartition des douglas rouges à proximité ou bien éloignés des diverses lisières afin de déterminer un éventuel effet « lisière ».

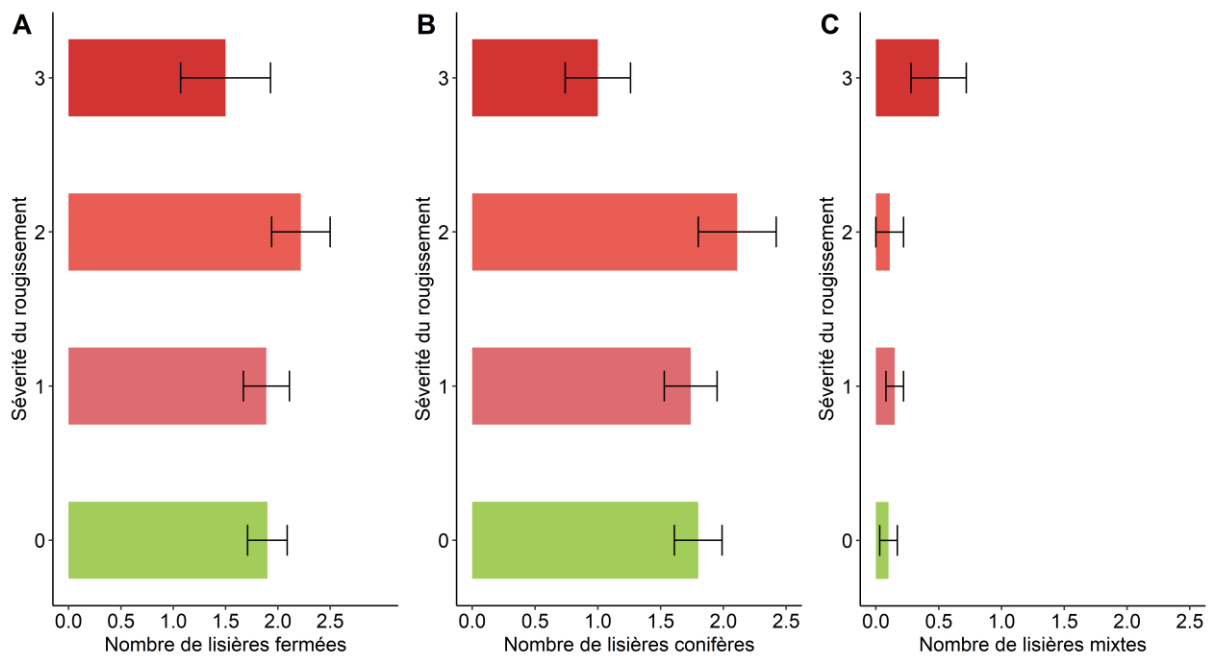


Figure 22: La sévérité du rougissement en fonction du nombre de lisières fermées et de la composition des lisières ; A : Effet du nombre de lisières fermées sur la sévérité du rougissement. B et C : Effet de la nature des lisières (conifères ou bien mixtes conifères/feuillus) sur la sévérité du rougissement. La sévérité du rougissement est notée de 0 (pas de rougissement) à 3 (rougissement sévère > 50% d'arbres rouges). Une sévérité de 1 correspond à un faible taux de rougissement *i.e.* <15% et une sévérité de 2 correspond à une sévérité moyenne *i.e.* entre 15 et 30%. Moyenne \pm es.

Des lisières mixtes feuillus-conifères, plus perméables au vent, permettent une infiltration du vent dans les branches, limitant la zone tourbillonnaire et favorisant le ralentissement de l'air sur une distance égale à 15-fois la hauteur du brise-vent (Bonfils, 2011). Ainsi, ce type de lisière, en rompant la trop grande vitesse de l'air sans en empêcher la circulation, peut préserver les arbres présents derrière elle. Or, nous ne pouvons pas faire un tel constat au niveau des parcelles annotées. En effet, des parcelles fortement atteintes présentent souvent une lisière mixte. En conséquent, nous pouvons émettre l'hypothèse qu'entre l'hiver et l'été, les lisières mixtes exposeront différemment les arbres au passage de l'air, ce qui pourrait empêcher l'adaptabilité des douglas à des conditions climatiques « similaires » quelle que soit la saison. En hiver, le passage du vent est moins réduit qu'en été, augmentant l'évapotranspiration due à une circulation de l'air plus importante dans la parcelle. De plus, les lisières mixtes sont moins opaques que des lisières de résineux, augmentant ainsi la durée et la fréquence d'exposition des jeunes douglas à des rayonnements lumineux.

III. Impact des variables contribuant à l'axe 2 sur l'intensité du rougissement

Les données de la base de données DSF vont permettre de valider ou non, les informations données par l'utilisation de l'ACP. Il apparaît que les parcelles non sujettes à rougissement (sévérité 0 ; Tableau 7) sont des parcelles d'altitude peu élevée (< 750 m), d'un âge moyen de 11 ans, exposée majoritairement Sud. Les parcelles ayant subies des dommages de rougissement hivernal sont plus jeunes (4 – 8 ans), localisées sur des versants – exposition dominante Nord – d'altitude élevée (> 850 m).

Tableau 7 : Effet de l'altitude, de l'âge, de la densité de plantation et de l'exposition sur la sévérité du rougissement. Moyenne \pm es.

Sévérité de rougissement	Altitude	Age	Densité	Exposition
0	674 \pm 46	11 \pm 2	1197 \pm 50	Sud - Sud-Ouest
1	961 \pm 30	7 \pm 1	1308 \pm 65	Sud
2	951 \pm 45	6 \pm 1	1201 \pm 155	Sud-Est
3	889.9 \pm 55	5 \pm 1	963 \pm 90	Est - Nord-Est – Nord-ouest

L'étude réalisée par Baubet et Goudet en 2015, suite au rougissement hivernal de 2014, repose principalement sur l'étude de la base de données d'observation de rougissement, réalisée par les correspondants-observateurs du DSF. Cette base de données se fonde uniquement sur des données d'observation de rougissement donc sur des observations dites « positives », ce qui fait partie des limites de cette analyse. Ainsi, les parcelles à rougissement ont été majoritairement notées sur des versants Est, Nord-Est, Nord-Ouest, pour des altitudes entre 650 et 1100 m d'altitude. Ce qui est cohérent avec nos résultats qui soulignent l'exposition Nord comme étant fortement liée au rougissement. L'âge des parcelles ayant subi du rougissement, se situe entre 4 et 8 ans, ce qui est similaire à nos résultats. Néanmoins, ce facteur n'apparaît pas comme contribuant significativement à l'axe 1 de l'ACP, ce qui est surprenant de prime abord, ce phénomène étant noté uniquement sur des parcelles d'âge \leq 15 ans. Cependant, l'âge apparaît de façon indirecte à travers des notions comme la végétation d'accompagnement. Des douglas matures n'ont pas de végétation d'accompagnement, ayant une canopée fermée. Ainsi, comme les parcelles rougissantes sont majoritairement des parcelles ayant une végétation d'accompagnement annuelle, ou dans un second temps des feuillus, il s'agit souvent de jeunes plantations. Il est intéressant de constater qu'une densité plus faible est également à une sévérité de rougissement plus importante, ce qui cohérent avec l'ouverture du milieu dans lequel évolue les Douglas, contribuant à un microclimat varié et changeant.

IV. Synthèse : Portrait-robot d'une parcelle rouge et verte

Une parcelle dégagée récemment *i.e.* au cours de l'année précédente ou de l'hiver précédent, est susceptible de rougir par un changement d'ambiance forestière soudain auquel les arbres n'ont pas le temps de s'adapter avant des conditions climatiques stressantes. Des parcelles ouvertes (avec 1 à 2 lisières) seraient plus vulnérables au rougissement en offrant des vitesses de vents plus élevées, des variations thermiques plus importantes ainsi qu'une exposition plus longue et plus intense aux rayonnements solaires (Figure 39). Le rougissement hivernal touche principalement des parcelles exposées Nord à l'ambiance forestière inachevée, ou incomplète, c'est-à-dire avec des plantations caractérisées par une végétation d'accompagnement non pérenne, présente à hauteur de 50% de la hauteur totale du douglas, en saison de végétation.

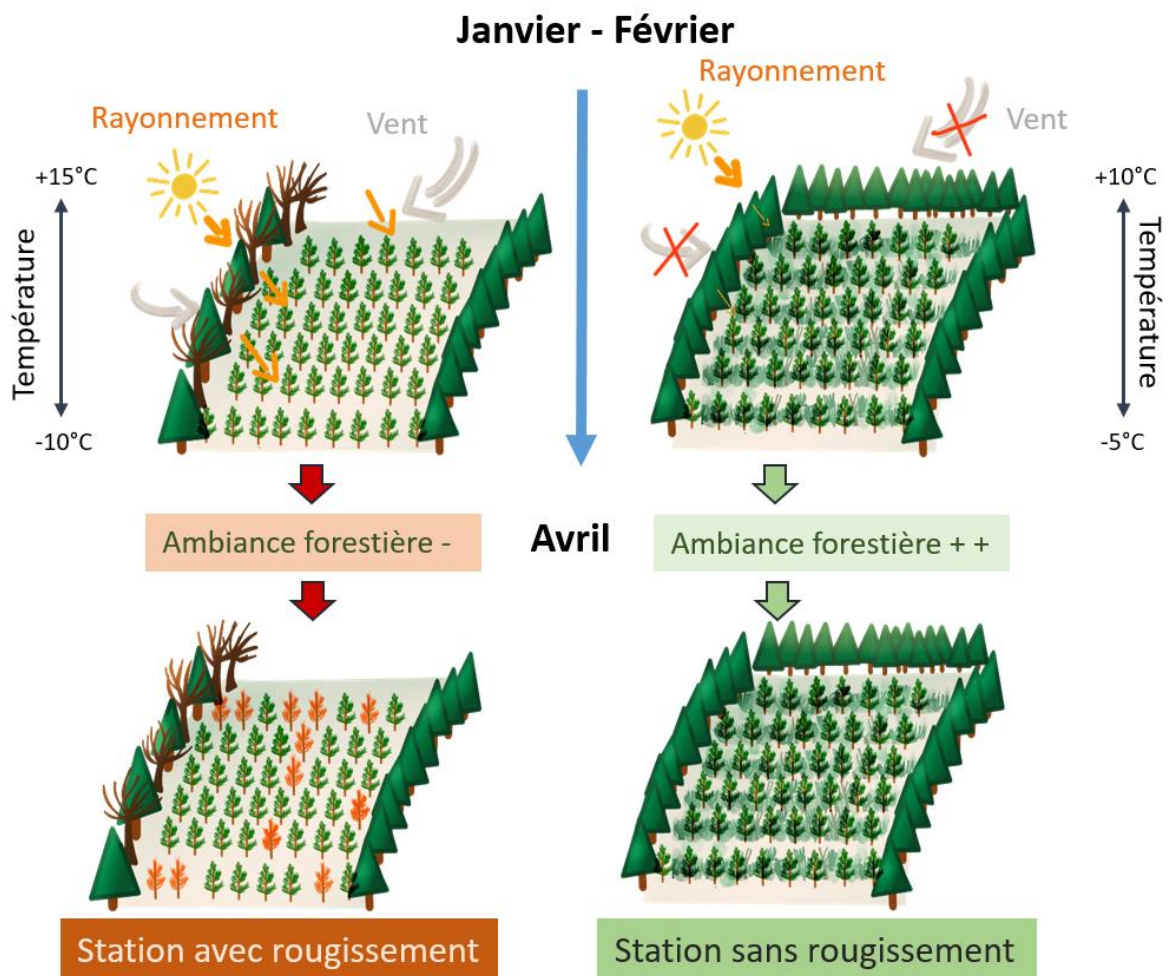


Figure 23 : Portrait-robot d'une parcelle vulnérable au rougissement et d'une parcelle sans rougissement. Effet des caractéristiques de la station sur le microclimat de la parcelle avec un zoom sur l'amplitude thermique, le rayonnement solaire et l'exposition au vent.

Par conséquent, des arbres qui perdent intégralement l'ambiance forestière en l'hiver (disparition de l'abri latéral dû à la mort des fougères), seraient exposés à une vitesse du vent plus élevée. Sur les

terrains balayés par le vent, l'abrasion des couches de cire cuticulaires par la glace et les particules minérales entraînées par le vent pourrait réduire la résistance de la cuticule et peut donc augmenter la perte d'eau dans une mesure critique. L'abrasion par les particules de glace peut même enlever des cuticules complètement développées (Hadley et Smith, 1983, 1986, 1990 ; Dahms, 1992). De plus, les vents forts peuvent faire éclater les aiguilles et les pousses gelées, accélérant ainsi la perte d'eau des tissus ouverts (Marchand et Chabot 1978; Gardingen et al. 1991).

Un taux de rougissement moins important est noté sur les parcelles caractérisée avec une végétation pérenne, présente à hauteur de 50% de la hauteur des jeunes douglas. Cette végétation d'accompagnement permet de créer un microclimat, tamponnant les extrêmes thermiques, limitant le rayonnement et la vitesse du vent. Dans ce type de parcelle, le phénomène de dessiccation hivernale chez les jeunes conifères a été proposé. Il affecterait uniquement que le feuillage immature dépassant le manteau neigeux hivernal et est plus susceptible de se produire sur des sites protégés du vent pendant de longues périodes de temps clair et calme. Dans ces conditions, les aiguilles se réchaufferaient bien au-dessus de la température ambiante et la transpiration augmenteraient en raison du fort gradient de pression de vapeur qui en résulte entre la surface de l'aiguille et l'air ambiant. L'étude des aiguilles des arbres rouges permettraient de savoir si la vitesse du vent en entraînant des dommages cellulaires pourraient accélérer la déshydratation du houppier ou bien si la déshydratation apparaît avant l'apparition de dommages cellulaires.

Conclusion

L'étude des trois derniers épisodes de rougissement – 2008, 2014, 2022 – nous confirme que les stations de Douglas particulièrement vulnérables au rougissement sont des parcelles jeunes (< 15 ans), situées en altitude (entre 650m et 1200m). Dans un contexte de changement climatique, il ne semble pas avoir ni une intensité croissante de rougissement, ni un étalement spatial croissant du rougissement hivernal depuis 2008, bien que le rougissement 2022 soit l'épisode le plus important en intensité comme en diversité des zones touchées. Néanmoins, le fait que des zones montagneuses non atteintes jusque-là l'étaient en 2022, peut s'expliquer par la présence de plantations de Douglas nouvellement installées dans des zones à la limite de leur zone géographique. Si, dans le futur, la fréquence des événements de rougissement était amenée à s'intensifier, il serait évident que la plantation de Douglas dans ces zones géographiques régulièrement atteintes, serait à remettre sérieusement en question. En effet, même si le taux de rougissement ne touche que 20% de la parcelle, il est évident que plusieurs événements successifs de rougissement sur la même parcelle, peuvent remettre en cause l'intégralité de la plantation.

L'étude de ma base de données réalisée sur les parcelles touchées ou non par le rougissement, sur les contreforts du Massif Central, a permis de mettre en évidence le rôle primordial de la sylviculture dans la sévérité du rougissement. L'interprétation de l'ACP présente néanmoins quelques limites. Dans un premier temps, il s'agit d'une base de données figeant les plantations à un moment « t », c'est-à-dire sans information détaillée sur l'historique de la parcelle. Ainsi, la densité de plantation a été estimée sans prise en compte de la sylviculture et d'une potentielle éclaircie pour les parcelles plus âgées (normalement conduite entre 20 et 25 ans ; CRPF_douglas). Dans un second temps, les variables de l'ACP ne sont pas totalement indépendantes. Aujourd'hui, comme la productivité et le fort potentiel d'adaptation à la sécheresse du douglas séduit les forestiers, le Douglas est de plus en plus planté dans des zones à la limite de sa zone de prédilection (< 1100 m ; CRPF_douglas). Ainsi, des altitudes élevées sont en général corrélées à des plantations jeunes.

Une parcelle dégagée, peu dense, exposée Nord, ouverte sur deux lisières, serait plus sensible au rougissement avec des vitesses de vents plus élevées, des variations thermiques plus importantes (températures nocturnes gélives, et températures élevées journalières) ainsi qu'à une exposition plus longue et plus intense au rayonnement solaire. Pour des espèces telles que le Douglas, Aussenac (2000) recommande l'utilisation d'une forêt adjacente ou d'un couvert végétal bas pour améliorer les conditions de température, en particulier en ce qui concerne les dégâts causés par le gel au printemps, pendant au moins 4 à 5 ans. De plus, une faible ambiance forestière amplifierait le phénomène de rougissement, en intensifiant les aléas climatiques auxquels le Douglas serait sensible en hiver. Comme les parties rougissantes des jeunes Douglas, sont principalement au-dessus de la végétation d'accompagnement, il est possible d'imaginer que les aiguilles du houppier seraient soumises à des variations thermiques plus élevées entraînant des dommages cellulaires, un stress hydrique.

Chapitre 2

Caractérisation de la physiologie d'un Douglas sujet au rougissement

“Personne ne voit les arbres. Nous voyons des fruits, nous voyons des noix, nous voyons du bois, nous voyons de l'ombre. Nous voyons des ornements ou les jolies couleurs de l'automne. Des lieux sombres et menaçants qu'il faut défricher. Nous voyons des branches qui risquent de crever notre toit. Nous voyons une poule aux œufs d'or.

Mais les arbres...

Les arbres sont invisibles.

Richard Powers



Mars 2022. Livradois-Forez. St Eloy la Glacière.
Douglas en cours de rougissement.

Introduction

La fin d'hiver-début printemps 2022 a été marquée par un phénomène de rougissement de grande ampleur dans de nombreuses zones de moyenne montagne en France : le Livradois-Forez, la montagne Noire, le plateau des Millevaches, les Vosges, le Morvan, *etc.* Les premières observations de rougissement ont été notées par les correspondants-observateurs du DSF à partir du 15/03/2022. Au sein d'une parcelle rougissante, le taux d'atteinte peut être très variable, de 5% à 80% (Matz, 2015 ; Baubet et Goudet, 2014). Les Douglas présents sur une parcelle en cours de rougissement, ne sont pas systématiquement affectés de la même façon. Si certains Douglas sont entièrement rouges, d'autres peuvent présenter un rougissement partiel tandis que les derniers restent vert vif. Si plus de 50% des aiguilles sont décolorées, les arbres atteints meurent généralement dans les années suivant l'épisode de rougissement (Matz 2015; Malmqvist et al. 2018). En cas de survie, l'arbre atteint développe un retard de croissance considérable, qui lui sera létal au moment de la fermeture du couvert forestier. Ainsi, quel que soit le niveau d'atteinte du rougissement de l'arbre, il est considéré sans avenir sylvicole par les gestionnaires forestiers.

Le rougissement est considéré comme un symptôme d'un dysfonctionnement hivernal, entraînant quasi systématiquement la mortalité de l'individu affecté, mais aussi pouvant parfois remettre en question la plantation. Caractériser les différences physiologiques entre un Douglas rougissant et un Douglas sain (caractérisé dans ce travail par des aiguilles de couleur verte) a été un enjeu prépondérant de cette thèse, la physiologie du rougissement hivernal du Douglas étant peu connue de la littérature scientifique. Une meilleure connaissance de l'état physiologique d'un Douglas en cours de rougissement pourrait nous aider à mieux appréhender le phénomène, et à trouver des solutions pour le limiter. Comment se propage le rougissement hivernal ? Quels sont les paramètres physiologiques qui diffèrent entre une aiguille verte et une aiguille rouge ? Existe-t-il des similitudes entre un rougissement hivernal et les symptômes physiologiques d'une sécheresse édaphique « estivale » qui peut également conduire au rougissement des aiguilles ?

Pour tenter de répondre à ces questions, des rameaux d'individus entièrement rouges, en cours de rougissement et verts ont été prélevés (base et couronne supérieure par individu prélevé) afin de réaliser un suivi de l'état physiologique des aiguilles. Les diverses mesures ont concerné : i) l'état du système photosynthétique par des mesures de fluorescence (Licor 6400), donnant une indication des dommages sur les photosystèmes des aiguilles ; ii) une estimation des dégâts cellulaires à travers la mesure de la fuite d'électrolytes (Electrolyte Leakage par conductimétrie) ; iii) un suivi de la concentration en glucides non structuraux (NSC) par dosage en chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC), permettant de connaître le niveau d'acclimatation au froid de l'arbre et des réserves en glucides des aiguilles de diverses couleurs. Pour finir, un suivi hydrique et hydraulique a aussi été entrepris : au niveau de l'aiguille via des mesures de HP, et au niveau des rameaux par des mesures de potentiel hydrique à la chambre à pression et de perte de conductivité hydraulique (par

micro-tomographie à rayon X). À l'aide de ces mesures, les profils types d'un Douglas vert, en cours de rougissement et entièrement rouge ont été établis en tenant compte de ces approches hydriques, de dommages cellulaires, de fluorescence et de teneur en glucides.

I. Matériels & méthodes :

Des mesures ponctuelles ont été menées au cours de l'épisode de rougissement 2022 (trois dates de prélèvement : 22/03/2022 ; 29/03/2022 ; 27/04/2022). Des mesures ont été réalisées sur des Douglas « témoin », aux aiguilles vertes ($n = 6$), de Douglas en cours de rougissement ($n = 20$) et sur des arbres entièrement rouges ($n = 5$) sur le haut et bas du houppier, afin de comprendre quels dysfonctionnements (hydraulique, photo oxydatif...) étaient susceptibles induire le changement de couleur des aiguilles. Le PLC, la fluorescence chlorophyllienne ainsi que le dosage des NSC (sucres et amidon) ont été réalisés conformément à la description déjà présentée dans le Matériel et Méthodes du chapitre 1 – Partie III.

■ *Etude du symptôme du rougissement*

Des observations sur l'apparition des symptômes du rougissement ont été faites afin d'établir une classification de ces symptômes. Une catégorisation a été proposée, déclinant ce phénomène en 4 stades distincts (stade 1 : non atteint – arbre vert vif ; stade 2 : stade de rougissement peu atteint avec les verticilles supérieurs en cours de décoloration, c'est-à-dire avec un vert terne ; stade 3 : stade de rougissement avancé avec un arbre mi-rouge mi-vert ; stade 4 : dernier stade de rougissement ultime avec un arbre entièrement rouge). Il s'agissait d'une échelle qualitative d'avancement du rougissement, basée sur les observations terrain, créée et utilisée par une unique observatrice (Mahaut Van Rooij). Pour de plus amples détails, voir § II.A de ce chapitre.

Pouvoir comprendre plus finement le phénomène, divers types d'aiguilles ont été identifiés :

- Le type 1 : aiguilles vertes de l'apex-base des arbres témoins *i.e.* sains
- Le type 2 : aiguilles vertes de la base des arbres du stade 2 (Apex vert séchant- Base vert vif) et du stade 3 (Apex rouge- Base vert vif).
- Le type 3 : aiguilles de couleur vert séchant de l'apex du stade 2.
- Le type 4 : aiguilles de couleur rouge de l'apex rouge du stade 3 et au niveau de l'apex - base des arbres du stade 4.

■ *Potentiel hydrique de tige Ψ*

Le potentiel hydrique Ψ (MPa) a été mesuré sur des rameaux, prélevés entre 11 et 15 heures sur les différentes parcelles, à l'aide d'une chambre à pression de type Scholander (PMS Instrument, Albany, USA). Les mesures ont été effectuées sur des rameaux de branches supérieures et inférieures pour chaque catégorie d'arbre précédemment décrite. Les échantillons prélevés sont ensachés et maintenus à

l'obscurité pour éviter de la transpiration durant tout le temps de trajet entre le lieu de prélèvement et le laboratoire (>1 heure). La chambre à pression ne permet de mesurer des valeurs de potentiel hydrique inférieures à -8 MPa.

- ***Humidité Pondérale HP***

L'humidité pondérale HP a été mesurée par différence de masse entre des aiguilles fraîches - pour tous les arbres prélevés du stade 1 au stade 4 (Masse Fraiche : MF) - et ces mêmes aiguilles séchées pendant une semaine à l'étuve à 50°C (Masse sèche : MS). L'HP a été calculée comme suit :

$$HP = \frac{(MF-MS)}{(MS)} \quad (1)$$

- ***Fuite d'électrolytes ou Electrolytes leakage EL***

La fuite d'électrolytes (EL) est généralement mesurée pour évaluer les dommages cellulaires induits par des facteurs de stress (voir par exemple Herbette et al., 2005 ; Charrier et Améglio, 2011). Pour évaluer les dommages cellulaires induits par le rougissement hivernal, l'EL a été mesurée sur les aiguilles des rameaux de branches de 30 individus pendant les divers stades de rougissement de mars à mai 2022.

Les aiguilles ont été divisées en quatre sections égales et immergées dans 15 ml d'eau distillée et déionisée. Les flacons ont été agités pendant 24 heures à +5 °C dans l'obscurité (pour limiter la croissance bactérienne) sur un agitateur horizontal à gravité (ST5, CAT, Staufen, Allemagne). La conductivité électrique de la solution a été mesurée (C1) à température ambiante à l'aide d'un conductimètre (Held Meter LF340, TetraCon 325, Weiheim, Allemagne). Après passage à l'autoclavage à +120 °C pendant 30 minutes et refroidissement des échantillons à la température ambiante (60 min), la conductivité a été mesurée à nouveau (C2). L' EL a été calculée comme suit :

$$EL = \frac{C1}{C2} * 100 \quad (2)$$

- ***Analyses statistiques***

Les analyses statistiques et les figures ont été réalisées à l'aide du logiciel libre R 3.1.0 (R Development Core Team). Les conditions d'application d'un test paramétrique n'étant pas rassemblées, la différence entre traitement a été testée par le test non paramétrique de Kruskal-Wallis, suivi d'un test post-hoc de comparaison multiple de Conover-Iman. Les figures ont été dessinées avec ggplot2 (Wickham, 2009).

II. Résultats & discussion :

A. Ordre visuel de l'apparition des symptômes du rougissement hivernal

En l'absence de rougissement hivernal en conditions contrôlées, le rougissement hivernal *in natura* de l'année 2022 a été une belle opportunité dans le cadre de ce travail de thèse. Ainsi, nous avons pu suivre (grâce à l'implication d'Olivier Baubet et des correspondants observateurs du DSF) l'apparition des premiers symptômes du rougissement dès mars 2022. Ce qui a été l'occasion de distinguer différents « stades ». En premier lieu, le haut du houppier *i.e.* les verticilles supérieurs sont atteints d'une couleur vert terne « vert séchant », tandis que la base de l'arbre reste vert vif (Figure 40- stade 2). Dans un second temps, une couleur jaune-orangeâtre apparaît sur le haut du houppier. Cette couleur vire rapidement au roux vif, rouge (Figure 40 – stade 3). Ce processus peut prendre entre une et deux semaines. Des observations terrain suggèrent qu'un arbre rouge atteint sur plus de la moitié du houppier rougit intégralement (stade final, stade 4) dans le(s) mois suivant (s). Les aiguilles rouges tombent à partir du mois de juin - juillet. Lorsque l'arbre est entièrement rouge, l'écorce est souvent marquée par des taches marrons rougeâtres (Figure 41A). Si le Douglas est peu atteint, il peut garder sa base vivante (collet, bas du tronc et les branches basses qui peuvent débourrer et rester vertes).



Stade 1: janvier - février **Stade 2:** fin février- mars **Stade 3:** à partir de mi-mars **Stade 4:** à partir de fin mars

Figure 24 : Chronologie des différents stades du rougissement hivernal.

Ainsi, le rougissement s'étend des verticilles supérieurs aux verticilles inférieurs (Figure 41B). Dans certains cas minoritaires, les verticilles inférieurs ou au milieu du houppier changent de couleur en premier. Le rougissement touche d'abord les rameaux les plus jeunes avant de s'étendre jusqu'à la base de la branche ou les aiguilles plus vieilles seront affectées, dans un second temps. Généralement, les aiguilles rougissent depuis l'apex jusqu'à la base de l'aiguille.



Figure 41: A : Rougissement de l'écorce. B : Trois rameaux du même Douglas. Le rameau rouge a été prélevé sur les verticilles supérieurs, le rameau rougissant au niveau des verticilles du milieu du houppier et le rameau vert vif au niveau des verticilles inférieurs.

B. Analyse des aiguilles prélevées sur le terrain

Les échantillons issus d'arbres verts (témoin), en cours de rougissement (stade 2 et 3), et intégralement rouge (stade 4) ont été prélevés le 22/03/2022, soit au jour 81 (jour julien), le 29/03/2022 (jour 87) et le 27/04/2022 (jour 117). Ainsi, les figures de cette partie représentent des prélèvements d'aiguilles d'arbres aléatoires sans suivi temporel particulier, c'est-à-dire qu'un arbre n'a été prélevé qu'une fois, que ce soit au jour 81, 87 ou 117. Il ne s'agit donc pas d'une dynamique de rougissement au sens propre mais plutôt de comprendre les différences entre les mesures réalisées sur les aiguilles aux stades préalablement identifiés, entre les premières observations de rougissement (jour 81) et un rougissement déjà bien installé (jour 117).

Nous avons principalement étudié l'organe « aiguille », parce que les aiguilles sont les organes porteurs des symptômes visibles du dépérissement du Douglas. En étant le lieu de l'assimilation de CO₂, de la production de photosynthétats et des pertes hydriques majeures de l'arbre, elles jouent un rôle crucial dans l'équilibre, entre les risques de privation de carbone et de défaillance hydraulique. Cependant, leur rôle dans la mortalité des arbres reste mal compris, en particulier dans des conditions naturelles.

a. Apparition de dommages cellulaires sur les aiguilles rougissantes

Pour des aiguilles vertes prélevées sur les témoins (Type 1, Figure 42A) et sur la base des arbres de stade 2-3 (Type 2, Figure 42A), les dommages cellulaires sont faibles (Type 1 : 0.12 ± 0.01 ; Type 2 : 0.18 ± 0.04 ; $P = ns$) alors que les dommages sont trois fois plus importants, à partir du jour 87, pour les aiguilles de couleur « vert séchant » et « rouge », respectivement (0.61 ± 0.07 ; 0.72 ± 0.04 ; $P < 0.01$).

La valeur de fluorescence des aiguilles vertes témoin et de la base vivante des arbres de stade 2-3, est supérieure ou égale à 0.8 (Figure 42B). Une diminution de l'efficacité photochimique est observée depuis le jour 81 au jour 117, pour les aiguilles « verte séchant » et « rouge » (0.55 ± 0.08 ; 0.24 ± 0.06 , respectivement). La couleur rouge se distingue de la couleur « vert séchant » par des valeurs de fluorescence inférieures à 0.4.

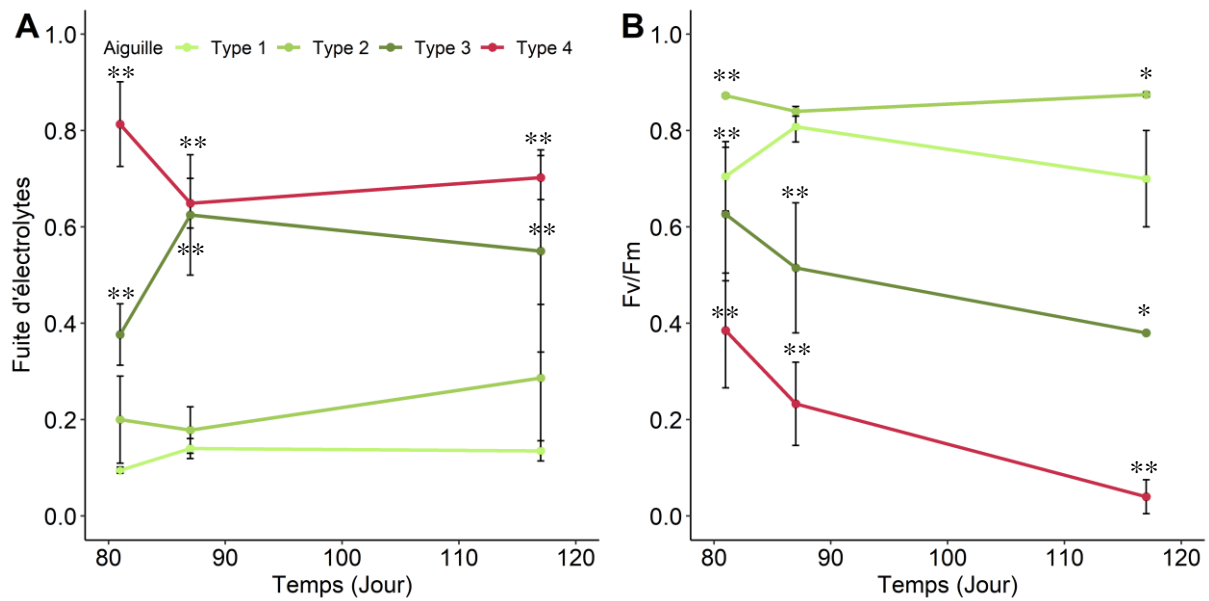


Figure 25: Fuite d'électrolyte (A) et efficacité photochimique (B : Fv/Fm) des aiguilles en fonction de la coloration de l'aiguille. Le type 1 correspond aux aiguilles vertes prélevées au niveau de l'apex-base des arbres témoins *i.e.* sains. Le type 2 correspond aux aiguilles vertes prélevées au niveau de la base des arbres du stade 2 (Apex vert séchant- Base vert vif) et du stade 3 (Apex rouge- Base vert vif). Le type 3 correspond aux aiguilles de couleur vert séchant de l'apex du stade 2. Le type 4 correspond aux aiguilles de couleur rouge, prélevées sur l'apex rouge du stade 3 et au niveau de l'apex - base des arbres du stade 4. Moyenne \pm erreur standard. Les astérisques '*' et '**' indiquent respectivement une différence significative ($P < 0.05$) ou très significative ($P < 0.01$) entre type d'aiguille pour un jour donné.

La fuite d'électrolyte renseigne sur la perte d'intégrité de la membrane cellulaire (Bajji et al. 2002) et permet d'évaluer les dommages cellulaires chez les plantes en situation de stress hydrique. La fluorescence chlorophyllienne (Fv/Fm) traduit l'efficacité du photosystème II (PSII) à utiliser la lumière pour la conversion photochimique (Herbette et al. 2005; Guadagno et al. 2017). Ainsi, une coloration d'aiguille verte est associée à des valeurs d'EL < 0.20 et Fv/Fm ≥ 0.8 . De telles valeurs de fluorescence chlorophyllienne sont caractéristiques d'une plante en bonne santé, non stressée, capable de faire de la photosynthèse. Au vu des valeurs mesurées dans les aiguilles rouges (Fv/Fm < 0.4), l'efficacité biochimique du PSII est fortement réduite voire nulle, conséquence de photo dommages irréversibles. Des valeurs similaires ont été notées pour des sécheresses sévères, *i.e.* Fv/Fm $< 0,4$ (Vilagrosa et al. 2003; Pritzkow et al. 2021). Des taux de fuite d'électrolytes aussi élevés que ceux présents dans les aiguilles rouges (≥ 0.7) montre que la décoloration de l'aiguille induit de nombreux dommages cellulaires conduisant à une forte mortalité cellulaire. Ainsi, une aiguille rouge a perdu toute fonctionnalité photosynthétique et cellulaire « normale ». Une aiguille avec une couleur « vert séchant » présente déjà des dommages cellulaires conséquents (> 0.6), suggérant qu'elle serait en cours de rougissement de façon irréversible.

Ce constat posé, nous pouvons nous questionner sur l'origine de ces dommages cellulaires dans l'aiguille. McDowell et al. (2011) soulignent que la mortalité cellulaire peut être induite par la défaillance hydraulique ou par la privation de carbone. L'hypothèse d'une défaillance hydraulique, surviendrait lors des épisodes de sécheresse courts et intenses, lorsqu'un seuil létal, le plus souvent dépendant de l'espèce, est dépassé, conduisant à un dessèchement total de l'arbre. L'hypothèse de la privation de carbone, surviendrait plutôt lors d'épisode de contrainte hydrique plus longue et de moindre intensité. La baisse d'activité photosynthétique, liée à la fermeture des stomates, deviendrait supérieure aux réserves totales de carbone de l'arbre, nécessitant la remobilisation des réserves en glucides non structuraux pour assurer la maintenance de son fonctionnement. Néanmoins, si cette situation perdure, les réserves finissent par devenir insuffisantes, entraînant à terme la mort de l'arbre.

b. Epuisement de l'amidon dans les aiguilles rougissantes

La concentration en sucres solubles totaux (SST) des aiguilles ne présente pas de différence significative quelque soit la coloration de l'aiguille : vert séchant, rouge, vert témoin ou vert de la base des arbres atteints (134.7 ± 7.1 , 126.5 ± 2.5 , 127.8 ± 4.9 mg.g⁻¹ MS, P = ns, respectivement). [SST] reste relativement constante au cours du temps (Figure 43A).

Dans les aiguilles vertes, la teneur en amidon représente 25.2% de la concentration totale en glucides non-structuraux (NSC) des aiguilles en mars-avril dans le Livradois-Forez. Ainsi, la concentration en amidon des aiguilles vertes, issues des arbres témoin ou prélevées à la base des arbres atteints, est plus élevée (52.4 ± 7.2 mg.g⁻¹ MS) que celle des aiguilles rouges et « vert séchant ». En effet, l'amidon n'est pas ou peu présent dans les aiguilles des arbres en cours de décoloration (0.2 ± 0.1 pour les aiguilles rouges, 1.0 ± 0.8 mg/g MS pour les aiguilles « vert séchant » ; Figure 43B).

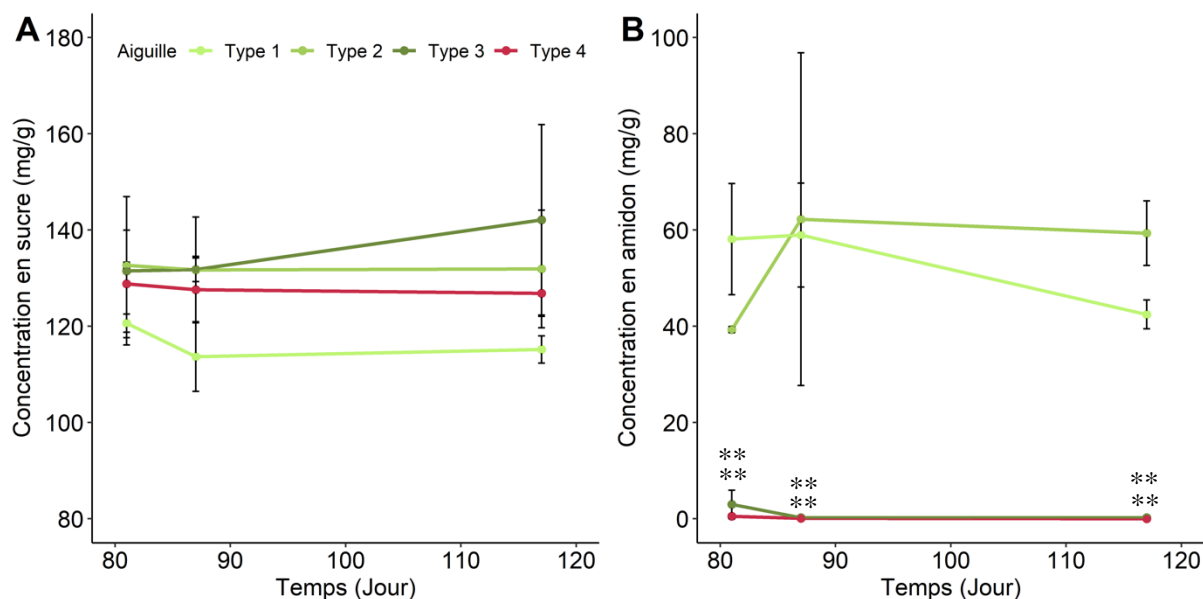


Figure 26: Evolution de la concentration en sucres solubles totale (A) et de l'amidon (B) dans les aiguilles en fonction de la coloration de l'aiguille. Le type 1 correspond aux aiguilles vertes prélevées au niveau de l'apex-base des arbres témoins *i.e.* sains. Le type 2 correspond aux aiguilles vertes prélevées au niveau de la base des arbres du stade 2 (Apex vert séchant- Base vert vif) et du stade 3 (Apex rouge- Base vert vif). Le type 3 correspond aux aiguilles de couleur vert séchant de l'apex du stade 2. Le type 4 correspond aux aiguilles de couleur rouge, prélevées sur l'apex rouge du stade 3 et au niveau de l'apex - base des arbres du stade 4. Moyenne \pm erreur standard. Les astérisques '*' et '**' indiquent respectivement une différence significative ($P < 0.05$) ou très significative ($P < 0.01$) du paramètre suivi entre type d'aiguille pour un jour donné.

Comme le rougissement a lieu en sortie d'hiver, nous devons souligner qu'une [SST] élevée augmente la résistance au froid par des mécanismes osmotiques et métaboliques (Martínez-Vilalta et al. 2016). L'effet osmotique se traduit par la diminution de la température de prise en glace cellulaire, en abaissant le point de congélation de la cellule. Ainsi, l'accumulation des SST est un mécanisme de cryoprotection qui permet d'éviter la dénaturation des protéines et l'effondrement des membranes induit par la déshydratation lors de la prise en glace (Levitt 1980; Charrier et al. 2018). Néanmoins, les SST ont aussi un rôle métabolique, car les solutés constituent une source de substrats pour les différentes voies métaboliques dans des conditions hivernales où la photosynthèse est réduite. Ainsi, malgré des [SST] similaires, les arbres rouges ont probablement moins de sucre disponible pour diverses activités physiologiques telles que la respiration, l'exportation vers les organes de destination, la réparation des dommages, la croissance, la défense et le renforcement du xylème des aiguilles (Salmon et al. 2015). Par conséquent, pour maintenir l'intégrité des cellules des aiguilles (la turgescence), les arbres rouges doivent allouer une plus grande partie de leurs [SST] à des fins d'osmorégulation ; situation qui les expose à un risque accru de carence en carbone.

Des valeurs de concentration en amidon (%) similaire à celle de notre étude ont été mesurées en début de désacclimatation au froid, *i.e.* 29.7% des NSC (Tinus et al. 2000). L'amidon, étant osmotiquement inactif, ne participe pas à l'augmentation de la résistance au froid mais constitue le

principal composé de réserve carboné (Thalmann et Santelia 2017; Chuste, 2018). En journée, une partie des photosynthétats nouvellement produits peut être stockée sous forme d'amidon. L'absence d'amidon implique l'utilisation totale des ressources carbonées de l'aiguille, en absence de production de photosynthétats. Ce qui peut être la cause d'un taux élevé de dommages cellulaires et photosynthétiques sur une aiguille rouge ou vert séchant comme nous l'avons vu précédemment (*cf.*, II.A.a). Des niveaux létaux d'appauvrissement en amidon ont été mesurés pour des valeurs comprises entre 81% (Cruz et al. 2003) et entre 87-93% (Canadell et López-Soria 1998) du taux d'amidon présent dans les arbres témoins, dans des situations des sécheresses édaphiques sévères. Dans notre étude, les aiguilles rouges et « vert séchant » présentent respectivement 99.6% et 98.1% d'appauvrissement en amidon par rapport aux aiguilles vertes prélevées sur les arbres témoins. Ainsi, les taux d'appauvrissement en amidon sont clairement létaux pour les arbres des stades 2, 3 et 4 au niveau des aiguilles et des branches, présentant une couleur « vert séchant" ou rouge. Cependant, il est difficile d'affirmer que l'appauvrissement en amidon induit la mortalité même si le manque de glucides est un processus contribuant à la mortalité, comme postulé par McDowell et al. (2011). L'étude du déficit hydrique des aiguilles devrait nous permettre de savoir si le seuil de cavitation irréversible est atteint avant ou après les taux létaux d'amidon.

c. Le rougissement est associé à une déshydratation de l'aiguille et à une forte embolisation des rameaux

L'humidité pondérale des aiguilles vertes, prélevées sur un arbre témoin (Type 1 ; Figure 44A), est de $121.1 \pm 4.3\%$, tandis que celle des aiguilles rouges (Type 4 ; Figure 44A) est plus de trois fois plus faible ($29.5 \pm 5.3\%$). L'humidité pondérale – HP - des aiguilles « vert séchant » (Type 3 ; Figure 44A) présente un fort taux de déshydratation ($44 \pm 8.2 \%$), néanmoins légèrement moins élevé que celui des aiguilles rouges. La base des arbres au stade 2 et 3 (aiguille de couleur verte) présente une HP similaire aux aiguilles vertes des arbres témoins ($103.3 \pm 8.6\%$).

Les rameaux des arbres témoins présentent des mesures de pourcentage de perte de conductivité – PLC – et de potentiel hydrique – Ψ – stables, entre le jour 81 et le jour 117 : $\Psi = -1.5 \pm 0.2$ MPa ; PLC = $23.7 \pm 5.0 \%$ (Figure 44B-C), à des valeurs indiquant l'absence de stress hydrique. Il n'y a pas de différence significative avec les aiguilles vertes prélevées sur la base vivante des arbres au stade 2 et 3 *i.e.* : $\Psi = -1.9 \pm 0.1$ MPa ; PLC = $33.6 \pm 5.1 \%$. Les rameaux portant les aiguilles rouges et « vert séchant » ont des potentiels hydriques similaires mais nettement inférieurs à celui des témoins, soit de $\Psi_R = -7.9 \pm 1.2$ et $\Psi_{vs} = -7.2 \pm 0.4$ MPa, respectivement. Ainsi, les valeurs de PLC des rameaux portant des aiguilles « vert séchant » et ceux aux aiguilles rouges sont très significativement supérieures à celles des rameaux témoins (PLC= 66.5 ± 4.7 , PLC= $83.3 \pm 2.2 \%$, respectivement ; $P < 0.01$).

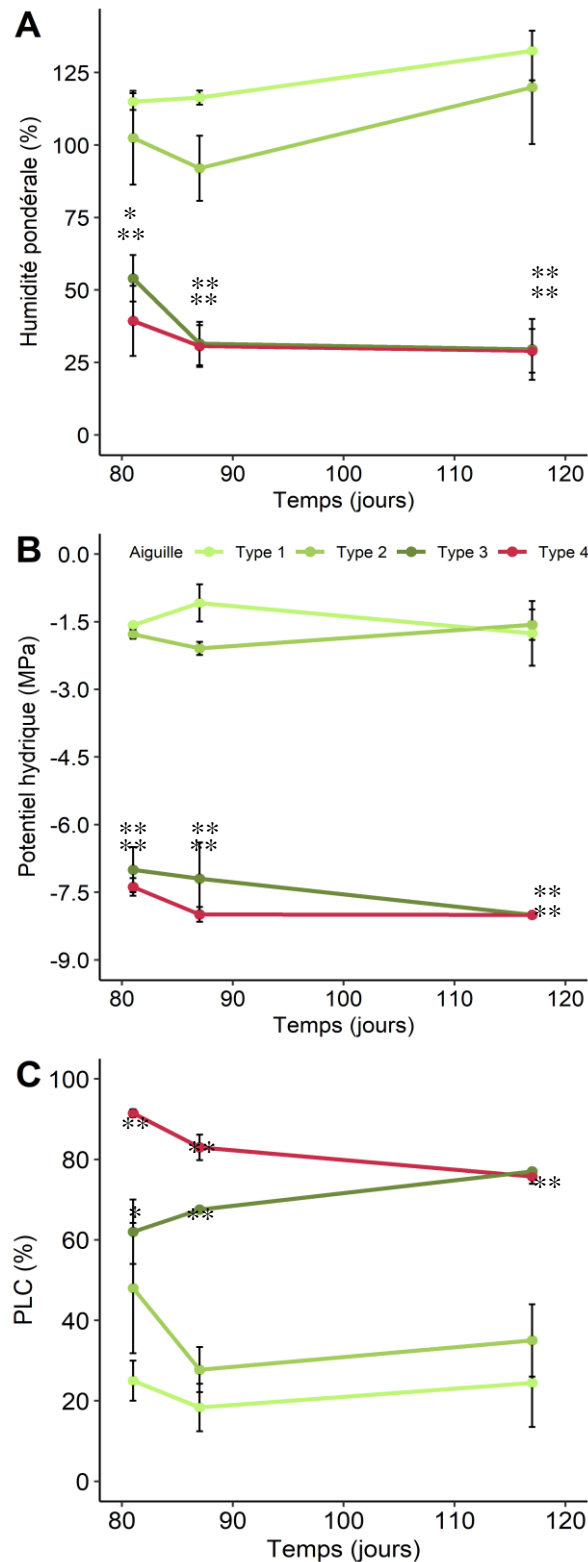


Figure 27: A: Humidité pondérale (%), B: Potentiel hydrique (MPa), C: Pourcentage de perte de conductivité hydraulique ou embolie (PLC). Le type 1 correspond aux aiguilles vertes prélevées au niveau de l'apex-base des arbres témoins *i.e.* sains. Le type 2 correspond aux aiguilles vertes prélevées au niveau de la base des arbres du stade 2 (Apex vert séchant- Base vert vif) et du stade 3 (Apex rouge- Base vert vif). Le type 3 correspond aux aiguilles de couleur vert séchant de l'apex du stade 2. Le type 4 correspond aux aiguilles de couleur rouge, prélevées sur l'apex rouge du stade 3 et au niveau de l'apex - base des arbres du stade 4. Moyenne \pm Erreur standard. Les astérisques '*' et '**' indiquent respectivement une différence significative ($P < 0.05$) ou très significative ($P < 0.01$) du paramètre suivi entre type d'aiguille pour un jour donné.

La vulnérabilité du Douglas à la cavitation est caractérisée par les courbes de vulnérabilité (PLC en fonction du Ψ). De nombreuses courbes de vulnérabilité du xylème à l'embolie ont été établies pour le Douglas dans des conditions de sécheresse édaphique (Sperry et Ikeda 1997; Domec et Gartner 2001; Domec et al. 2004). Pour des valeurs supérieures à $\Psi < -2.0$ MPa, aucune perte de conductivité hydraulique n'a été notée, confirmant l'absence de stress hydrique pour les aiguilles vertes (aiguille type 1, soit les témoins). Le P50 constitue une valeur critique, *i.e.* létale chez les conifères, à partir de laquelle la tension dans la sève devient trop élevée, propageant fortement l'embolie dans le xylème. Pour rappel, le P50 a été mesuré entre $-3 < \Psi_{crit} < -3.5$ MPa, (Cochard 1992; Kavanagh et al. 1999; Domec et Gartner 2001). Les courbes de vulnérabilité, obtenues dans le chapitre 2 de la partie 3, montrent des pertes de conductivité hydraulique supérieures à 80% pour $\Psi < -7.5$ MPa (valeurs corroborant les études précédemment citées). Ainsi, l'écoulement de l'eau dans les trachéides du xylème est fortement réduit (Tyree et Sperry 1989). Ainsi, l'embolie quasi-totale du xylème des rameaux portant les aiguilles « vert séchant » et rouge empêchent l'alimentation des parties distales de l'arbre amenant à la décoloration de l'aiguille.

En hiver, la viabilité des aiguilles de divers conifères décline pour des valeurs d'HP comprises entre 60 à 90% (Tranquillini 1979; Hadley et Smith, 1983) tandis que la valeur seuil de 85% semble liée au brunissement de l'aiguille de l'épinette d'Engelmann (Herrick et Friedland 1991). Le rougissement des aiguilles du Douglas apparaît pour des valeurs plus faibles (< 40%) que les 85%, noté par Herrick et Friedland 1991.

Les valeurs de PLC et d'HP sont toutes deux létales pour les branches aux aiguilles « vert séchant » et rouge ($PLC_{VS} > 50\%$; $PLC_R > 50\%$), soulignant la possibilité d'une défaillance hydraulique létale comme originaire du rougissement. Le concept même de « défaillance hydraulique » suggère qu'en cas de sécheresse édaphique sévère, le transport de l'eau serait la cause directe de la mortalité. En effet, il ne parviendrait pas à satisfaire une demande climatique élevée (Körner 2019). Néanmoins, cette définition soulève une question cruciale sur la dynamique du stress hydrique au sein d'un Douglas en cours de rougissement. Est-ce que la défaillance hydraulique des vaisseaux conducteurs de xylème des branches est suffisante pour entraîner à elle seule la mortalité de jeunes Douglas ? En effet, serait-il possible que la défaillance hydraulique ne subvienne qu'au moment où le symplaste dépasse sa tolérance à la déshydratation dans les aiguilles ? L'embolie critique du xylème pourrait-elle être la conséquence plutôt que la cause de la déshydratation critique de l'arbre en cas de rougissement du Douglas ? La mortalité des aiguilles ne pourrait-elle pas subvenir une fois que les membranes cellulaires et le squelette cellulaire s'effondrent lorsque l'eau devient insuffisante ? (Mantova et al. 2021)

d. Propagation basipète de l'embolie lors du rougissement hivernal

Les mesures précédentes suggèrent une déconnexion hydraulique entre l'apex et la base du jeune Douglas. Ainsi, nous avons prélevé des arbres entiers témoins (n=2), des arbres au stade 3 *i.e.* apex rouge et base verte (n=3) et des arbres rouges (n=3) afin de visualiser la répartition du PLC au sein des Douglas lors du rougissement. Des arbres au stade 2 n'ont pas été prélevés.

Un arbre sain présente un PLC inférieur à 30% avec une répartition homogène dans l'arbre (Stade 1 ; Figure 45). Les racines ont le plus faible PLC ($PLC = 2.5 \pm 0.5 \%$) alors que le plus élevé se situe dans les parties distales *i.e.* les rameaux de l'apex avec un PLC de $25 \pm 5\%$.

Un arbre bicolore, *i.e.* rouge au niveau de l'apex et vert à la base (Stade 3 ; Figure 45), présente une nette hétérogénéité au niveau de la répartition du PLC. Si les parties supérieures de houppier (aiguilles rouges) ont des taux de PLC très élevés ($> 70\%$), celui des verticilles inférieurs avoisine celui des témoins : $PLC_{\text{RAMEAU_BAS}} = 33 \pm 4 \%$ et $PLC_{\text{COLLET}} = 33 \pm 1 \%$. Les racines ont un PLC nul.

Un arbre entièrement rouge (Stade 4) présente un PLC $> 80\%$ sur la partie supérieure du houppier tandis que le PLC est inférieur à 50% pour la partie inférieure du houppier *i.e.* collet et rameaux inférieurs. Ainsi, l'embolie comme la couleur rouge se propage de l'apex vers le bas du houppier, des parties les plus distales vers la base de l'arbre. Les racines sont les derniers organes à s'emboliser avec un PLC racinaire estimé à $16.5 \pm 0.5 \%$.

En hiver, des valeurs de PLC largement supérieures ont été mesurées sur le houppier des conifères ($\geq 50 \%$), permettant d'affirmer que les valeurs de PLC des arbres sains sont non létales. Elles peuvent être la conséquence d'un nombre de cycles gel-dégel élevé (Mayr et al. 2007) ou bien d'une sécheresse hivernale (sol froid/gelé rendant toute absorption racinaire impossible) (Mayr et al. 2002; Mayr et al. 2020).

Un Douglas, au stade 3 ou 4, présente des taux d'embolie très élevés ($> 80\%$) du milieu du tronc aux extrémités, tandis qu'un Douglas au stade 3 présente en partie basale un PLC $< 35\%$ similaire à celui d'un Douglas témoin (Stade 1) *i.e.* au niveau des racines, du collet, du tronc inférieur et du rameau inférieur. Le changement net de PLC s'opère au niveau du tiers supérieur du tronc, à l'endroit où le changement de couleur de l'aiguille est repérable – passage de la couleur verte à la couleur rouge (Figure 6). Ceci nous suggère des déconnexions hydrauliques dans ce tiers supérieur du houppier. Les racines sont hydrauliquement fonctionnelles et la défaillance hydraulique a lieu dans le houppier, en isolant hydrauliquement la partie supérieure dont le dessèchement basipète a pu être caractérisé.

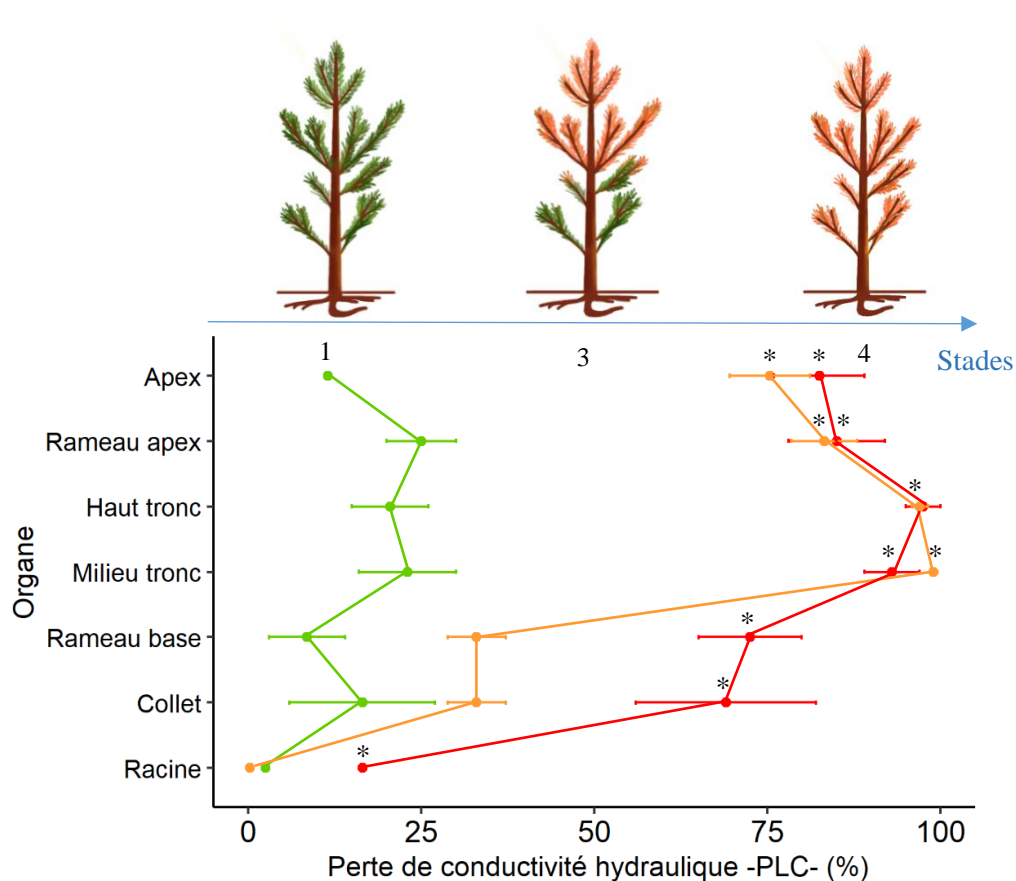


Figure 28: Répartition de la perte de conductivité hydraulique au sein de Douglas témoin au stade 1 (n=2), de Douglas en cours de rougissement au stade 3 (n=3), et au sein de Douglas entièrement rouge au stade 4 (n=3). Moyenne \pm es. Les astérisques '*' et '**' indiquent respectivement une différence significative ($P < 0.05$) ou très significative ($P < 0.01$) du PLC moyen d'un organe par rapport au même organe au stade 1.

Pour conclure, les arbres en cours de rougissement, c'est-à-dire au stade 3 et 4, présentent une forte déshydratation de l'apex (PLC > 55%, HP < 30%), tandis que la base de l'arbre semble rester hydrauliquement fonctionnelle (PLC < 50%, HP > 100%).

C. Rougissement hivernal vs. Rougissement estival

Il nous a semblé intéressant de pouvoir établir une courbe de vulnérabilité du Douglas en cas de rougissement hivernal. Comparer deux courbes de vulnérabilité (Rougissement hivernal vs Rougissement estival) pourrait permettre de mieux comprendre la dynamique de stress. Cependant, comme les prélèvements terrain ont été réalisés à un moment « t » sur différents arbres échantillonnés sans suivi temporel des mêmes arbres, la courbe de vulnérabilité du rougissement hivernal n'est pas comparable *sensu stricto* à celle du rougissement estival. Néanmoins, en rassemblant les mesures de : 1) PLC - Ψ de Douglas sains, 2) PLC - Ψ de Douglas soumis à une sécheresse édaphique et 3) les

différentes mesures (PLC - Ψ) issues du rougissement hivernal selon le type d'aiguille, nous avons pu avoir des indications sur le processus hydraulique du rougissement hivernal, indispensables pour le comparer au rougissement estival.

Pour effectuer cette comparaison, l'expérience de sécheresse estivale sur 12 Douglas (*cf*: Chapitre 3 : expérience de sécheresse) a été mise en place, parallèlement à la campagne de mesure terrain, menée de mars à mai 2022. Nous en avons extrait une courbe de vulnérabilité pour des rameaux de jeunes Douglas avec une $P50 = -3.85 \pm 0.16$ MPa, soit légèrement supérieure à celles de la littérature (Partie III – Chapitre 2). Cette courbe a été obtenue en mesurant les potentiels hydriques à la chambre à pression tandis que la perte de conductivité hydraulique a été mesurée au tomographe à rayons X, méthode similaire à celle utilisée pour les mesures de rougissement hivernal.

Nous avons pu comparer les deux contraintes hydrauliques *i.e.* hivernale et estivale, avec la vulnérabilité à l'embolie, les dommages cellulaires ainsi que l'humidité pondérale avec le potentiel hydrique.

- a. Est-ce qu'un arbre rougissant présente une plus grande vulnérabilité à la cavitation ?

Les rameaux portant les aiguilles issues des Douglas verts témoin (Type 1 ; Figure 46) se situent au niveau de l'intervalle de confiance de la courbe de vulnérabilité du Douglas, c'est-à-dire à des valeurs de PLC < 20 % pour des Ψ compris entre -2 MPa et 0 MPa. Les rameaux portant les aiguilles rouges (Type 4) se situent majoritairement au niveau de l'intervalle de confiance de la courbe de vulnérabilité du Douglas pour des valeurs de PLC > 70% pour des $\Psi > 7$ MPa. Les rameaux portant les aiguilles « vert séchant » (Type 3) sont en dehors de l'intervalle de confiance de la PLC et, à potentiel hydrique de -7 ± 0.5 MPa, présentent des valeurs de PLC inférieures (67.2 ± 3.7 %) à celles obtenues en cas de sécheresse estivale (PLC > 80 %). Les rameaux aux aiguilles vertes (Type 3), prélevés à la base des stades 2 et 3 – *i.e.* Douglas en cours de rougissement – sont présents dans l'intervalle de confiance de la courbe de vulnérabilité. Ainsi, comme il manque de nombreux points concernant le rougissement hivernal dans la zone de cavitation du Douglas, entre - 2.3 et - 4 MPa, il reste délicat de conclure avec certitude sur ces résultats. En effet, la détermination visuelle des symptômes foliaires est moins précise et quantifiable que des mesures directes de PLC. Néanmoins, entre les aiguilles de type 2 et 3, la zone de cavitation est franchie et les valeurs se disposent parfaitement sur la courbe de vulnérabilité déterminée de manière classique sur les jeunes Douglas sains. De plus, les rameaux de la base d'un arbre en cours de rougissement ne semblent pas présenter un taux de PLC plus élevé qu'un arbre « sain », soulignant le fait qu'un arbre rougissant n'est pas un arbre présentant un taux initial de PLC plus important qu'un arbre témoin. La résistance à la cavitation d'un arbre rouge semble donc être identique à celle d'un arbre vert, sain.

Pour les mesures des potentiels hydriques d'un arbre en cours de rougissement (Type 3 ; figure 46), on observe des valeurs qui se situent en-dessous de la courbe de vulnérabilité d'un arbre sain. Cela laisse à penser qu'à défaut d'une vulnérabilité accrue à la cavitation des arbre rougissants, vulnérabilité généralement acquise lors de la formation des vaisseaux (*i.e.* formation de la taille des pores des ponctuations entre deux vaisseaux, fortement dépendante des conditions environnementales lors de la croissance cambiale), la vitesse de déshydratation d'un arbre rouge pourrait être plus importante. Cette vitesse de déshydratation plus élevée pourrait provenir de divers dysfonctionnements internes (stomatiques, pertes cuticulaires excessives, lyse cellulaire *etc.*).

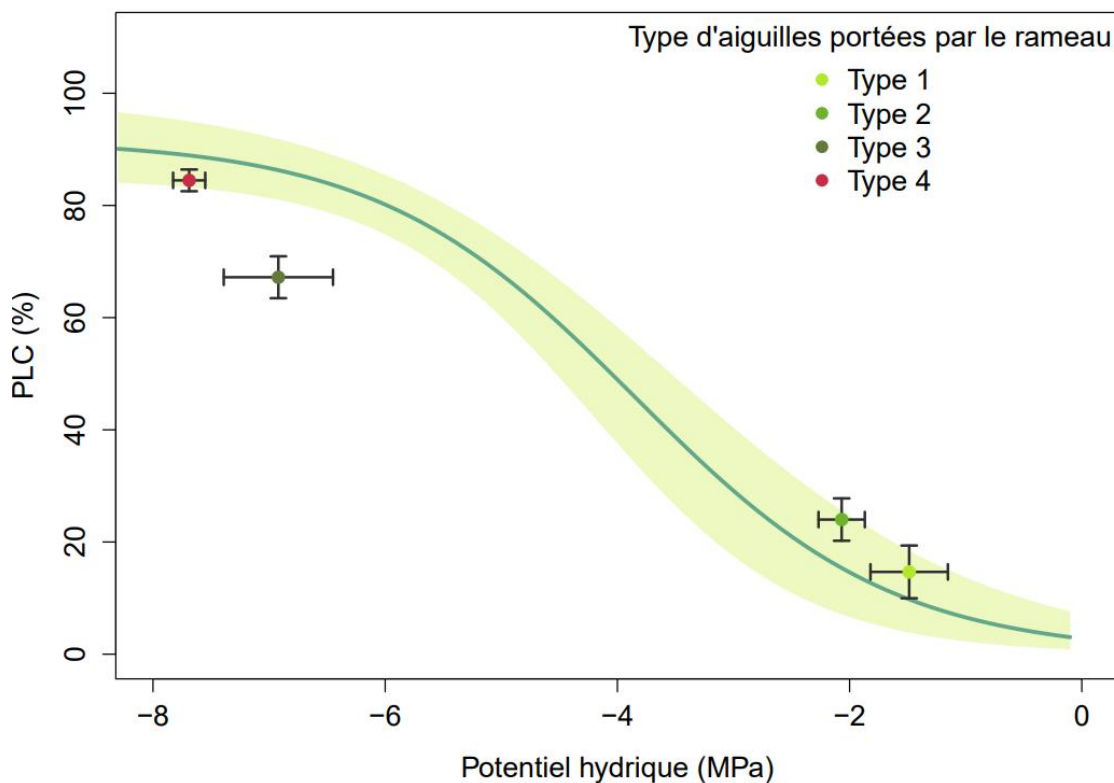


Figure 29: Courbe de vulnérabilité de jeunes Douglas avec l'intervalle de confiance à 95% issue de l'expérience de sécheresse estivale, superposée avec les points issus des données du rougissement hivernal. Moyenne \pm erreur standard. Les 4 types de rameaux correspondent au type d'aiguille qu'ils portent. Le type 1 correspond aux aiguilles vertes prélevées au niveau de l'apex-base des arbres témoins *i.e.* sains. Le type 2 correspond aux aiguilles vertes prélevées au niveau de la base des arbres du stade 2 (Apex vert séchant- Base vert vif) et du stade 3 (Apex rouge- Base vert vif). Le type 3 correspond aux aiguilles de couleur vert séchant de l'apex du stade 2. Le type 4 correspond aux aiguilles de couleur rouge, prélevées sur l'apex rouge du stade 3 et au niveau de l'apex - base des arbres du stade 4.

- b. Est qu'un rougissement hivernal induit plus de dommages cellulaires qu'une sécheresse édaphique estivale ?

De même, nous avons cherché à comparer les valeurs de fuite d'électrolytes (EL) des quatre types d'aiguilles du rougissement hivernal avec une dynamique d'EL issue d'exposition de Douglas sains exposés à une sécheresse édaphique.

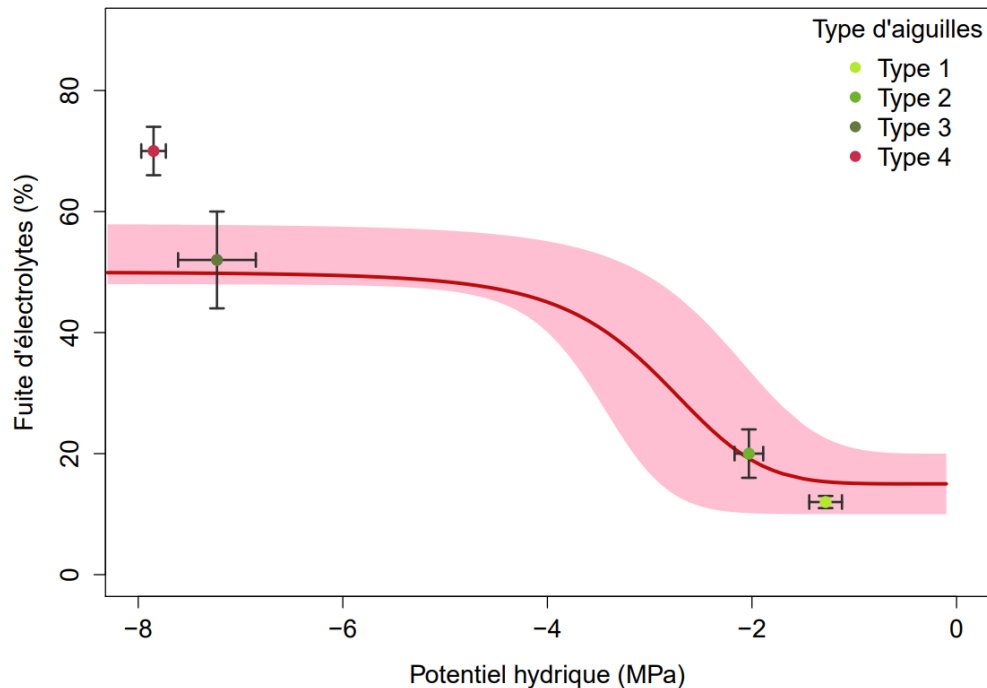


Figure 30: Courbe de vulnérabilité (fuite d'électrolyte en fonction du potentiel hydrique) de jeunes Douglas avec l'intervalle de confiance à 95% issue de l'expérience de sécheresse estivale, superposée avec les points issus des données du rougissement. Moyenne \pm erreur standard. Le type 1 correspond aux aiguilles vertes prélevées au niveau de l'apex-base des arbres témoins *i.e.* sains. Le type 2 correspond aux aiguilles vertes prélevées au niveau de la base des arbres du stade 2 (Apex vert séchant- Base vert vif) et du stade 3 (Apex rouge- Base vert vif). Le type 3 correspond aux aiguilles de couleur vert séchant de l'apex du stade 2. Le type 4 correspond aux aiguilles de couleur rouge, prélevées sur l'apex rouge du stade 3 et au niveau de l'apex - base des arbres du stade 4.

Les aiguilles vertes issues des Douglas témoins (Type 1) mais aussi des Douglas en cours de rougissement (Type 2 ; Figure 47) se situent dans l'intervalle de confiance de la courbe de vulnérabilité du Douglas, c'est-à-dire à des valeurs d'EL inférieures à 30% pour des Ψ compris entre -2 MPa et 0 MPa. Les aiguilles « vert séchant » (Type 3) se trouvent principalement dans l'intervalle de confiance de la courbe de vulnérabilité du Douglas pour des valeurs de dommages cellulaires situées autour de 52 ± 8 %. En revanche, les aiguilles rouges ont un taux de dommages cellulaires largement au-dessus de la courbe de vulnérabilité (70 ± 4 %). Ce taux est trop élevé pour uniquement être induit par un stress hydrique, soulignant l'implication d'autre(s) facteur(s) dans la dégradation des structures cellulaires. Une réduction de 50% de l'efficacité photochimique entre une aiguille rouge et une aiguille « vert séchant » endommager fortement la chaîne photosynthétique (dégradation de la chlorophylle...), participant ainsi à l'augmentation du taux de dommages cellulaires.

Lorsque l'aiguille reste verte, même si elle évolue du vert vif au vert séchant, elle suit parfaitement une dynamique de dommage cellulaire « classique », induite par un stress hydrique croissant. Ainsi, l'intégrité membranaire semble être extrêmement liée au stress hydrique et par conséquent à la perte de fonctionnement hydraulique du tronc et/ ou au HP de l'aiguille. Reste la question de savoir si la déshydratation extrême entraîne une défaillance membranaire par des processus physiques (la cavitation cellulaire, Sakes et al. 2016), l'effondrement et la cytorrhèse (Taiz et al. 2015) ou uniquement biochimiques (Suzuki et al. 2012; Petrov et al. 2015).

- c. Est qu'un rougissement hivernal induit une déshydratation accrue du Douglas (*via l'HP*) par rapport à un rougissement estival ?

Comme pour la section précédente, nous avons cherché à comparer les valeurs d'HP des divers types d'aiguilles présents sur des arbres témoins, en cours de rougissement et entièrement rouges avec une dynamique dite standard de déshydratation pour des Douglas sains.

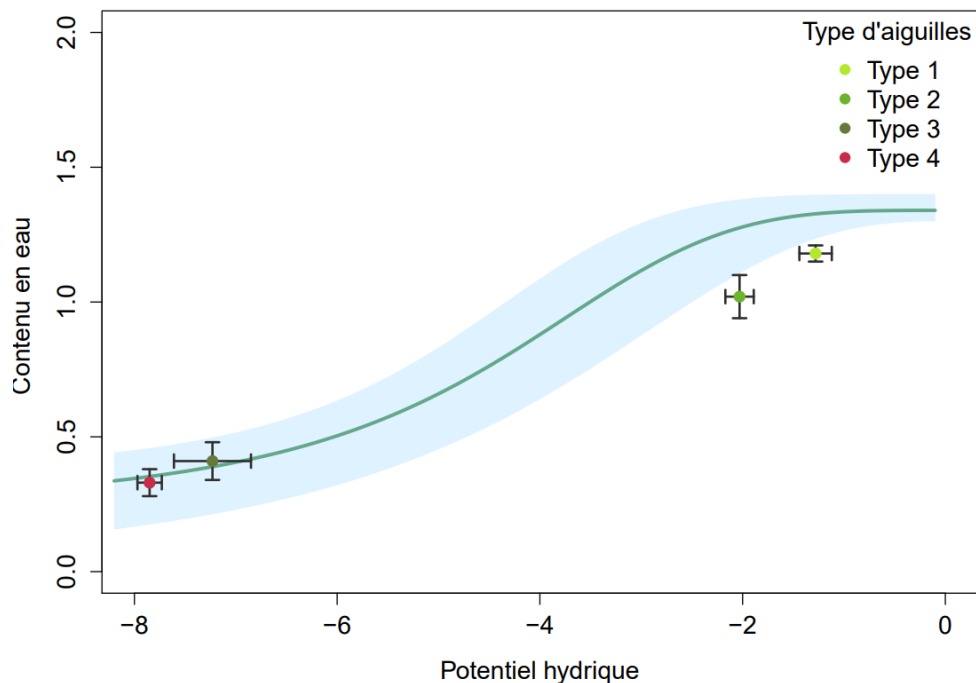


Figure 31: Fit sigmoïde de l'humidité pondérale en fonction du potentiel hydrique de jeunes Douglas avec l'intervalle de confiance à 95% issue de l'expérience de sécheresse estivale, superposé avec les points issus des données du rougissement. Moyenne \pm erreur standard. Le type 1 correspond aux aiguilles vertes prélevées au niveau de l'apex-base des arbres témoins i.e. sains. Le type 2 correspond aux aiguilles vertes prélevées au niveau de la base des arbres du stade 2 (Apex vert séchant- Base vert vif) et du stade 3 (Apex rouge- Base vert vif). Le type 3 correspond aux aiguilles de couleur vert séchant de l'apex du stade 2. Le type 4 correspond aux aiguilles de couleur rouge, prélevées sur l'apex rouge du stade 3 et au niveau de l'apex - base des arbres du stade 4.

Les aiguilles vertes issues des Douglas témoins (Type 1) mais aussi des Douglas en cours de rougissement (Type 2 ; Figure 48) se situent en dessous de l'intervalle de confiance de la courbe de vulnérabilité du Douglas, pour $\Psi > -2$ MPa. Les aiguilles « vert séchant » et rouges (Type 3 et 4) se

situent dans l'intervalle de confiance de la courbe de vulnérabilité du Douglas pour des potentiels hydriques inférieurs à -7 MPa, soit pour des valeurs d'HP inférieures à 0.5.

En conséquent, en fin d'hiver 2022, les HP des aiguilles vertes étaient inférieures à celles notées en l'absence de contrainte hydrique. Ainsi, ces mesures semblent suggérer que les Douglas du Livradois-Forez ont connu une forte contrainte hydrique en hiver 2022 puisque même des aiguilles vertes ont une HP légèrement inférieure à celle d'une aiguille verte bien hydratée (étant en dessous de l'intervalle de confiance).

g. Propagation de l'embolie lors d'un rougissement estival

La comparaison avec l'expérimentation de sécheresse estivale de la partie précédente (*cf.* : Partie III - Chapitre III : §IIB) montre que la répartition du pourcentage d'embolie diffère, au sein de l'arbre, entre les deux rougissements. Si le rougissement hivernal affecte, dans un premier temps, les aiguilles les plus jeunes et les branches supérieures du houppier, la sécheresse édaphique touche les plus vieilles aiguilles présentes uniformément sur tout le houppier.

Des Douglas dont le potentiel hydrique foliaire de midi a été mesuré à -1.5 MPa, valeur associée à la fermeture stomatique, présentent un PLC inférieur à 10% quel que soit l'organe considéré (Figure 46). Pour des valeurs de potentiel hydrique mesurées à -3 MPa, valeur proche de la P50, le PLC reste inférieur à 45% du bas au haut du tronc. Pour des valeurs de potentiel hydrique foliaire de -5.5 MPa, l'intégralité du tronc présente un PLC supérieur à 78%, significativement supérieur aux rameaux du houppier. Les racines, quant à elles, ont un PLC significativement plus faible à n'importe quels organes du houppier ($32.4 \pm 8.6 \%$). Pour $\Psi = -8$ MPa, les valeurs de PLC sont identiques dans les rameaux et le tronc *i.e.* supérieure à 80% alors que celles des racines restent moins élevées ($62.4 \pm 6.4 \%$; $P = 0.0097$).

Il est intéressant de noter le « retard » d'embolie des racines par rapport aux autres parties de l'arbre, ce qui suggérerait une résistance à la cavitation plus élevée des racines (Figure 49). Cette observation, suggérant une segmentation de la vulnérabilité hydraulique, est très controversée (*cf.* : Partie III – Chapitre 2 : §IIB ; Johnson et al. 2016; Bouche et al. 2016).

Que ce soit pour un rougissement hivernal ou estival, la déshydratation commence en partie aérienne. Pour un rougissement hivernal, la déshydratation s'observe de proche en proche, depuis les apex des branches soit des aiguilles les plus jeunes vers les plus âgées. Ce qui s'oppose avec la sécheresse édaphique pour laquelle les premières aiguilles **à rougir et tomber** sont les plus âgées soit celles présentes à la base de la branche (Figure 49). S'il est possible d'observer des micro-différences de localisation dans l'initiation de l'embolie, la tendance générale est la même ; l'arbre se déshydrate en partie aérienne, avec une vulnérabilité à la cavitation accrue au niveau du houppier.

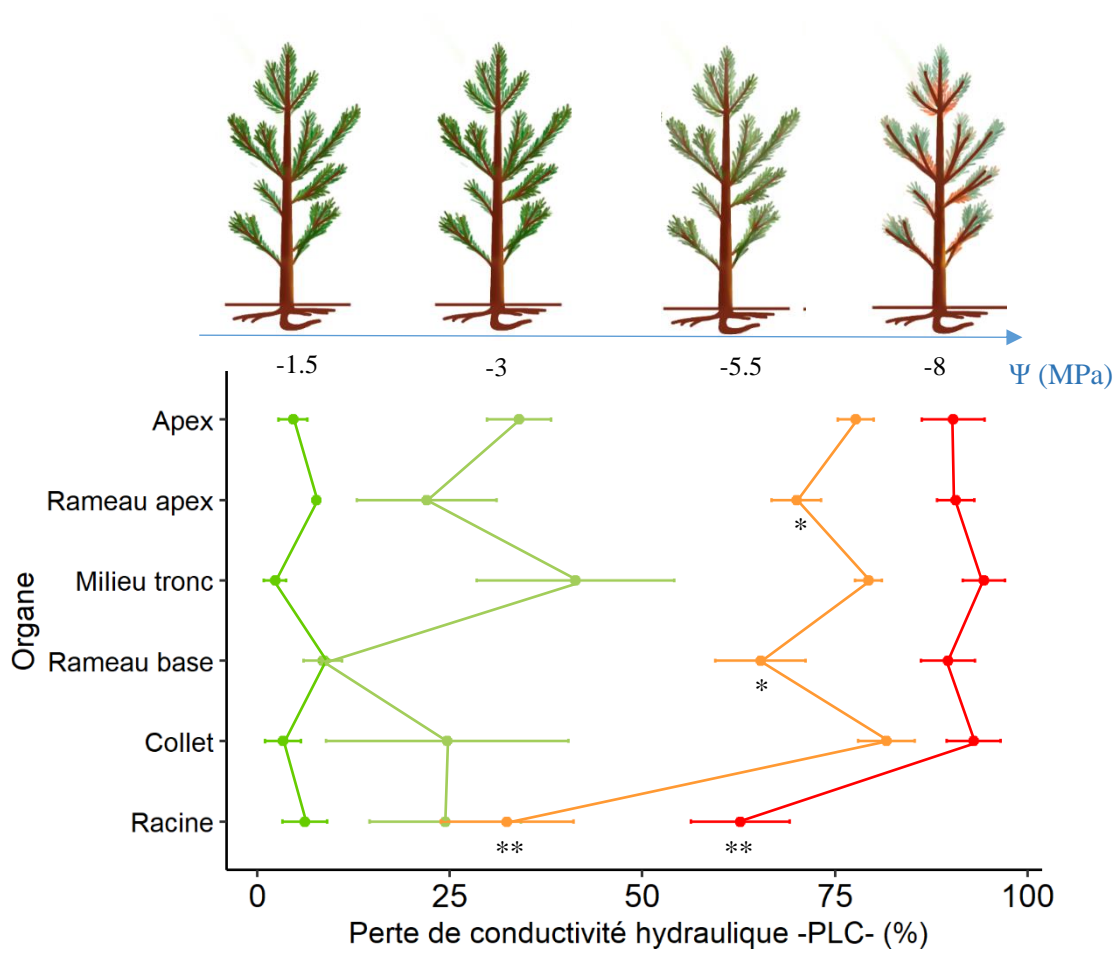


Figure 49 : Répartition de la perte de conductivité hydraulique au sein de Douglas sain à divers stades de potentiel hydrique foliaire minimum : -1.5, -3, -5.5, -8 MPa (n=12). Moyenne \pm es. Les astérisques '*' et '**' indiquent respectivement une différence significative ($P < 0.05$) ou très significative ($P < 0.01$) du PLC moyen d'un organe par rapport à l'apex pour un potentiel hydrique donné.

h. Synthèse des résultats

Il a été suggéré que les espèces comme le Douglas, ayant une réponse plutôt « isohydrique » à la sécheresse (Partie III – Chapitre 2 : §IIA), avec une forte régulation stomatique pour limiter les pertes en eau, pourraient être davantage exposées au risque de carence en carbone, par rapport aux plantes anisohydriques, souvent exposées à des risques de défaillance hydraulique lors de sécheresse extrême (Allen et al. 2010; Nardini et al. 2014; Allen et al. 2010).

Une aiguille rouge, comme montré dans cette étude, est une aiguille dysfonctionnelle. Elle se caractérise par une stabilisation de la concentration en SST, résultant à la fois de l'arrêt de production des photoassimilats et d'une dégradation des réserves d'amidon (cohérente avec l'épuisement de l'amidon observé). De plus, comme la concentration en SST a atteint un niveau maximal et ne peut pas augmenter davantage, les capacités des cellules à réaliser l'osmorégulation afin de limiter la déshydratation cellulaire sont fortement restreintes. Cela est particulièrement vrai pour le rougissement hivernal, où l'efficacité photochimique est grandement réduite (< 0.4), ce qui démontre clairement que la chaîne photosynthétique est affectée, traduisant des dommages irréversibles cellulaires. L'aiguille rouge est passée de la fonctionnalité d'un organe source à un organe puit incapable de produire de la chlorophylle, des photosynthétats et de les exporter par isolement hydraulique. Ainsi, elles seraient condamnées à consommer lentement toutes leurs réserves.

La coloration rouge de l'aiguille pourrait aussi être la conséquence d'une défaillance hydraulique à la suite de taux d'embolie létaux, *i.e.* supérieurs à 50%, qui, chez les conifères, induisent la mortalité des organes affectés. Le statut hydrique initial de l'aiguille pourrait également être un facteur de vulnérabilité au rougissement hivernal (cas de l'année 2022 en LF où l'HP des aiguilles a été mesurée inférieure à celle d'un arbre très bien hydraté (Figure 48)). **La mortalité cellulaire élevée des aiguilles** non alimentées en eau favoriserait la déshydratation de ces dernières en induisant une défaillance hydraulique rapide (Sevanto et al. 2014). Dans tous les cas, la déshydratation des aiguilles et la progression de l'embolie pourraient entraîner d'importants dommages cellulaires, une déplétion des chlorophylles et un rougissement de l'aiguille.

Il semble impossible de trancher et conclure sur le paradigme trop simpliste de 'mort de faim' ou 'mort de soif' dans le cas du rougissement hivernal des aiguilles. Dans les deux cas, la déshydratation est le point de démarrage du phénomène lorsque le contrôle des pertes hydriques par la régulation stomatique, très efficace au début pour limiter cette déshydratation, n'est plus assuré. Par conséquent, une transition vers une déshydratation létale semble se mettre en place de manière irréversible en combinant en synergie des aspects de déconnexion hydraulique et de dégradation biochimique. Ainsi, le rougissement du Douglas pourrait être la conséquence d'une embolie du xylème déclenchée par un stress de déshydratation de l'aiguille, qui sera suivie d'une carence en carbone. En effet, la mortalité des arbres peut avoir lieu à des teneurs en glucides tissulaires relativement élevées, comme on l'observe dans les arbres mourant lentement de la sécheresse (Sevanto et al. 2014).

III. Conclusion

Ce chapitre a pour vocation de mieux appréhender la physiologie d'un arbre rougissant *via* deux approches : l'étude d'échantillons prélevés sur le terrain de Douglas affectés/témoins ainsi que la comparaison de la dynamique du stress hydrique généré lors d'une sécheresse édaphique.

Un arbre bicolore (*i.e.* en cours de rougissement), présente une déconnexion hydraulique entre le bas et le haut du houppier. La partie supérieure du houppier avec des aiguilles rouges ou « vert séchant », présente de forts taux d'embolie, une faible humidité pondérale, un épuisement de la concentration cellulaire en amidon avec d'importants dommages cellulaires. Si une aiguille rouge n'est plus fonctionnelle, une aiguille « vert séchant » présente toutes les caractéristiques préliminaires à devenir rouge, soit un épuisement de la concentration en amidon et un déficit hydrique irréversible.

La comparaison entre un rougissement hivernal et estival montre que la répartition de l'embolie diffère au sein de l'arbre, lors des deux stress hydriques. Le rougissement hivernal affecte, dans un premier temps, les aiguilles les plus jeunes et les branches supérieures du houppier. Ce qui s'oppose à la sécheresse édaphique qui touche les plus vieilles aiguilles présentes à la base des branches de façon uniforme au niveau du houppier. S'il est possible d'observer des micro-différences de localisation dans la répartition de l'embolie, l'arbre se déshydrate en partie aérienne.

En termes de dynamique de perte de conductivité hydraulique du xylème ou de dynamique de dommage cellulaire, le rougissement hivernal semble être similaire à un stress hydrique de type sécheresse édaphique.

Il aurait fallu pouvoir prélever régulièrement plusieurs Douglas verts, affectés par le rougissement hivernal aux divers stades. Cependant, il est difficile et très hasardeux de spéculer le futur/potentiel rougissement d'un arbre vert en début d'hiver. Avoir une telle dynamique aurait permis de suivre en finesse la genèse et la propagation d'un rougissement hivernal.

Nous nous posons de nombreuses questions sur les facteurs qui pourraient influencer la déconnexion hydraulique et la déshydratation du houppier supérieur des jeunes Douglas. Le chapitre 1 a mis en évidence le rôle de la végétation d'accompagnement en tant que facteur limitant du rougissement. Cependant, la partie supérieure des Douglas *i.e.* l'apex, organe particulièrement vulnérable lors d'un stress hydrique, est aussi la partie de l'arbre la plus exposée aux variations climatiques. Par conséquent, se pose la question de savoir quels facteurs climatiques pourraient potentiellement entraîner une telle déshydratation : rayonnement solaire, températures de gel, températures élevées, fortes variations de température, vitesse élevée du vent, *etc.*

Chapitre 3 :

Caractérisation de la physiologie du jeune Douglas pendant les hivers 2021 & 2022

“Savoir de façon certaine ça n'existe pas. Les seules choses fiables, c'est l'humilité et un regard attentif.”

Richard Powers



Avril 2022. Livradois-Forez. Les Amouillaux.

Introduction:

Lors de l'expérimentation en condition contrôlée présentée précédemment, l'hypothèse de la sécheresse hivernale et du stress photo oxydatif ont été testées et invalidées (*cf.* Partie III - Chapitre 1). En parallèle et afin de mieux appréhender la physiologie hivernale du Douglas, une approche *in natura*, à travers le suivi en continu de plusieurs douglasaies, a été réalisée. Le chapitre 1 ayant montré la forte vulnérabilité au rougissement des contreforts du Massif Central, nous avons choisi d'instrumenter quatre jeunes douglasaies aux climats contrastés (deux situées en Auvergne, dans le Livradois-Forez et deux dans le Limousin, au Nord du plateau des Millevaches). Ainsi, de jeunes Douglas (< 10 ans) ont été instrumentés à l'aide de micro-dendromètres, de janvier 2021 à juin 2023.

L'objectif de ce chapitre est de comprendre l'impact des aléas climatiques hivernaux sur la physiologie du Douglas. Malgré la relativement faible occurrence du rougissement hivernal, avec seulement $\frac{1}{3}$ des hivers concernés depuis 1990 (selon les observations du DSF) et aucun rougissement observé depuis 2014, le pari a été fait de pouvoir l'observer *in situ*. Ainsi, si aucun symptôme de rougissement n'a été observé lors des hivers 2021 et 2023, l'hiver 2022 a été caractérisé par un rougissement de grande ampleur. Par conséquent, la comparaison entre un hiver « témoin » *i.e.* sans rougissement avec un hiver avec rougissement dans les parcelles du Livradois-Forez, nous permet de mieux comprendre le lien entre le climat hivernal et la physiologie de l'arbre. De plus, comme les parcelles du plateau des Millevaches n'ont pas été touchées par le rougissement 2022, le second objectif est d'étudier les contraintes climatiques inter-parcelles afin de déterminer plus finement les conditions abiotiques en lien avec le rougissement du Douglas. Pour cela, nous allons comparer les conditions climatiques des deux localisations et leurs impacts sur la physiologie des Douglas, lors de l'année 2022.

Pour atteindre ces objectifs, des dendromètres PépiPIAF ont été posés sur le tronc de cinq jeunes Douglas sur chaque parcelle choisie. Le système PépiPIAF mesure et mémorise les microvariations de diamètre d'organe (sensibilité inférieure au micron) d'un arbre et la température de l'air au point de mesure, sans perturber le fonctionnement physiologique de l'arbre. La combinaison du microclimat de la parcelle avec les variations de diamètre permet de déterminer précisément quels les facteurs climatiques déclenchent une forte contrainte hydrique chez le Douglas en hiver. Néanmoins, aucun des arbres instrumentés n'a rougit intégralement, ce qui n'a pas permis d'avoir des variations de diamètre d'un arbre totalement dépérissant. Cependant, comme les Douglas de la même parcelle connaissent le même microclimat, les capteurs installés nous donnent malgré tout, des pistes de réflexion pour comprendre le rougissement.

Ainsi, la première section des résultats de ce chapitre traitera de l'étude comparative météorologique des parcelles du Livradois-Forez (LF) et du Limousin (LIM), entre l'hiver 2021 et 2022. La seconde section des résultats concernera l'étude comparative de la physiologie des Douglas pendant deux hivers consécutifs (2021 – 2022) entre les parcelles auvergnates et limousines.

I. Matériel & Méthode

A. Choix des parcelles de Douglas

Afin de pouvoir mieux appréhender le phénomène de rougissement hivernal sur les Douglasaies, nous avons instrumenté quatre plantations dans des zones sensibles au rougissement pendant trois hivers consécutifs (2021, 2022, 2023). Les données de l'hiver 2023 ne sont pas analysées dans ce chapitre, faute de temps. Il a été choisi de sélectionner deux parcelles dans deux zones géographiques sensibles au rougissement hivernal : le Livradois-Forez en Auvergne et sur le plateau des Millevaches, en Limousin. Les parcelles ont été choisies sur divers critères : 1) l'âge de plantation, c'est-à-dire entre quatre et huit ans, 2) l'accessibilité possible en hiver pour assurer un suivi régulier, 3) des expositions contrastées, 4) d'éventuel épisode de rougissement dans les années précédentes et 5) l'autorisation des propriétaires pour des prélèvements ponctuels.

Tableau 8 : Principales caractéristiques des quatre parcelles choisies.

Massif	Coordonnées	Commune	Altitude	Contexte	Age	Exposition
Livradois-Forez	45.568925, 3.560298	63 890 Saint-Éloy-la-Glacière	951.73 m	Dégagement récent fort	5 ans	Versant Ouest
Livradois-Forez	45.574734, 3.576589	63 890 Saint-Éloy-la-Glacière	1088.91 m	Replantation en 2015 à la suite du rougissement 2014	4 ans	Versant Nord Est
Massif Central	45.862126, 1.694624	23 223 Saint-Moreil	470 m	Dégagement récent fort	5 ans	Versant Nord
Massif Central	45.862126, 1.694624	23 223 Saint-Moreil	470 m	Dégagement récent fort	5 ans	Versant Sud

B. Installation des capteurs et synthèse des informations observables

Ces parcelles ont été suivies pendant 3 années consécutives en termes de météorologie via la pose d'Hygro Boutons (PROGES PLUS@, France). La mesure de la température et l'humidité de l'air et du sol ont été prises en continu toutes les 30 minutes par deux Hygro Boutons/parcelles. Le déficit de pression de vapeur (VPD) n'a pas été calculé ici, le domaine de validité des formules ne s'appliquant pas à des températures négatives. En 2023, deux Hygro Boutons ont été installés à 12 cm sous la surface du sol afin de mesurer la différence thermique entre les températures du sol et de l'air.

Des dendromètres PépiPIAF (Capt-Connect, Clermont-Fd, France) ont été installés sur cinq Douglas par parcelles. Un système PépiPIAF est un ensemble autonome constitué d'un boîtier électronique avec une mesure interne de la température de l'air dans le boîtier (proche d'une température de l'air en absence de rayonnement direct reçu par le boîtier), d'un dendromètre (sensibilité au micron)

pour mesurer les variations de diamètre du tronc et d'un porte capteur adapté au diamètre de l'arbre suivi. Les PépiPIAFs n'ayant pas été installés dans les deux régions au même moment (20 décembre 2020 en Livradois-Forez vs.5 février 2021 en Limousin), la comparaison entre l'hiver 2021 et l'hiver 2022, n'est donc pas possible pour le mois de janvier.

Les variations de diamètre traduisent le fonctionnement physiologique des Douglas en fonction de la demande climatique (température et humidité), des réserves hydriques du sol (données non relevées) et des tissus du tronc. En hiver, les changements du diamètre sont étroitement liés au potentiel hydrique des cellules de l'écorce. La contraction/dilatation du tronc se produit principalement dans les tissus dits « élastiques » de l'écorce : cambium, phloème et parenchyme (Knüsel et al. 2021), alors que le xylème et en particulier le bois de cœur du tronc, semblent se contracter ou se dilater de façon négligeable (Zweifel et al. 2000). Néanmoins, Améglio et al. 2001 mesurent, sur des rameaux de noyer, que les variations de diamètre liées à l'écorce ne concernent que 71 % de l'amplitude des variations de diamètre, les 29 % restants ayant lieu dans le xylème (moelle - parenchyme - vaisseaux conducteurs et fibres) des rameaux de Noyer (Améglio et al. 2001).

Comme le souligne Daudet et al. (2004), les quatre paramètres responsables des variations de diamètre du tronc sont : i) La croissance radiale irréversible (Lockhart 1965), ii) le statut hydrique des cellules « élastiques » vivantes (Zweifel et al. 2001), iii) la dilatation thermique, et iv) l'expansion des éléments conducteurs morts dus à l'augmentation et au relâchement des tensions internes (Irvine et Grace 1997; Offenthaler et al. 2001).

A travers le terme 'statut hydrique', les variations de diamètre prennent en compte :

- La transpiration foliaire et de l'utilisation des réserves hydriques des cellules vivantes de la zone mesurée.
- La contrainte gélive par déplacement de l'eau cellulaire des tissus de l'écorce, vers des zones vides des fibres du bois.

La perte de diamètre liée aux dommages gélifs, qui a lieu lorsque le diamètre post-gel ne retrouve pas le diamètre avant le gel, fait partie des phénomènes dit « irréversibles » mesurés par les variations de diamètre, au même titre que la croissance secondaire. Si la croissance radiale irréversible est associée à un gain de diamètre, c'est-à-dire la production de nouvelles cellules par les assises cambiales et subéro-phéllodermique, les dommages gélifs peuvent se caractériser par une perte irréversible de diamètre.

C. Méthodologie d'étude des cinétiques de variations de diamètre

En hiver, les variations de diamètre sont attribuables aux variations de statut hydrique des tissus dit « élastiques » de l'arbre avec une composante diurne, associée à de la transpiration et une composante généralement nocturne, de nature gélive. Ces deux phénomènes se matérialisent donc par une contraction du diamètre de la zone mesurée. Néanmoins, la transpiration a lieu entre 10h et 17h tandis qu'un cycle gel-dégel a lieu généralement entre 22h et 12h.

Le phénomène de dilatation thermique peut se produire autant en journée que la nuit. Cette composante reste la plus difficile à caractériser en absence de mesures associées de teneur en eau et a été considérée comme de second ordre et négligeable dans cette étude.

Pour finir, la composante irréversible « croissance secondaire » est impliquée dans les variations de diamètre à partir de fin mars- avril.

a. Détection de la transpiration journalière et calcul des indices de transpiration

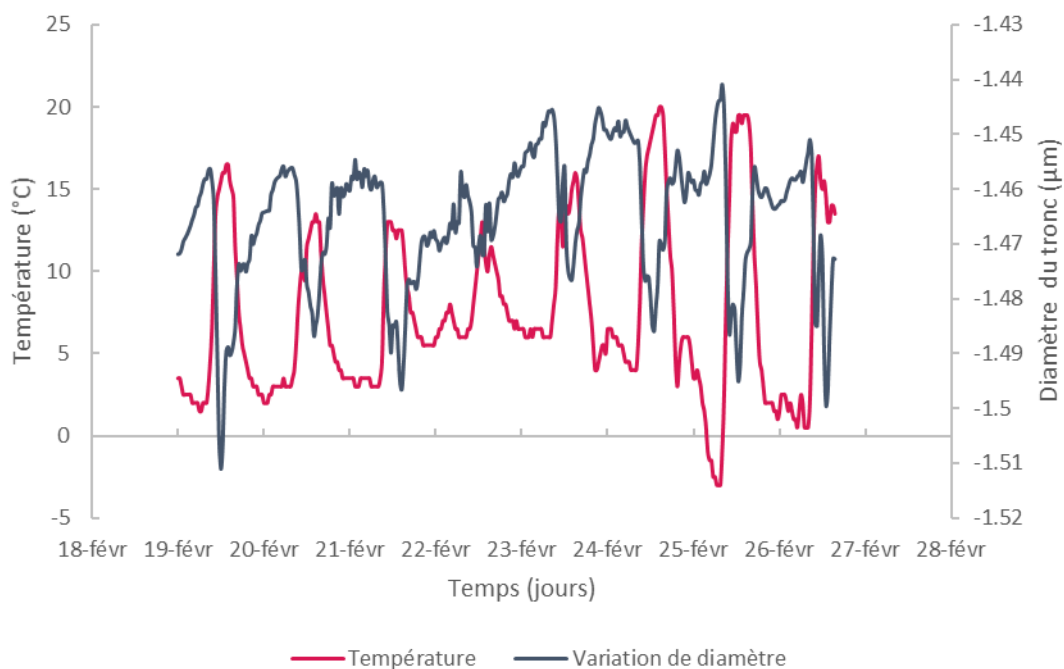


Figure 32: Variation de diamètre (en bleu marine) et température (en rose) du Dendromètre #67. Février 2021- Parcelle Nord-Livradois Forez

Chaque jour, une contraction du diamètre en opposition de phase avec la température est observée. En d'autres termes, une diminution nette diurne du diamètre est associée au maximum journalier de température lors de belles journées (Figure 50). Cette contraction du diamètre a lieu en journée entre 10h et 18h. En l'absence de croissance, cette variation de diamètre résulte de la mobilisation/diminution des réserves d'eau des cellules vivantes de l'écorce à la suite du phénomène de transpiration. Ainsi, avec l'augmentation de la demande climatique (augmentation des températures et du VPD), l'arbre transpire plus au niveau des aiguilles qu'il n'absorbe au niveau des racines. Par conséquent, le diamètre de l'arbre se contracte, ce qui montre qu'après avoir utilisé les réserves hydriques des aiguilles (Zweifel et al. 2000), il sollicite les réserves hydriques des tissus de l'écorce pour maintenir son équilibre hydrique (Figure 50). Quand la demande climatique diminue, en fin de journée, la dilatation progressive du tronc (visible à partir du milieu d'après-midi ; 14h - Figure 51) suggère un retour à l'état hydrique initial, suite i) à l'absorption racinaire qui devient suffisante pour remplir les réserves hydriques utilisées en journées et ii) aussi parfois, à la fermeture stomatique qui permet de limiter les pertes en eau. Ainsi, pour détecter le phénomène de transpiration, les données ont été filtrées en fonction des horaires journaliers, ici entre 10h et 18h, mais aussi en fonction des températures de l'air. La plage horaire a été choisie en fonction de la lumière et la température

susceptible d'induire l'ouverture significative des stomates, et donc la transpiration, soit à partir de 9h30 – 10h. De plus, nous avons considéré que l'arbre transpirait à partir de + 5°C pour deux raisons. L'observation de nos données brutes indique une contraction du diamètre du tronc (*i.e.* diminution du réservoir d'eau dans les tissus du tronc ; Figure 51) pour des températures matinales-journalières supérieures à + 5°C à partir de 10h. Guehl et al. (1985) montre que le Douglas atteint son optimum thermique de la photosynthèse hivernale à 20°C tout en soulignant la très faible sensibilité à la température de 5 à 25 °C. Ainsi, si la photosynthèse est favorisée à partir de + 5 °C, les stomates doivent être ouverts, permettant une transpiration accrue.

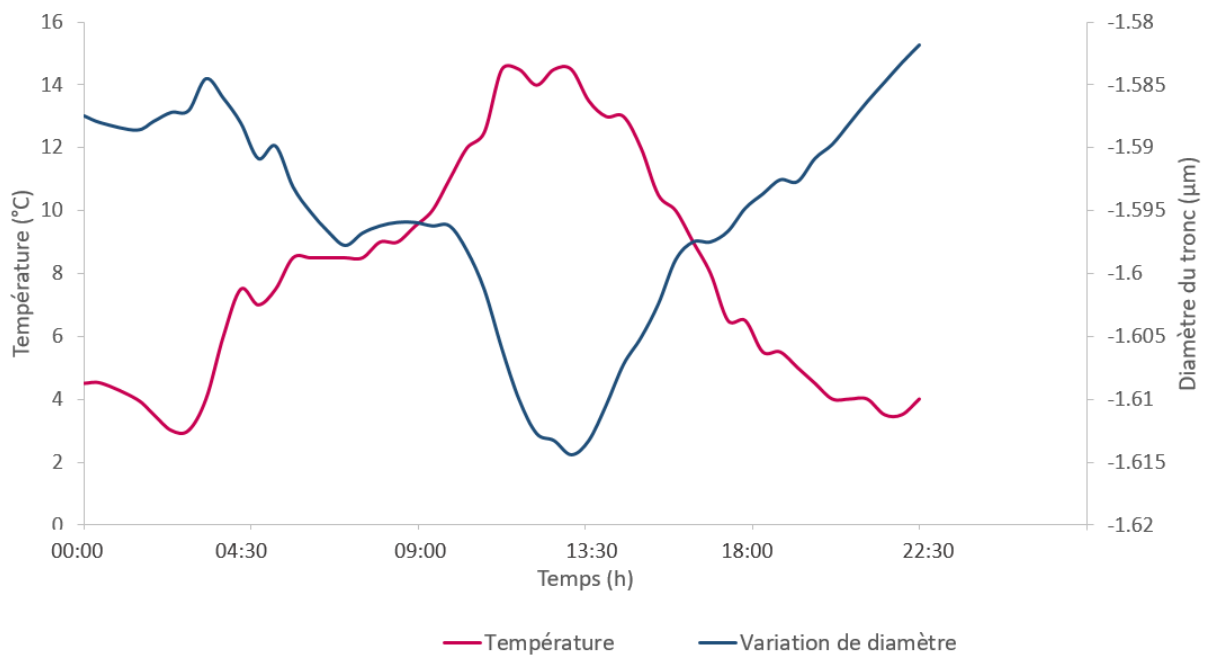


Figure 51: Variation de diamètre (en bleu marine) et température (en rose) du Dendromètre #67. 02/01/2022 - Parcelle Nord-Livradois Forez.

En conséquence, le phénomène de transpiration a été isolé en filtrant les données brutes en fonction des horaires (10h – 18h) et de la température ($\geq + 5^{\circ}\text{C}$).

Plusieurs indices ont été calculés à partir des données de variations de diamètre pour caractériser la transpiration :

- *L'Amplitude de Contraction Maximale (ACM)*

L'ACM représente l'amplitude maximale de contraction journalière moyenne sur la période hivernale. L'ACM a été calculée selon la formule suivante (Lamacque 2020) :

$$ACM = D_{max_j} - D_{min_j} \quad (1)$$

Où D_{\max_j} représente le diamètre maximal de la journée avant 12h et D_{\min_j} diamètre minimal de la journée entre 9h et 16h. Si $D_{\max_j+1} < D_{\max_j}$, alors $D_{\max_j+1} = D_{\max_j}$. Cet indicateur reflète ainsi l'historique de la contrainte hydrique (durée et intensité) sur une période donnée.

Cet indice est généralement utilisé dans le cadre d'étude sur la sécheresse (*i.e.* Lamacque et al. 2020) et témoigne de la contrainte hydrique concernant la transpiration occasionnée par des journées chaudes et ensoleillées. Pour notre étude, l'ACM ne résulte pas uniquement de la transpiration journalière, puisqu'il y a des journées où les températures fluctuent beaucoup et sont négatives à partir de 12h. Pour des températures inférieures à + 5°C, le Douglas ne transpire peu ou pas (*cf.* Partie IV - Chapitre 3 : § Matériel et Méthodes – D), d'autres processus entrent en jeu comme la dilatation thermique ou bien la prise en glace du tronc si les températures deviennent inférieures à -2°C. Afin de prendre en compte uniquement le processus de transpiration hivernale, nous avons calculé un indice spécifiquement dédié au processus de transpiration.

- *L'Amplitude Maximale de Transpiration (AMT)*

L'AMT représente l'amplitude maximale de contraction journalière moyenne, due à la transpiration, sur la période hivernale. L'AMT a été calculée selon la formule suivante (identique à celle de l'AMT) mais la période temporelle journalière est réduite à la durée potentielle de la transpiration hivernale, c'est-à-dire entre 9h et 17h pour des températures supérieures ou égales à +5°C :

$$AMT = D_{\max_j} - D_{\min_j} \quad (2)$$

où D_{\max_j} représente le diamètre maximal et D_{\min_j} diamètre minimal de la journée sur la période temporelle déterminée.

- *Nombre de jours où l'arbre transpire (Jour_T)*

Jour_T représente la somme des jours où l'arbre transpire sur une période donnée.

$$Jour_T = \sum_{j=1}^N Transpi_j \quad (3)$$

où $Transpi_j$ est une variable binaire (1 si transpiration, *i.e.* conditions présentées dans le paragraphe précédent ; 0 si pas de transpiration) représentant un événement de transpiration journalier.

Ainsi, les journées avec transpiration ont été isolées à l'aide des températures extérieures et des amplitudes de contraction journalière et des indicateurs ont été calculés pour caractériser la transpiration journalière : l'AMT ainsi que le nombre de jours avec transpiration de l'arbre.

b. Détection et caractérisation des cycles gel-dégel

a) Rappel de théorie sur la prise en glace des tissus

Lors de températures négatives, l'eau extracellulaire gèle d'abord en raison de sa concentration en solutés plus faible que l'eau vacuolaire intracellulaire et cytoplasmique (Améglio et al. 2001 ; 2002). Le très faible potentiel chimique de la glace (-1.16 MPa par Kelvin en dessous du point de congélation ; Hansen et Beck 1988) attire les molécules d'eau vers l'interface solide-liquide. Cela entraîne un fort gradient de potentiel hydrique (Ψ) vers la surface de la glace. En conséquence, l'eau diffuse des cellules à travers la membrane plasmique vers les cristaux de glace de la matrice extracellulaire, entraînant une déshydratation des cellules vivantes. Cependant, l'eau évacuée des cellules en raison de la congélation dans les espaces extracellulaires, devrait connaître une augmentation du volume extracellulaire d'environ 9% en raison du changement d'état. Ainsi, on pourrait s'attendre à une augmentation de l'épaisseur de l'écorce, mais au lieu de cela, on observe une diminution. Cette contraction du diamètre est attribuée à la structure très poreuse de l'écorce, mais surtout au fait que l'eau apoplastique, qui prend en glace en premier, se trouve dans le xylème et non dans l'écorce. Dans ce cas, les zones d'air se rétractent avec la baisse de température et se remplissent de glace sans contribuer à une augmentation de l'épaisseur de l'écorce, tandis que les cellules vivantes se contractent en raison de la perte d'eau (Améglio et al. 2001).

Lorsque la sève du xylème gèle, les gaz précédemment dissous se regroupent en bulles d'air, en raison de leur très faible solubilité dans la glace (Sperry et Sullivan 1992). Les solutés de la sève sont ainsi expulsés du réseau de glace vers l'eau liquide restante (Sevanto et al. 2012), créant ainsi une tension suffisamment élevée pour atteindre le seuil de cavitation dans les ponctuations, induisant ainsi l'aspiration des ponctuations (Maruta et al. 2022) et l'amorçage de l'air d'un conduit à l'autre (Charrier et al. 2014). Lors de la décongélation, ces bulles peuvent soit se dissoudre à nouveau dans la sève du xylème, soit se développer pour obstruer l'ensemble du conduit du xylème par embolie (Tyree et Yang 1992).

b) Méthodologie mise en place pour la détection d'un cycle gel-dégel et calcul des indices de contraintes gélives

Un cycle gel-dégel a lieu généralement dans la nuit ou dans la matinée, soit avant 12h. Il se caractérise par une contraction du diamètre de plusieurs centaines de microns, en phase avec la diminution de la température mesurée. Cette contraction du diamètre (Figure 52) est associée à une diminution de la température en-dessous de -2 °C. Cela indique, que la prise en glace de l'eau apoplastique dans le bois ne se produit que pour une température inférieure à -2°C. Ces valeurs de prise en glace de la sève dans les conifères sont retrouvées dans la littérature scientifique (Špulák et Balcar 2013; Zimmerman 1964). On peut donc considérer qu'au-dessous de cette température, l'eau reste

liquide et on ne peut pas parler de température gélive pour le Douglas. En général, les cycles gel-dégel s'étalent sur quelques heures, mais peuvent durer plusieurs jours consécutifs.

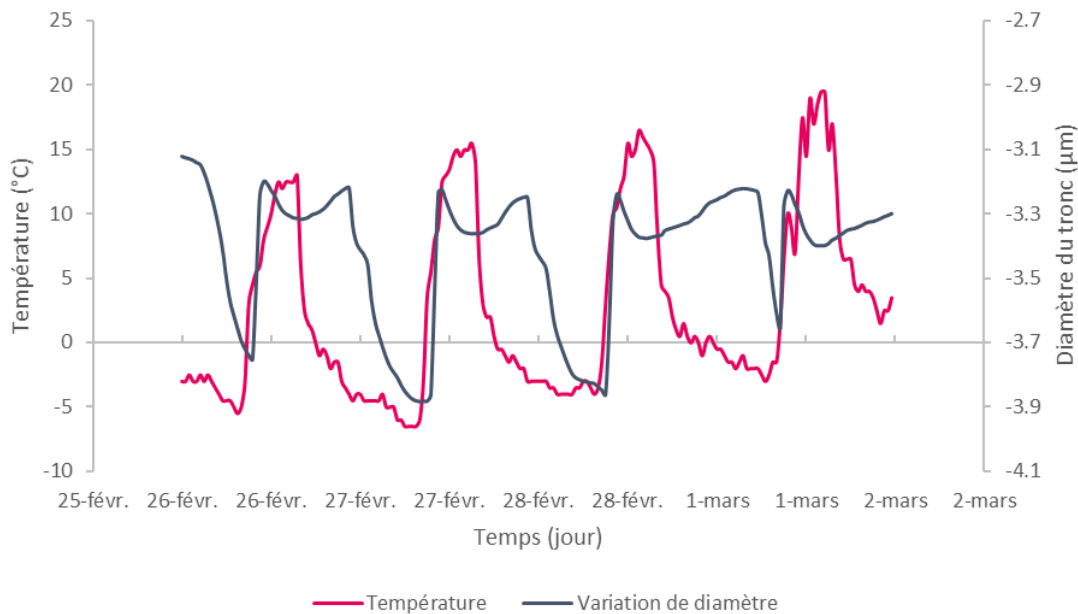


Figure 33: Variations de diamètre (en bleu marine) et température (en rose) du dendromètre PépiPiaf #67. Février 2022-Parcelle Nord- Livradois-Forez

Pour détecter les cycles gel-dégel, la première étape a été de filtrer les données en fonction des horaires journaliers, ici entre 22h et 10h, et des températures inférieures ou égales à -2°C . Le maximum et le minimum journalier de diamètre de cette plage horaire ont été isolés dans une nouvelle base de données, ce qui a permis de calculer l'Amplitude de Contraction Gélive (ACG ; calcul détaillé dans la section suivante). L'objectif était d'isoler les cycles gel-dégel, à l'aide d'une valeur seuil d'ACG. Cependant, cette méthode de la détection des cycles gel-dégel ne s'est pas avérée fiable, puisque 15% des gels n'étaient pas repérés. Ainsi, une autre méthode a donc été choisie pour détecter les cycles gel-dégel en se basant sur le calcul des valeurs des pentes de contraction (gel) -dilatation (dégel) du diamètre. Dans un premier temps, un focus sur les pentes du gel a été réalisé avec l'extraction de la pente journalière la plus importante associée à des températures négatives. Les pentes de perte de diamètre durant le gel présentent *in fine* une très grande variabilité car elles dépendent fortement de la vitesse de diminution des températures. Or, comme souligné par Rajashekar et Burke (1982), le lien entre le potentiel hydrique de la glace extracellulaire et de l'eau surfondue dans la cellule à une température donnée de congélation (3) montre que la vitesse de chute des températures influence fortement le potentiel hydrique donc la déshydratation des tissus vivants donc l'ACG. Ainsi, il devenait impossible d'établir un indice pertinent avec la pente durant le gel pour détecter les cycles gel-dégel. Nous avons alors décidé d'étudier le dégel sur une plage horaire bien définie (de 6h à 14h) dont nous avons extraite la pente horaire maximale. Les jours avec des cycles gel-dégel sont caractérisés par des fortes pentes de variation de diamètre au dégel ($> 0.01 \text{ mm.h}^{-1}$). Ainsi, pour déterminer un cycle gel-dégel, nous avons

sélectionné une pente positive des variations de diamètre au dégel supérieure au seuil de 0.01 mm/h, couplée avec des températures gélives ($< - 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$).

En résumé, le phénomène de gel a été isolé en filtrant les données brutes en fonction des horaires (6h – 14h), de la pente de dégel ($> 0.01 \text{ mm/h}$) et de la température ($< - 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$).

- *L'Amplitude Contraction Gélive (ACG)*

L'ACG représente l'amplitude maximale de contraction journalière moyenne, due à un épisode de gélif. L'ACG a été calculée selon la formule suivante :

$$ACG = D_{max_j} - D_{min_j} \quad (5)$$

où D_{max_j} représente le diamètre maximal de la journée avant midi et D_{min_j} diamètre minimal de la journée entre 6h et 14h pour des températures inférieures ou égales à $- 2^{\circ}\text{C}$.

- *Pente du dégel permettant d'isoler un cycle gel-dégel (P_h)*

P_h représente la pente du dégel horaire en $\mu\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$. P_h a été calculé selon la formule suivante :

$$P_h = (D_{h+30 \text{ min}} - D_h)/0.5 \quad (6)$$

Où $D_{h+30 \text{ min}}$ et D_h représentent le diamètre toutes les demi-heures, respectivement à heure $h+30 \text{ min}$ et à l'heure h , entre 6h et 14h pour des températures inférieures ou égales à $- 2^{\circ}\text{C}$.

- *Cycles Gel-Dégel (cGD)*

cGD représente la somme des événements gélifs ayant eu lieu sur une période donnée.

$$cGD = \sum_{j=1}^N cDG_j \quad (7)$$

Où cDG_j est une variable binaire (1 si cycle gel-dégel, *i.e.* voir condition paragraphe précédent ; 0 si pas de cycle gel-dégel) représentant un cycle gel-dégel journalier.

- *Durée des cycles gel-dégel (Durée cGD)*

Durée_cGD représente la durée d'un cycle gel-dégel, comprenant ainsi la phase de gel mais aussi la phase de dégel jusqu'à ce que la sève fonde.

$$Durée \text{ cGD} = \sum_{j=1}^N heures_gel \quad (8)$$

Où, lors d'un événement gélif, les heures_gel sont comptabilisées lorsque les températures sont inférieures à $- 0.5^{\circ}\text{C}$.

- *Nombre de jour où l'arbre transpire et gèle en 24h (Jour_TGD)*

Jour_TGD représente la somme des jours où l'arbre transpire et subit un cycle gel-dégel sur une période donnée.

$$Jour_TGD = \sum_{j=1}^N Transpigel_j \quad (9)$$

Où $Transpigel_j$ est une variable binaire, valant 1 si transpiration et gel en 24h successive, *i.e.* voir condition paragraphe précédent, sinon 0.

Ainsi, les journées gélives ont été caractérisées par l'amplitude de contraction gélive (ACG), la durée des cycles gel-dégel (Durée cGD), ainsi que le nombre de jours ou l'arbre a subi un cycle gel-dégel (cGD).

II. Résultats et discussion

A. Etude des conditions climatiques hivernales entre 2021 et 2022

L'objectif de cette sous-partie est de comparer les conditions météorologiques de l'hiver 2021 par rapport à l'hiver 2022, afin d'identifier les aléas climatiques susceptibles d'induire le rougissement. Pour cela, nous avons suivi la température de janvier à avril des parcelles en Livradois-Forez (LF). Cette comparaison ne concerne que les parcelles du LF car les capteurs des parcelles du Limousin (LIM) ont été posés plus tardivement, *i.e.* début février 2021, et ne permettent pas de comparer les mêmes séries temporelles de données. En revanche, en 2022, nous avons pu comparer les différences climatiques entre les deux sites.

a. Etude des températures de l'air

Le mois de janvier 2021, dans le LF, se caractérise par des températures de l'air majoritairement froides et gélives avec une moyenne de -3.2 ± 0.5 °C, des températures maximales négatives (-1.2 ± 0.6 °C; Moyenne \pm es ; Figure 53A) et des températures minimales inférieures à -8°C. Ainsi, l'**Amplitude Thermique Journalière** (ATJ) est très faible, en moyenne de 3.7 ± 0.6 °C (Figure 53A). Ces caractéristiques climatiques s'opposent à celles du mois de janvier 2022, caractérisé par des températures moyennes, maximales et minimales plus élevées (-0.3 ± 0.5 °C ; 6.6 ± 1.1 °C ; -3.7 ± 0.4 °C, respectivement). Ainsi, l'ATJ est élevée, avec une moyenne mensuelle de 10 ± 1 °C. L'ATJ maximale de 19°C, est atteinte le 24/01/2022. Du 09/01/2022 au 16/01/2022 et du 23/01/2022 au 28/01/2022, les ATJ sont plus élevées (14.6 ± 0.8 °C) couplées à des températures maximales dépassant régulièrement les +13°C avec des minimales atteignant -8°C, dans le LF.

Des amplitudes thermiques élevées avec des températures gélives nocturnes et des températures diurnes chaudes, sont caractéristiques des périodes anticycloniques. Des conditions climatiques hivernales similaires avaient été associées au phénomène de rougissement du Douglas, dans une littérature forestière mais non scientifique (DSF).

Janvier 2022 dans les parcelles du LF, se caractérise par une température journalière moyenne légèrement négative, des températures moyennes maximales et minimales élevées (-0.3 ± 0.5 °C ; 6.6 ± 1.1 °C ; -3.7 ± 0.4 °C respectivement ; Figure 53B). Ainsi, l'ATJ est élevée, avec une moyenne mensuelle de 10 ± 1 °C, avec une amplitude maximale de 19°C atteinte le 24/01/2022 (Figure 53B). Pour les parcelles du LIM, les températures moyenne journalières, maximales comme minimales sont positives (3.8 ± 0.3 °C ; 7.8 ± 0.4 °C ; 1.2 ± 0.4 °C respectivement ; Figure 53C). Comme les températures gélives sont rarement atteintes (la température de l'air ne descendant pas en dessous de -3°C), l'intensité des gels est largement plus faible qu'en LF où les températures inférieures à -3°C sont

atteintes 19/31 jours du mois de janvier. Ainsi, les amplitudes thermiques des parcelles en LIM ne sont pas très élevées, en moyenne $6.6 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ en journée, malgré des ATJ de 10°C atteintes pour 8 jours sur l'ensemble du mois.

Ainsi, si dans le LF, il est possible d'identifier deux périodes caractérisées par des conditions anticycloniques notables, du 09/01/2022 au 16/01/2022 et du 23/01/2022 au 28/01/2022, il est moins évident de les percevoir dans les parcelles du plateau des Millevaches. En effet, les extrêmes thermiques sont beaucoup plus tamponnées avec des minima ne descendant pas en-dessous de -4°C et des maxima n'excédant pas 13°C .

Février 2021 et 2022 se caractérisent par des variations de températures similaires ($\text{ATJ}_{2021} = 11.7 \pm 0.9^{\circ}\text{C}$, $\text{ATJ}_{2022} = 11.6 \pm 0.8^{\circ}\text{C}$) malgré des températures moyennes légèrement plus élevées en 2021 qu'en 2022 ($4.3 \pm 0.6^{\circ}\text{C}$, $2.8 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$, respectivement). Mars 2021 se caractérise par des températures moyennes plus faibles qu'en mars 2022 ($3.2 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$; $5.4 \pm 0.6^{\circ}\text{C}$, respectivement) avec une amplitude thermique plus élevée ($\text{ATJ}_{2021} = 12.9 \pm 1.2^{\circ}\text{C}$, $\text{ATJ}_{2022} = 11.2 \pm 0.9^{\circ}\text{C}$; Figure 53).

Février 2022 se caractérise par des variations de températures similaires ($\text{ATJ}_{\text{Lim}} = 10.3 \pm 0.9^{\circ}\text{C}$, $\text{ATJ}_{\text{LF}} = 11.6 \pm 0.8^{\circ}\text{C}$) malgré des températures moyennes plus élevées en Limousin qu'en LF ($6.3 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$, $2.8 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$, respectivement). Mars 2022, en Limousin, se caractérise par des températures moyennes plus fortes qu'en LF ($8.4 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$; $5.4 \pm 0.6^{\circ}\text{C}$, respectivement) avec une amplitude thermique plus élevée ($\text{ATJ}_{\text{LIM}} = 13.1 \pm 1.1^{\circ}\text{C}$, $\text{ATJ}_{\text{LF}} = 11.2 \pm 0.9^{\circ}\text{C}$).

Ainsi, il n'y a pas de différences climatiques entre l'année 2021 et 2022 pour février et mars en LF mais aussi en 2022 entre LF et LIM, soulignant le rôle crucial des aléas climatiques du mois de janvier. Le mois de janvier 2022 en Limousin, ne présente pas de périodes anticycloniques claires et bien définies, et pas de rougissement sur ces parcelles en question.

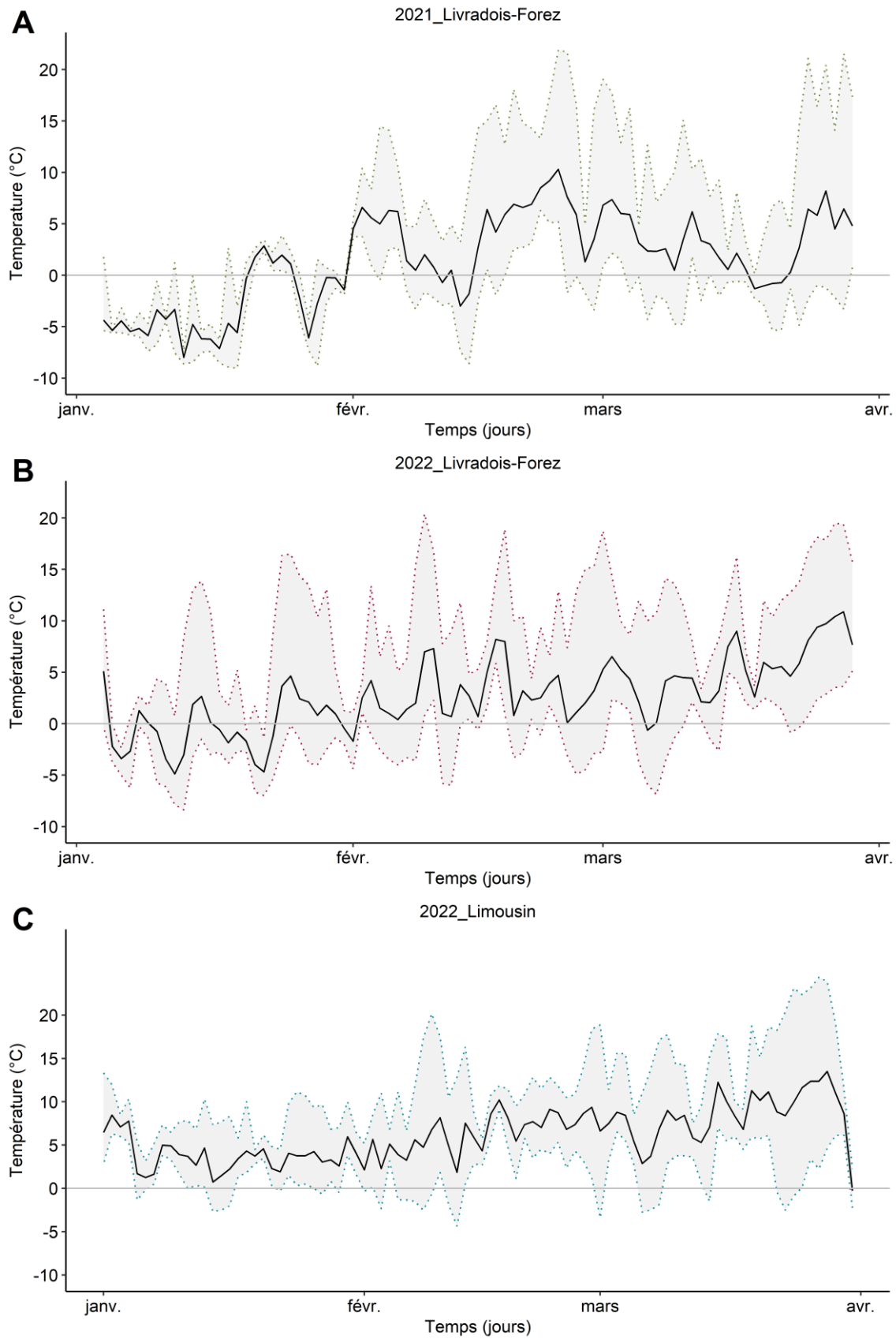


Figure 34: Variations de température de l'air (°C) des parcelles du Livradois Forez, mesurées par les Hygroboutons. A : en 2021, LF. B : en 2022, LF. C : en 2022, LIM. Moyenne \pm Maximum journalier/ Minimum journalier.

b. Etude de l'humidité relative de l'air en LF

Les systèmes de mesure (Hygroboutons) installés sur les parcelles mesurent aussi l'humidité relative de l'air. Comme les conditions thermiques qui changent sensiblement entre les hivers 2021 et 2022 ont lieu au mois de janvier, une attention particulière a été portée sur l'humidité relative entre janvier 2021 et 2022.

L'humidité relative de l'air en janvier 2021 est systématiquement supérieure à 75% (HR = $98.4 \pm 0.3\%$; Moyenne \pm es ; Figure 54). En 2022, il a été observé deux périodes pour lesquelles l'humidité relative est particulièrement basse, *i.e.* inférieure à 50% en milieu de journée, du 13/01 au 17/01 et du 24/01 au 29/01 (HR = $57.1 \pm 1.5\%$; Figure 54).

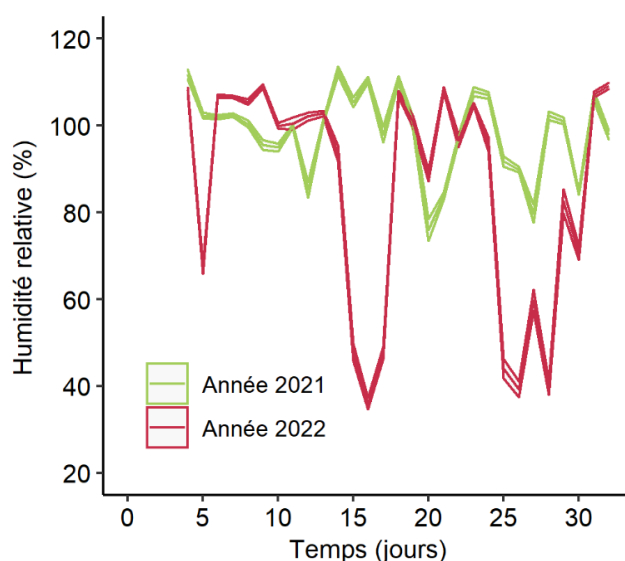


Figure 54: Variations de l'humidité relative (%) des parcelles du Livradois Forez, mesurées par les systèmes hygroboutons entre 9h et 17h. En vert : en 2021. En rouge : en 2022.

Ainsi, en LF, en janvier 2022 se caractérise par deux périodes anticycloniques (du 09/01/2022 au 16/01/2022 et du 23/01/2022 au 28/01/2022), absentes en 2021. Des températures gélives nocturnes couplées à des températures diurnes douces, entraînent des amplitudes thermiques élevées. De plus, ces périodes anticycloniques s'accompagnent d'une sécheresse de l'air avec une humidité relative de l'air inférieure à 50%. Ainsi, nos mesures semblent confirmer l'information empirique de la littérature forestière en montrant que le rougissement hivernal du Douglas serait corrélé à des périodes anticycloniques.

B. Analyse des variations de diamètre et comparaison de la physiologie hivernale des Douglas entre 2021 et 2022

Dans cette section, l'étude des variations de diamètre des jeunes Douglas va nous permettre de mieux comprendre la physiologie hivernale de cet arbre en lien avec le climat de deux hivers successifs (2021 et 2022) en LF. La comparaison de l'hiver 2022 sur les contreforts du massif Central, soit entre les douglasaies du LIM et du LF, sera menée. Dans un premier temps, l'analyse des variations des diamètres en continu va nous permettre une compréhension globale des contraintes hydriques tout renseignant la dynamique temporelle du stress. Dans un second temps, nous allons étudier le lien entre le climat et la physiologie de l'arbre grâce aux indices issus des variations de diamètre (*cf.* II.C).

a. Cinétiques des variations de diamètre entre l'hiver 2021 et 2022

Les variations de diamètre montrent une perte brutale de diamètre au 1^{er} janvier 2021, suivie d'une diminution plus progressive jusqu'au 12 janvier, avant de retrouver des valeurs positives au 15 janvier (Figure 55A). Cette nette diminution du diamètre du tronc est associée à une prise en glace des tissus du xylème, qui restent gelés du 1^{er} au 12 janvier, pour atteindre une perte de diamètre de $428 \pm 73 \mu\text{m}$, soit une perte de diamètre total du tronc de 1.6 %. Dès le 15 janvier, les troncs sont entièrement dégelés et le diamètre du tronc retrouve voire dépasse le diamètre initial (celui mesuré au 1^{er} janvier). Les arbres subissent quelques fortes contraction-dilatations du diamètre, associées à des cycles gel-dégel, mais les valeurs des variations de diamètres restent stables entre + 120 et - 170 μm (Figure 55A). A compter du 10 mars, il est possible de noter l'augmentation journalière du diamètre associée à la reprise de croissance cambiale. Quelques cycles gel dégel sont notables mais sans dommages cambiaux apparents *i.e.* avec un retour du diamètre aux valeurs initiales.

Les variations de diamètre de janvier 2022 montrent une nette diminution de ce dernier du 09 janvier jusqu'au 29 janvier (Figure 55B). La contraction maximale du tronc ($-578 \pm 31 \mu\text{m}$) est atteinte le 27 janvier, avec une contraction de 2.3 % du diamètre du tronc. Durant cette période, le diamètre ne revient pas à son niveau initial mais continue de décroître, avec de nombreuses fluctuations et ne récupère jamais le diamètre initial. A compter du 1^{er} février, le diamètre des arbres augmente progressivement pour retrouver au 15 février, les valeurs initiales malgré d'importantes variations journalières *i.e.* entre + 30 et - 360 μm . Ce n'est qu'à compter du 13/04/2022 que l'augmentation journalière du diamètre du tronc témoigne de la reprise de croissance cambiale.

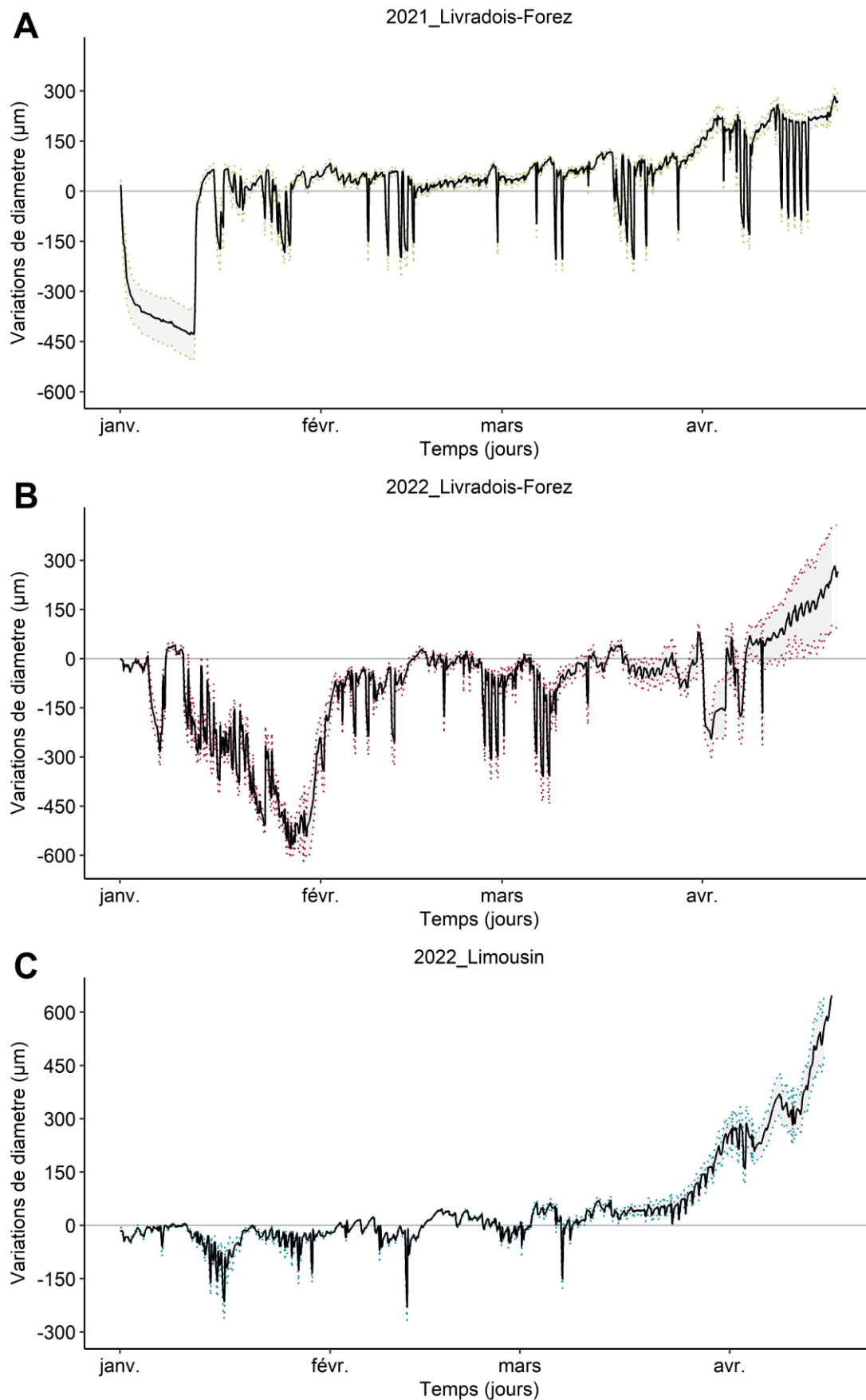


Figure 35: Variations de diamètre (μm) des troncs, mesurées à l'aide de système PépiPIAF en Livradois Forez (2021-2022) et en Limousin (2022) de janvier à mars. A : en 2021, LF, n=9. B : en 2022, LF, n=6. C : en 2022, LIM, n=6. En vert, les valeurs de l'année témoin (2021), en rouge, les valeurs de l'année à rougissement (2022) et en bleu, les valeurs de 2022 en Limousin. Moyenne \pm es

Les variations de diamètre du LF (Figure 55B) et du plateau des Millevaches (Figure 55C) ont, de prime abord, une allure assez similaire, mais la contraction du diamètre en janvier pour les Douglas du Limousin est moins importante. Les deux courbes de variations dendrométriques présentent une contraction maximale au 16 janvier ($-214 \pm 50 \mu\text{m}$), mais récupèrent progressivement le diamètre initial dès 20/01, soit **25 jours avant** les Douglas du LF. Par la suite, en février, les variations d'amplitude du diamètre fluctuent entre $+40$ et $-230 \mu\text{m}$ et la croissance cambiale reprend à partir du 15/03 avec l'augmentation croissante du diamètre sur plusieurs jours successifs, **soit 30 jours** avant les Douglas du LF en 2022.

Sur la cinétique des variations de diamètre, les cycles gel-dégel sont aisément détectables. C'est tout particulièrement le cas dans le LF en janvier 2021 (Figure 55A) ou dans le LIM en janvier 2022 (Figure 55C). Cette constatation est moins évidente en LF en janvier 2022, ce qui nécessite une analyse plus fine de ces variations de diamètre.

b. Analyse des indices issus des variations de diamètre

L'étude précise des mesures dendrométriques a permis de déterminer des indices en lien avec la transpiration hivernale. Ainsi, en LF, le nombre de jours pour lesquels l'arbre transpire est trois fois plus élevé en 2022 qu'en 2021 (respectivement, 24 ± 1.5 jours ; 5 ± 0.5 jours ; Figure 56B). L'année 2022 est caractérisée par une **Amplitude de Contraction due à la Transpiration (ACT)** quatre fois plus importante que celle mesurée en 2021 ($\text{ACT}_{2021} = 0.02 \pm 0.00 \text{ mm}$, $\text{ACT}_{2022} = 0.09 \pm 0.01 \text{ mm}$; Figure 56A). En LIM, en janvier 2022, le nombre de jours où les Douglas transpirent est supérieur - avec 28 jours (90% du temps) contre 24 jours (77% du temps) en LF (Figure 56B). Les valeurs de l'ACT sont, quant à elles, similaires quelques soit les zones géographiques (LIM – LF) concernées.

L'étude des mesures dendrométriques a aussi permis de déterminer des indices en lien avec les cycles gel/dégel. En LF, en 2021, six cycles gel-dégel (6.1 ± 1.1) d'une durée moyenne de 50.6 ± 15 heures ont été notés. Lors de l'année 2022, 19 cycles gel-dégel (18.8 ± 0.9 ; Moyenne \pm es ; Figure 56B) d'une durée moyenne de 17.4 ± 1.9 heures ont été comptés. Les **Amplitudes de Contraction Gélive (ACG)** sont similaires en 2021 et 2022. En 2022, le nombre de cycles gel-dégel ainsi que leur durée, sont moins importants en LIM que dans le LF : $\text{cGD}_{\text{LIM}} = 8.3 \pm 1.2$, $\text{cGD}_{\text{LF}} = 18.8 \pm 0.9$ (Figure 56B) pour une durée de $5.6 \pm 1.1 \text{ h}$ et $17.4 \pm 1.9 \text{ h}$, respectivement. Ainsi, le nombre de cycles gel-dégel dans le LF est deux fois plus élevé que dans le LIM, pour une durée trois fois plus longue.

Si, en février - mars 2022, le nombre et la durée des cycles gel-dégel sont assez identiques sur les contreforts du Massif-Central, l'ACG est légèrement plus faible en LIM qu'en LF. Ainsi, la contrainte gélive entre les deux sites connaît une vraie différence en janvier alors qu'elle est similaire en février-mars 2022. Le paramètre transpiration ne présente pas de différence significative en termes de nombre de jours en janvier-février-mars 2022, en LIM et en LF.

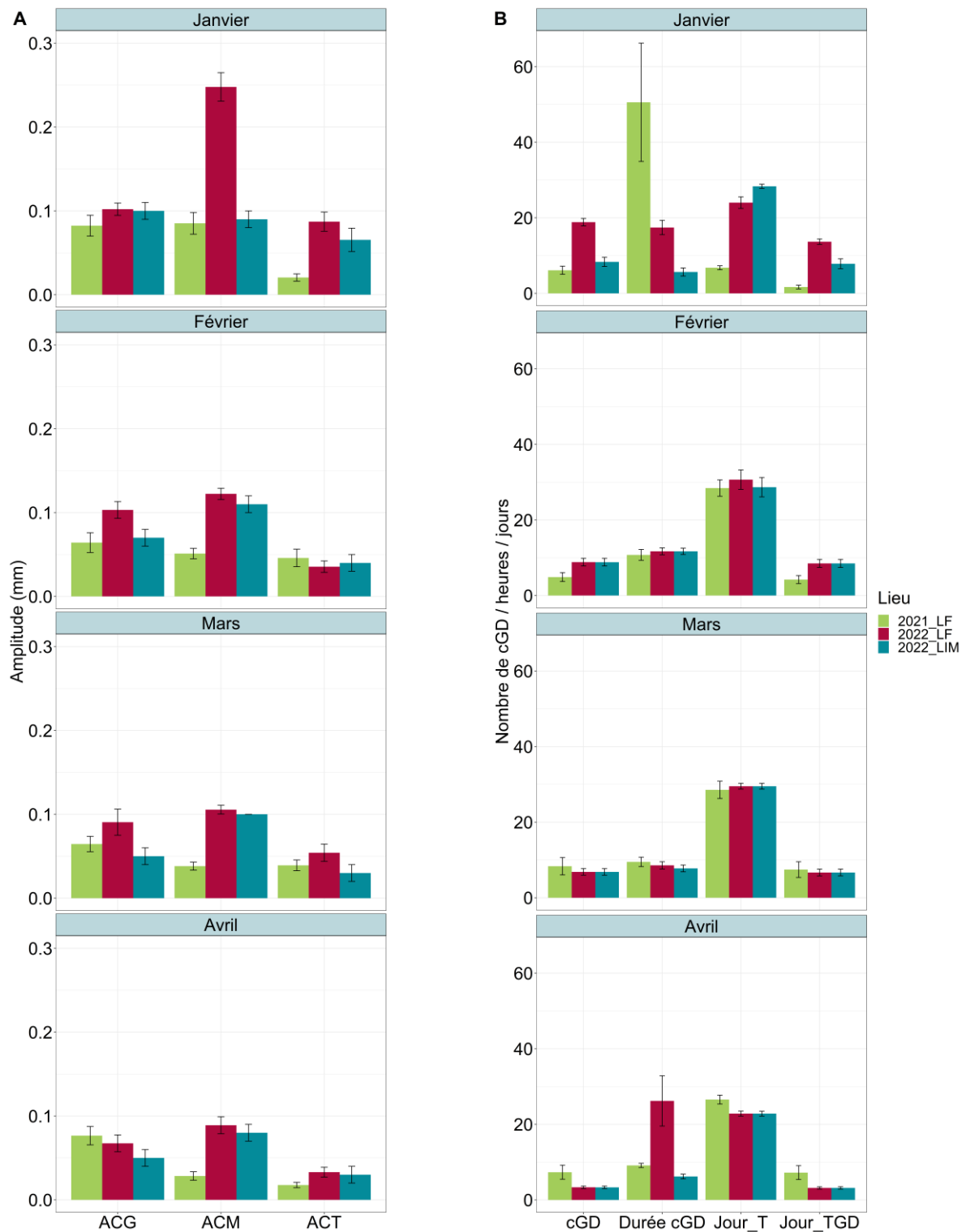


Figure 36: indices issus de l'analyse des variations de diamètre par le système PépiPIAF du Livradois Forez et du Limousin. En 2021, n=9, en LF. En 2022, n=6, en LF. En 2022, n=6, en LIM. En vert, les valeurs de l'année témoin (2021) du LF et en rouge, les valeurs de l'année à rougissement (2022) du LF et en bleu, 2022, LIM. A : Amplitude de contraction des troncs des jeunes Douglas : ACG : Amplitude de contraction gélique *i.e.* nocturne ; ACM : Amplitude de contraction maximale journalière ; ACT : Amplitude de contraction due à la transpiration *i.e.* diurne. B : Nombre de cycles gel-dégel (cGD), durée des cycles gel-dégel (Durée cGD), nombre de jours avec

transpiration (Jour_T) et nombre de jours avec un cycle gel-dégel suivi ou précédé par une journée avec transpiration (Jour_TGD). Moyenne \pm es.

L'**Amplitude de Contraction Maximale journalière (ACM)** est presque trois fois plus importante en 2022 (2.47 ± 0.1 mm) qu'en 2021 (0.85 ± 0.1 mm). La forte contraction du diamètre, du 09/01 au 29/01, se traduit à travers l'importante ACM en janvier 2022 (Figure 56A). Cet indicateur marque la déshydratation progressive des tissus de réserve du tronc des jeunes Douglas (*cf.* Partie III – Chapitre 2 : §IIA). La nette contraction du diamètre du 09/01 au 29/01 est corrélée aux deux périodes anticycloniques caractérisées par 16 cycles gel-dégel/ 20 jours (associés à des températures inférieures à -3°C) et une transpiration quotidienne. Ainsi, le nombre de jours où le Douglas transpire et prend en glace dans la même journée est de 1.7 ± 0.5 jours en 2021, contre **13.7 ± 0.7 jours en 2022**. En LIM, il n'y a 8 jours (7.8 ± 1.3) qui partagent des événements de gel avec de la transpiration, soit deux fois moins qu'en LF (Figure 56B).

Des valeurs égales d'ACM en février, en mars et en avril pour les deux régions sont notées alors qu'en janvier 2022, l'ACM triple presque entre le LF et le LIM (0.09 ± 0.01 mm, 2.5 ± 0.02 mm, respectivement : Figure 56A). Dès février – mars 2022, les Douglas transpirent tous les jours et le nombre de jours avec la succession des événements gélifs et de transpiration est identique : 9 jours (8.5 ± 1.1 jours) en février 2022 ; 7 jours (6.7 ± 0.9 jours) en mars 2022. Ainsi, nous pouvons confirmer que le mois de **janvier 2022** est le mois qui i) cristallise des conditions climatiques particulières (analyse climatique des deux hivers), ii) est caractérisé par une contraction progressive du diamètre (cinétique des dendromètres), iii) semble être marqué par de forts dysfonctionnements hydrauliques chez le jeune Douglas en LF.

c. Discussion sur les désordres physiologiques pouvant induire le rougissement hivernal en LF

Rappelons que les parcelles instrumentées sur le plateau des Millevaches n'ont pas rougi alors que celle du LF ont rougi (10-15%).

- ***Janvier 2022, LF : sécheresse hivernale : Quand les pertes hydriques par transpiration sont supérieures à l'absorption racinaire...***

En janvier 2022, des températures chaudes en journée ($> 10^{\circ}\text{C}$) et des valeurs d'humidité relative basses ($\sim 40\%$ en milieu de journée) entraînent une forte demande climatique. Comme l' $\text{ACT}_{\text{LF}} \gg \text{ACT}_{\text{LIM}}$, la contraction journalière du diamètre confirme une perte hydrique journalière plus élevée au niveau du houppier dans les parcelles du LF. Les causes de ces pertes hydriques peuvent être multiples : ouverture contrôlée des stomates, diminution du contrôle stomatique liée à une régulation stomatique moins efficace suite à des dommages gélifs sur les cellules de gardes (Zweifel et al. 2007), pertes cuticulaires et au niveau des écorces ; stomates non fonctionnelles (Duursma et al. 2019). Cette forte

demande climatique visualisée par la contraction du diamètre, reflète la mobilisation importante des réserves en eau des tissus élastiques du tronc. Zweifel (2000) souligne que les réserves hydriques de la couronne (aiguilles et tronc) peuvent contribuer jusqu'à 87% de l'eau prélevée dans les tissus de stockage interne. Pour des jeunes épicéas, le pourcentage d'eau disponible par rapport aux réserves totales d'eau des tissus est respectivement, de 25 et 6 % pour le houppier et le tronc (Zweifel, 2000). Cependant, comme ces réservoirs n'ont pas une capacitance infinie (variation de volume d'eau des tissus en fonction du potentiel hydrique), l'état hydrique du houppier de l'arbre, qui dépend de la capacité de l'arbre à reconstituer ses réserves, en est fortement affecté.

La reconstitution de ces réserves dépend à la fois de l'eau disponible dans le sol, mais aussi du couplage entre les températures douces de l'air et les températures froides du sol. Du fait de l'inertie thermique du sol et de la couche de neige isolante, les températures du sol peuvent rester froides et stables, diminuant l'absorption racinaire ($< 7^{\circ}\text{C}$; Mellander et al. 2006 ; Améglio et al. 1990 ; 2002), tandis que les températures aériennes peuvent fluctuer jusqu'à $+ 15^{\circ}\text{C/j}$ (Malmqvist et al.2018).

Dans notre étude, en LF, les températures moyennes du sol ont été mesurées en janvier 2023 à $4.8 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$ (Moyenne \pm es ; Figure Sup 11) pour une température moyenne journalière de l'air de $1.7 \pm 0.6^{\circ}\text{C}$. Comme les températures journalières de l'air de janvier 2022 en LF ont été plus basses (mesurées à $-0.3 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$), nous pouvons raisonnablement faire l'hypothèse que les températures du sol devaient être comprises entre 1°C et 5°C . Or, cette gamme de température entraîne une réduction de 80 % de l'absorption racinaire des jeunes Douglas par rapport à un sol à 15°C (cf.: Figure Sup 3). Une absorption racinaire limitée, couplée à une forte demande climatique, réduit ainsi la capacité des réserves en eau de l'arbre à se reconstituer. Entre le 09/01/2022 et le 29/01/2022, la décroissance journalière du diamètre que l'on mesure à travers l'ACM, s'explique par i) une forte demande évaporative, ii) une diminution progressive des réserves hydriques disponibles des cellules vivantes de l'écorce du tronc et par ii) l'impossibilité de reconstituer ces réserves hydriques à la suite d'une absorption racinaire limitée. Ainsi, les variations de diamètre des Douglas nous permettent de visualiser en continu une véritable **sécheresse hivernale**.

La sécheresse hivernale semble avoir commencer en janvier mais les données terrain montrent qu'elle avait été initiée en décembre dans le LF (Figure Sup 13) mais pas en LIM. Le mois de décembre est marqué par peu de cycles gel-dégel (6) mais des températures relativement froides ($T_{\text{MOY}} = 2.8 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$; $T_{\text{MOY_JOUR}} = 5.8 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$; $T_{\text{MOY_NUIT}} = -0.4 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ et $T_{\text{MAX}} = 10.9 \pm 1.3^{\circ}\text{C}$), pouvant induire un refroidissement des températures du sol. Avec le raisonnement précédemment développé, les températures du sol devaient être inférieures à 8°C . Les variations de diamètres montrent une contraction du diamètre soulignant une contrainte hydrique modérée puisque le diamètre initial est rapidement récupéré. Néanmoins, cette information permet de souligner qu'un épisode de sécheresse hivernale (T_{SOL}

$< 8^{\circ}\text{C}$ et $T_{\text{MAX_AIR}} > 10^{\circ}\text{C}$) a été initié à partir de mi-décembre, soumettant les arbres à une contrainte hydrique préalable.

Si une demande climatique élevée (températures douces ou trop chaudes pour la saison, sécheresse de l'air) additionnée avec une absorption racinaire limitée (températures $< 5^{\circ}\text{C}$) peut provoquer une sécheresse hivernale, nous pouvons nous demander pourquoi il n'y a que les Douglas qui rougissent et non les épicéa ou sapin plantés dans le même contexte géographique, pédologique et climatique. L'hypothèse principale résiderait au niveau des pertes hydriques non contrôlées - transpiration stomatique ou cuticulaire trop élevée - pendant le mois de janvier 2022 en LF, qui entraîneraient la déshydratation accrue des parties distales du houppier, comme on le retrouve dans les travaux de Zweifel (2000).

A l'opposé, en janvier 2022, en Limousin, malgré une forte demande climatique, la décroissance journalière du diamètre ne dure que 8 jours (contre 21 jours dans le LF). Or, l'analyse des indices de transpiration montre que les arbres du LIM ont transpiré 90% du temps contre 77% pour ceux du LF, générant des contractions de diamètre plus importantes en LF. Ainsi, malgré une transpiration journalière plus fréquente et des températures aériennes plus élevées ($+3^{\circ}\text{C}$), les Douglas du LIM n'ont pas rougi. Ce constat nous pousse à l'évidence : les pertes hydriques du houppier des Douglas du LIM doivent être équilibrées par une absorption racinaire moins limitée qu'en LF. Reprenons le raisonnement précédent sur l'estimation de la température du sol. Des $T_{\text{AIR}} \sim 4^{\circ}\text{C}$ n'ont pas dû induire des températures du sol inférieures à 5°C (données non mesurées), mais plutôt entre 5 et 8°C . Dans ces conditions, on peut imaginer que l'absorption racinaire reste bloquée mais dans une moindre mesure (60% ; expérimentation préliminaire- chapitre 3) contrairement à ce qui se passe en LF. En conséquent, l'état hydrique des Douglas du LIM est nettement moins critique que celui des Douglas dans le LF, et ce pendant une durée très restreinte. De fait, la reconstitution des réserves hydriques du tronc se fait rapidement et est totalement mesurable et interprétable par le suivi continu des variations de diamètre.

- ***Janvier 2022, LF : Quand la sécheresse hivernale se superpose aux cycles gel/dégel***

Pendant la période anticyclonique, la sécheresse hivernale (*cf.* paragraphe précédent) se superpose à de nombreuses fluctuations d'une amplitude supérieure de $+100 \mu\text{m}$ (+ 25%) aux amplitudes de fluctuations journalières de l'hiver 2021 en LF ou de l'hiver 2022 en LIM. Ainsi, dans un contexte général d'une tendance à la déshydratation forte *i.e.* sécheresse hivernale, d'importantes variations de potentiel hydrique (Rajashekar et al. 1983; Guy 1990) liées aux cycles gel/dégel (Améglio et al. 2001) peuvent provoquer une double contrainte hydrique sur les Douglas.

Pour caractériser la contrainte gélive, nous avons utilisé deux paramètres : la durée d'un cycle GD et le nombre de cycles GD. En 2022, la durée des cycles GD du LF étant trois fois plus importante que celle des cycles GD du LIM, nous avons pu imaginer qu'une longue prise en glace du tronc pouvait

entraîner plus de dommages cellulaires (Sakai 1970) ou bien un taux d'embolie plus important qu'une prise en glace de courte durée. Néanmoins, en 2021, les Douglas du LF sont restés 12 jours gelés sans engendrer un stress hydrique important ou de rougissement. Ainsi, la durée du gel ne semble pas être un facteur suffisant pour induire un rougissement hivernal. De plus, la maigre littérature scientifique existante sur les impacts réels de la durée de la prise en glace sur les divers tissus végétaux, ne facilite pas la discussion sur ce point-là.

Le climat hivernal de l'hiver 2021 s'oppose en tout point à celui de 2022, où les températures journalières étaient douces ($> 5^{\circ}\text{C}$), mais les nuits froides ($< -2.5^{\circ}\text{C}$) entraînant ainsi la multiplication de courts cycles gel-dégel. De nombreux auteurs soulignent la forte contrainte hydrique que peut générer une succession de cycles gel-dégel, entraînant un taux d'embolie élevé dans le xylème (Magnani et Borghetti 1995; Sperry et Sullivan 1992; Mayr et al. 2007). Chez *Abies lasiocarpa*, Sperry et Sullivan (1992) montrent que 11 cycles gel-dégel successifs ne provoquent pas d'embolie du xylème. Mayr et al (2003) soulignent que, sur conifères, 100 épisodes de gel-dégel peuvent ne pas induire d'embolie si les arbres n'étaient pas déshydratés au préalable (*i.e.* à des valeurs des potentiels hydriques inférieures à -1 MPa). En revanche, ces mêmes branches à un potentiel hydrique de -3 MPa, présentent une vulnérabilité accrue à la cavitation, avec jusqu'à 100% d'embolie après les 80-100 cycles gel-dégel.

Ainsi couplée à cette sécheresse hivernale, la superposition d'une succession de nombreux cycles gel-dégel peut renforcer la déshydratation des parties les plus distales du houppier de l'arbre (Mayr et al. 2007). En effet, la prise en glace des branches déconnecte le continuum hydraulique à l'intérieur de la plante et empêche ainsi l'équilibrage des potentiels hydriques (Mayr et Charra-Vaskou, 2007). Les pousses apicales prennent en glace en premier et semblent plus sensibles à l'embolie (Lemoine et al. 1999; Cochard et al. 2001). Par conséquent, le stress hydrique et le stress gélif peuvent induire une déshydratation des parties les plus distales de l'arbre et des potentiels hydriques très négatifs, amenant ainsi à un rougissement de l'aiguille.

d. Avril 2021 ; discussion de l'effet des gels printaniers sur des Douglas désacclimatés

Le mois d'avril 2021 a été marqué par d'importants gels printaniers : deux épisodes de plusieurs gels successifs, *i.e.* du 04/04 au 08/04 et du 12/04 au 17/04 avril 2021. Au moment des épisodes gélifs, les bourgeons n'étaient pas débourrés et la croissance primaire des rameaux ne semblait pas engagée. En revanche, la croissance cambiale avait repris depuis le 29 mars, soit 8 jours auparavant (Figure 57). Avant le débourrement et au moment de la reprise de croissance, une augmentation significative de la teneur en eau est observée au niveau des tissus en croissance (Lockart 1965). Le Douglas ne peut initier sa reprise de croissance que s'il est, préalablement, désacclimaté au froid. La désacclimatation se caractérise par la diminution des sucres solubles, qui en augmentant la température du point de congélation intracellulaire (pour une température moins négative), peut amplifier – en cas d'exposition à des épisodes gélifs - considérablement les dommages gélifs sur les bourgeons, les aiguilles et les cellules cambiales. Ainsi, le Douglas serait plus sensible au gel extracellulaire, qui pourrait induire du gel intracellulaire toujours mortel pour la cellule (Kalberer et al. 2006). Or, ce contexte de gels printaniers de 2021 et d'arbres désacclimatés au froid constituait un cadre intéressant pour l'étude de l'hypothèse 3, c'est-à-dire une désacclimatation précoce comme cause du rougissement hivernal.

L'aiguille est l'organe le plus sensible aux dommages gélifs en avril, avec une résistance au gel (LT50) plus faible que celle du rameau (Figure Sup 12). Les épisodes de gel ont atteint des valeurs autour de -8°C ; soit des valeurs susceptibles d'induire $\sim 40\%$ dommages cellulaires sur l'aiguille donc un potentiel brunissement de l'aiguille. Par conséquent, ce phénomène de prise en glace de l'eau à l'intérieur des rameaux a eu lieu au moment où les douglas étaient particulièrement sensibles aux dommages gélifs ET nous n'avons **pas observé de rougissement hivernal** ni dans le LF ni dans le LIM.

Les mesures de variations de diamètre nous ont permis de mieux visualiser l'impact de ces gels tardifs sur la croissance cambiale, le stress hydrique du Douglas ainsi qu'un endommagement potentiel des cellules cambiales (Figure 2). Les 4 contractions gélives de l'épisode gélif 1 sont accompagnées par un non-retour au diamètre initial pour les 3 derniers gels. Cette perte de diamètre peut être due à i) des dommages cellulaires ou à ii) un non-équilibre du potentiel hydrique en journée.

Les potentiels hydriques élevés ont été mesurés pour ces arbres au 08/04/21, à $\Psi = -1.34 \pm 0.08$ MPa, soulignant l'absence de contrainte hydrique dans ces Douglas. Le gel peut également endommager indirectement les aiguilles, les cellules du cambium et les trachéides en différenciation par une combinaison de déshydratation et de pression due à la formation de glace dans le compartiment apoplastique (Cavender-Bares 2005). Ainsi, des valeurs de potentiel hydrique inférieures à -2 MPa, valeur associée au P12 (Bond et Kavanagh 1999), auraient pu attester de la présence d'une contrainte hydrique générée par les épisodes gélifs. Or, ce n'est pas le cas. Du 09/04 au 12/04, une reprise de la croissance cambiale est observée. Pour rappel, la reprise en croissance cambiale est déterminée à partir

d'un accroissement de diamètre (c'est-à-dire que le diamètre du jour n-1 est inférieur à celui du jour n) pendant 6 jours successifs, comme présenté dans la Partie IV – chapitre 3 - § Matériel et Méthodes. Ces deux observations – potentiel hydrique entre -1 et -1.5 MPa et la reprise de croissance cambiale - attestent que la perte de diamètre liée à chaque cycle gel-dégel, serait induite par un non-retour immédiat en contenu en eau des tissus cambiaux mais pas à des dégâts cellulaires.

Lors du second épisode gélif, les cinq contractions gélives sont très marquées, interrompant la croissance secondaire pendant 5 jours. Cependant, comme la reprise de croissance est quasi-instantanée, nous en déduisons qu'il n'y a pas de lyse cellulaire sur les tissus cambiaux, et que les cycles gel-dégel ne sont pas un frein à la croissance secondaire, dans ce cas.

Nous pouvons ainsi conclure qu'il n'y a pas de lien de causalité direct entre la désacclimatation précoce et le rougissement hivernal du Douglas.

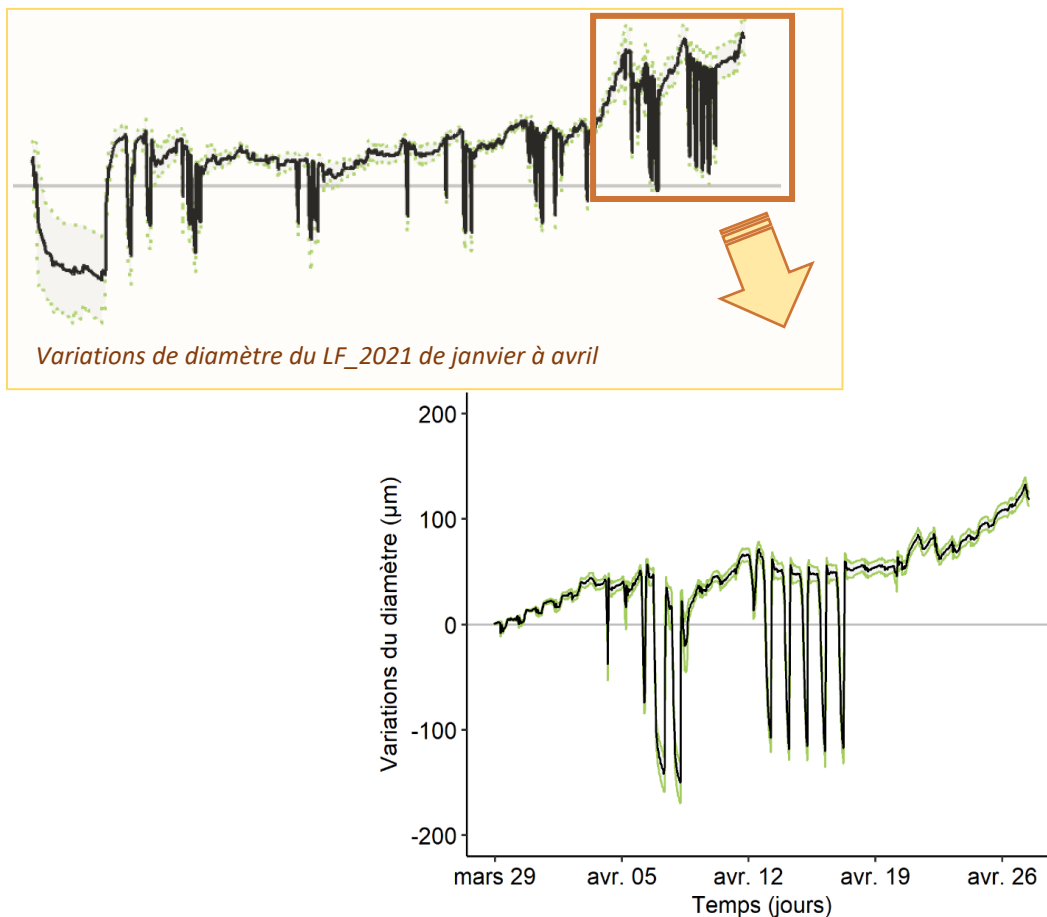


Figure 37 : variations de diamètre Livradois – Forez à partir du 1^{er} janvier 2021 jusqu'au 1^{er} mai 2021. Parcelle Nord. N=5

III. Conclusion, limites et perspectives

La comparaison des conditions climatiques entre 2021 et 2022 sur les parcelles du Livradois-Forez, permet de mettre en lumière **l'impact des conditions climatiques hivernales sur la physiologie du jeune Douglas**. En effet, un mois de janvier avec des températures journalières douces ($> 5^{\circ}\text{C}$), des températures de sol basses ($< 5^{\circ}\text{C}$), des gelées nocturnes ($< -3^{\circ}\text{C}$), des amplitudes thermiques très élevées (jusqu'à 19°C / jour) et une sécheresse de l'air (avec des taux d'humidité relative $< 50\%$ en journée) induit une contrainte hydrique sur les plantations de jeunes Douglas, telle qu'elle pourrait déclencher un rougissement hivernal. A cette situation, se rajoute i) une absorption racinaire limitée avec des températures du sol inférieures à 5°C , ii) des pertes hydriques cuticulaires journalières qui amplifient la déshydratation, même si les stomates sont totalement fermés. On peut penser que la succession d'épisodes « gel-dégel », en surimposition aux conditions précédentes pourraient augmenter ces pertes cuticulaires et générer des dysfonctionnements stomatiques. Dans ces conditions, le taux d'embolie du xylème peut augmenter et s'amplifier (emballement). Ainsi, le rougissement hivernal serait la conséquence d'une défaillance hydraulique, induisant la déshydratation de l'apex qui se propagerait de proche en proche à la base de l'arbre.

Il est à remarquer ici, que cette période calendaire de janvier semble tout particulièrement critique pour le rougissement hivernal. A la fois par les conditions climatiques que l'on peut rencontrer comme en LF en 2022, mais aussi parce que les températures du sol ont pu suffisamment diminuer en début d'hiver pour être inférieures au seuil critique de 5°C , qui bloque l'absorption hydrique.

Le mois avril 2021, a été caractérisé par de forts gels printaniers sur des Douglas désacclimatés. Comme ces gels ont eu lieu au moment où les Douglas étaient les plus vulnérables aux dommages gélifs et qu'aucune observation de rougissement n'a été notée, nous avons invalidé le mécanisme de désacclimatation précoce dans ce cas-là. Peut-être que des températures gélives plus basses ou qu'une période anticyclonique couplée à ce niveau de désacclimatation auraient pu augmenter la vulnérabilité de l'arbre au rougissement et induire un rougissement de l'aiguille quasi-instantanée, mais cette hypothèse serait à vérifier.

Malgré ces avancées claires dans la compréhension du rougissement hivernal, notre étude présente quelques limites, comme la disponibilité limitée en PépiPIAFs fonctionnels. En effet en LF, nous n'avons pu compter que sur six dendromètres valides sur les dix installés, sur toute la période temporelle. Cette non-disponibilité de tous les points de mesure ne nous a pas permis de traiter de l'effet de l'exposition sur le phénomène (point ressortant de l'ACP réalisée au chapitre 1), nous obligeant à traiter sans distinction d'exposition les données du LF.

Comme le nombre de PépiPIAFs disponibles était limité, nous n'avons pas pu suivre une dynamique de rougissement sur un arbre rougissant, la probabilité qu'il y ait un arbre rouge sur les 10 arbres instrumentés était faible. Nous avons eu l'opportunité d'avoir un arbre partiellement rouge dans

les arbres suivis mais comme le dendromètre était installé au-dessous du houppier rouge, il ne nous a pas donné d'informations sur le moment où le système « bascule ». In fine, cet arbre a repris sa croissance secondaire comme les autres arbres suivis et n'est pas mort à ce jour bien que présentant une importante descente de cime (Figure Sup 14).

Enfin, même si la cause principale réside en une défaillance hydraulique, on ne peut négliger la participation de d'autres facteurs susceptibles de favoriser la vulnérabilité au rougissement, comme souligné par la partie I de notre étude. Ces facteurs supplémentaires pourraient expliquer pourquoi certains Douglas rougissent alors que d'autres restent verts alors qu'ils subissent les mêmes conditions climatiques. Ainsi, une mauvaise plantation, en entraînant un mauvais ancrage racinaire au sol, est un facteur pouvant augmenter la vulnérabilité du Douglas au rougissement. Cette observation semble se confirmer sur le terrain dans les tournées réalisées avec le DSF au printemps 2022. Deux - trois arbres rouges par parcelles ont été arrachés et plus de 80% présentés des défauts racinaires (*i.e.* système racinaire en chignon etc.). Enfin, d'autres facteurs sylvicoles (*cf.* chapitre 1) comme un dégagement très important autour de certains arbres pourraient aussi les exposer plus certainement à des conditions climatiques extrêmes favorisant les risques de rougissement hivernal.

Dans tous les cas, il nous semble important à l'avenir d'instrumenter en continu et durant plusieurs années, avec des dendromètres de précision, comme le système PépiPIAF, diverses situations de plantation *in natura*. Le suivi en continu amène des informations déterminantes pour une meilleure compréhension du phénomène. L'utilisation des dernières versions de ces dendromètres (e-PépiPIAF, Capt Connect, France) permettant à la fois un suivi en temps réel (capteur connecté au réseau LoRa ou Sigfox), mais aussi l'enregistrement de données climatiques sur le même boîtier autonome (thermocouples, thermo/hygro, PAR, etc.) pourrait confirmer nos conclusions avec un suivi plus fin de la propagation du rougissement hivernal du Douglas.

Partie V

Conclusion & perspectives

“On a encore tant de chemin à parcourir”, soupira l'enfant.

“oui, mais regarde, on vient de si loin”, dit le cheval.

Charlie Mackesy



Les premières mentions de rougissement hivernal sur conifères ont été notées dès le début du XX^{ième} dans les forêts du Montana (Hedgcock, 1912) puis à partir des années 1950 en Scandinavie (Jalkanen 1993; Venn 1993), en Amérique du Nord (Henson 1952; Man et al. 2013) et en Europe centrale (données DSF ; Baubet et Goudet 2015). Les publications scientifiques ou forestières ne proposent pas de données « chiffrées » mais plutôt des données qualitatives sur l'ampleur et les dégâts causés par ce phénomène. Man et al. (2013) constitue une des seules données quantitatives en termes d'atteinte spatiale avec un rougissement hivernal, affectant 250 000 hectares de forêt dans le Nord-Ouest de l'Ontario. En France, la fréquence des épisodes de rougissement a augmenté dans les dernières décennies avec treize observations rapportées au cours depuis 1989 (données DSF).

Rappelons les objectifs de ce travail :

- 1) l'identification de l'aléa climatique pouvant entraîner le rougissement
- 2) une meilleure compréhension du mécanisme physiologique induisant ce phénomène.

Pour répondre au premier objectif, nous avons réalisé une analyse bioclimatique (Partie II) et mesuré le microclimat des parcelles dans le Massif Central dans le Livradois-Forez lors de deux hivers consécutifs, avec et sans rougissement. Ce phénomène est associé à des conditions **météorologiques anticycloniques** ; en janvier 2022, avec des températures journalières douces (> 5°C), des gelées nocturnes (< -3°C), des amplitudes thermiques très élevées (jusqu'à 19°C/ jour) et une sécheresse de l'air (des taux d'humidité relative <50% en journée). Nous retrouvons les mêmes paramètres climatiques en sortie de l'analyse bioclimatique, à l'exception des cycles gel-dégel. La vitesse du vent semble être aussi un paramètre climatique important mais nous n'avons pas pu la mesurer sur le terrain.

Afin de répondre au second objectif, visant à comprendre les causes physiologiques du rougissement hivernal chez le Douglas, nous avons décliné trois mécanismes potentiels non nécessairement exclusifs, à travers une revue de littérature (Partie I): i) défaillance hydraulique hivernale, ii) stress photo-oxydatif et iii) désacclimatation précoce. Ces divers mécanismes ont pu être appréhendés à travers des expérimentations menées en conditions contrôlées (Partie III) et sur le terrain (Partie IV). Un bilan sur les hypothèses précédemment énoncées, va être proposé dans cette conclusion.

I. Rappel des trois hypothèses (Partie I)

Une **défaillance hydraulique** pourrait être la conséquence d'une sécheresse hivernale *stricto sensu* c'est à dire liée à une contrainte hydrique de type édaphique *i.e.* induite par des températures froides du sol ($T_{SOL} < 7^{\circ}C$; Améglio et al. 1990 ; Mellander et al. 2006). En limitant fortement l'absorption racinaire, un sol froid pourrait limiter la ressource en eau tandis que des températures chaudes diurnes peuvent entraîner une transpiration élevée. A cette « sécheresse hivernale édaphique », peut se rajouter

des contraintes gélives ($T < -2^{\circ}\text{C}$; Špulák et Balcar 2013 ; Zimmerman 1964). La succession de cycles de gel-dégel peut induire la formation et l'expansion des bulles d'air d'une trachéide à l'autre (Mayr and Charra-Vaskou 2007 ; Mayr et al. 2007 ; Charrier et al., 2015) tandis que lors des journées chaudes, les pertes hydriques peuvent continuer passivement (Duursma et al. 2019), augmentant l'embolie du xylème. Ainsi, les aiguilles du Douglas pourraient se dessécher de l'apex vers la base des branches et du tronc, virant de l'orangé au brun-rouge.

Un stress photo-oxydatif est généré lorsque la cellule ne peut pas dissiper toute l'énergie lumineuse reçue en énergie photochimique et non photochimique. Malgré des mécanismes de photoprotection efficaces mis en place par les conifères (Chang et al. 2021), l'énergie lumineuse non prise en charge par ses mécanismes génère la formation et la propagation de ROS (espèces réactives de l'oxygène). L'accumulation de ROS peut endommager irréversiblement les membranes, les processus biochimiques *etc.*, ce qui peut induire la mort cellulaire (Petrov et al. 2015 ; Suzuki et al. 2012), dégradant la chlorophylle a, qui en se décomposant, entraînerait un changement de la couleur des aiguilles du vert au brun rougeâtre.

La désacclimatation précoce peut avoir lieu lors de températures chaudes diurnes pendant plusieurs jours successifs. Des changements de composition de l'aiguille (diminution de la teneur en glucides non structuraux avec une augmentation de la teneur en eau) élèvent la température du point de congélation intracellulaire, qui s'approche de 0°C . Ainsi, en cas d'exposition à des épisodes gélifs printaniers– la vulnérabilité aux dommages gélifs sur les bourgeons, aiguilles et cellules cambiales est fortement accentuée, induisant un rougissement de l'aiguille.

II. Apport du travail réalisé dans la validation de ces trois hypothèses

1. Invalidation des hypothèses 2 et 3

L'hypothèse d'un stress photo-oxydatif a été testée en conditions contrôlées (Partie III – Chapitre 1). Pour ce faire, nous avons exposé des jeunes douglas dormants en stress hydrique modéré, préalablement induit par des températures inférieures à 5°C couplées avec des températures de l'air supérieures à 14°C , à des intensités lumineuses supérieures à 1 800 PPFD pendant plus de 30 jours. Aucun photo dommage irréversible et de rougissement de l'aiguille n'ont été notés dans cette étude. En exposant les Douglas à une intensité lumineuse aussi élevée, nous avons dans l'idée de déclencher des désordres physiologiques importants et un rapide rougissement de l'aiguille. En effet, de telles valeurs correspondent à des valeurs d'intensités lumineuses mesurées lors de belles journées estivales en douglasaies. Le rayonnement reçu par des parcelles suivies du Livradois-Forez en hiver 2023, a été mesuré à environ 600 PPFD, soit trois fois moins que celui auquel les Douglas en conditions contrôlées ont été exposés.

Cette hypothèse n'a pas été testée - vérifiée *in natura*, car nous n'avions pas de capteurs de lumière PAR, mesurant l'intensité lumineuse reçue par les arbres lors des hivers à rougissement (en 2022, par exemple). En effet, les capteurs PAR ont été installés en LF en avril 2022 mais n'ont permis que la mesure d'un hiver sans rougissement (2023).

L'hypothèse d'une désacclimatation précoce a été, partiellement, testée *in natura* dans le LF lors de l'hiver 2021. En effet, les conditions climatiques hivernales dans les parcelles du LF sont telles que les Douglas sont désacclimatés fin mars, comme le souligne la reprise de croissance cambiale visible sur les PépiPIAF. Ainsi, comme les arbres sont totalement désacclimatés, ils seraient *a priori* dans l'état de vulnérabilité maximale aux dommages gélifs. Or, la première quinzaine d'avril est caractérisée par une période de gels printaniers. Les variations de diamètre ne montrent pas de dommages gélifs cambiaux tandis qu'aucun rougissement de l'aiguille n'est noté. Si ces observations ne permettent pas d'infirmer totalement l'absence de corrélation/ causalité entre la désacclimatation précoce et le rougissement, elles soulignent néanmoins que la physiologie hivernale de ce conifère ne semble pas le prédisposer à une vulnérabilité accrue à des gels printaniers.

Néanmoins, il serait intéressant de vérifier le lien entre le niveau de désacclimatation et la vulnérabilité à d'autres stress environnementaux. En effet, des Douglas partiellement désacclimatés seraient-ils plus vulnérables à une période anticyclonique ou à une contrainte hydrique hivernale édaphique ? Exposer des jeunes Douglas, à différents niveaux de désacclimatation au froid, à des contraintes hydriques de type édaphique et/ou gélive pourrait permettre de se rendre compte de l'impact du niveau de désacclimatation au froid sur la création/propagation du stress hydrique. A mesure que le niveau de désacclimatation augmente, il serait attendu une augmentation de la vitesse de déshydratation du Douglas.

2. Discussion autour de l'hypothèse 1

a. Etude de la sécheresse hivernale *stricto sensu* : une contrainte hydrique modérée

Cette hypothèse a été étudiée en conditions contrôlées dans le cadre d'une expérience préliminaire puis d'une expérience « à grande échelle » (Expériences préliminaires : Figure Sup 1 et 2 ; Partie III - Chapitre 1). L'expérience préliminaire (novembre 2021) a montré que des températures du sol à 2°C et des températures aériennes à 15°C, induisent une contrainte hydrique telle que l'absorption racinaire est quasi-nulle alors que la transpiration est maintenue à 20%. Cette contrainte hydrique est confirmée par la contraction du diamètre (200 µm) observée dans les 72h après exposition à ces conditions, à partir desquelles les variations de diamètre se stabilisent (Figure Sup 2) pendant les 10 jours que dure l'expérience. De telles conditions environnementales – Températures froides du sol avec

des températures chaudes aériennes – ont été testées en conditions contrôlées (pendant 45 jours) afin d'évaluer les potentiels désordres physiologiques induits par ces facteurs climatiques. La sécheresse hivernale a induit une contrainte hydrique modérée, en limitant fortement l'absorption racinaire (*cf.* Partie III – Chapitre 2). Malgré cette contrainte hydrique, les Douglas ont réussi à trouver un nouvel équilibre, permettant même une reprise de croissance. Nous avons joué sur les températures et intensités lumineuses ($T_{MAX} \sim 26^{\circ}C$ et des intensités lumineuses $> 1\ 800$ PPFD) afin d'augmenter la demande évaporative pour pousser la contrainte hydrique à son paroxysme. Les mesures de variation de diamètre ont néanmoins montré l'existence d'une contrainte hydrique modérée via une forte contraction de diamètre. Comme le diamètre d'avant contrainte hydrique est retrouvé quelques jours après exposition à basses températures du sol, l'absence de dysfonctionnement hydraulique conséquent est vérifié. De plus, aucun rougissement n'a été observé, invalidant l'hypothèse d'une sécheresse hivernale *stricto sensu* comme cause d'un rougissement des aiguilles.

b. Etude de la sécheresse hivernale *lato sensu* et du rougissement hivernal dans le LF 2022

L'analyse du microclimat sur les parcelles du LF, a mis en exergue des périodes anticycloniques pendant vingt jours en janvier 2022. Dix-neuf cycles gel-dégel ont été comptés en janvier, en alternance avec de la transpiration quotidienne, induisant une forte contraction du diamètre du tronc donc la déshydratation des cellules dites « élastiques » (Partie IV – Chapitre 3). Cette forte contrainte hydrique se propage depuis l'apex vers la base de la branche, ainsi que du haut du tronc vers le collet. Un arbre rouge présente une déconnexion hydraulique au niveau du tiers supérieur du tronc, avec des verticilles supérieurs entièrement embolisés alors que les verticilles inférieurs avaient des taux d'embolie inférieurs à 30% (Partie IV – Chapitre 2). Ainsi, pour comprendre au plus juste le mécanisme, cette répartition de l'embolie nous invite à raisonner dans un schéma dynamique des blocages de glace au niveau du xylème.

■ *Une sur-exposition de la couronne aux températures extrêmes*

La couronne (apex + verticilles supérieurs) est exposée à de plus grandes variations thermiques, des intensités lumineuses plus élevées et une vitesse du vent plus importante (Partie IV – Chapitre 1). Ainsi, elle peut être sujette à de nombreux cycles de gel-dégel, induisant de l'embolie, même chez les conifères dont les trachéïdes ont un diamètre nettement inférieur aux vaisseaux des angiospermes, supposées plus résistant à la cavitation que les angiospermes (Mayr et al. 2003; Pittermann et al. 2006; Sevanto et al. 2012). La prise en glace, elle-même, induit des tensions de sève plus élevées qui favorisent le déplacement de l'eau vers la formation de la glace et d'embolie ultérieurement, de préférence près des apex (Lemoine et al. 1999; Charrier et al. 2014).

La base de l'arbre étant protégée par la neige ou par la végétation d'accompagnement, il est souvent suggéré qu'elle connaisse moins d'épisodes gélifs ou de prises en glace du tronc, donc un taux d'embolie

moindre. Mayr et al. (2006) ont rapporté jusqu'à 115 cycles de gel par saison d'hiver dans une branche exposée au soleil, mais seulement 42 cycles dans le tronc basal d'un arbre *P. abies*.

- ***Prise en glace à la base des branches, remobilisation de l'eau et formation d'embolie dans les parties distales des branches***

La prise en glace induit une grande variabilité de potentiel hydrique dans l'arbre liée à l'existence de multiples sous-systèmes hydrauliques déconnectés les uns des autres. Ainsi, le schéma de pertes de conductivité à l'intérieur de l'arbre est très complexe (Mayr et Charra-Vaskou 2007).

La nucléation de la glace dans les branches se produit près de la base de la branche et se propage vers les extrémités distales (Charrier et al. 2017), et non depuis les parties les plus distales bien que ce soit elles qui connaissent les plus fortes amplitudes thermiques (Mayr et al. 2006). Ainsi, la nucléation de la glace dans la partie basale de la branche peut entraîner le déplacement de la sève encore liquide depuis l'extrémité distale vers les sites de nucléation, *i.e.* la base de la branche (Ball et al. 2006; Charra-Vaskou et al. 2016). Un gradient de potentiel hydrique et une plus grande embolie ont été observés dans des conditions similaires (Mayr et Charra-Vaskou 2007), pouvant expliquer la plus grande perte de conductivité hydraulique dans les verticilles supérieurs, par rapport à n'importe quelle autre partie du tronc (Partie IV – Chapitre 2 : § II.B.d). Néanmoins, il convient de mentionner qu'en plus des blocages de glace, l'embolie peut également déconnecter des sections adjacentes du xylème. Ainsi en journée, la sève des parties distales a probablement dégelé en premier en déconnectant hydrauliquement les rameaux de l'année précédente du reste de la plante. Par la suite, ces mêmes rameaux seraient amenés à connaître des niveaux plus élevés de stress hydrique induit par la transpiration et d'embolie par rapport aux parties basales (Lemoine et al. 1999).

- ***L'amplification de la contrainte hydrique par les conditions environnementales***

Il est probable que le mécanisme soit exacerbé dans les conditions du terrain. En effet, au crépuscule, les apex des arbres sont exposés à une température ambiante plus froide et gèlent plus tôt, alors que le matin, ils sont les premiers à être réchauffés par le soleil. Les changements de température sont plus importants dans les parties les plus exposées de l'arbre, c'est-à-dire celles où les aiguilles peuvent atteindre des températures nettement plus élevées que l'air pendant les journées d'hiver ensoleillées (Mayr et al. 2006). Ainsi, les pousses terminales sont plus vulnérables car elles sont plus exposées au soleil (intensité et durée) et aux basses températures, de façon presque concomitante. En dégelant très rapidement le matin, la remobilisation de l'eau dans la branche ne peut pas s'équilibrer de façon homogène *i.e.* une répartition similaire à celle précédant le (s) cycle(s) gel-dégel, dans les rameaux qui transpirent. La transpiration induisant des pertes en eau des aiguilles, dans un premier temps, aboutirait à une perte en eau importante sur des organes déjà déshydratés. De plus, la régulation

stomatique pouvant être défaillante en hiver (Duursma et al. 2019) et la perte d'eau cuticulaire pouvant être très élevée et augmentant avec l'altitude des parcelles (Herrick et Friedland 1991), la déshydratation diurne peut se trouver accrue en Livradois-Forez couplée avec la déshydratation gélive régulière. Une telle distribution spatiale de l'embolie dans la plante peut empêcher la propagation de l'embolie vers la base lorsque le sol est froid et l'absorption racinaire limitée.

Ainsi, les conditions environnementales diurnes et nocturnes interagissent donc dans la redistribution de l'eau au sein de la couronne de l'arbre, ce qui augmente de manière exponentielle la probabilité d'événement de cavitation. Des événements de cavitation qui ont lieu lors du gel, mais aussi du dégel, ce qui, au fil de nombreux cycles de gel-dégel, peut entraîner des niveaux élevés d'embolie hivernale (Mayr et al. 2003 ; 2006 ; 2007). Ainsi, une forte demande évaporative en journée, couplée à la succession des cycles gel-dégel, induit une diminution de la faible teneur en eau des pousses apicales, par remobilisation ou perte hydrique du houppier. Ainsi, la déshydratation des parties les plus distales peut être accélérée tandis que les basses températures du sol limitent l'absorption racinaire, contribuant à une déshydratation prononcée et, *in fine*, à un dépérissement.

■ *Perspectives*

Nous venons de voir que le rougissement hivernal du Douglas bien qu'initié par une déshydratation hivernale, semble induit par une très forte contrainte hydrique en lien avec une alternance de cycles gel-dégel nocturnes et de conditions favorisant la transpiration en journée. Pour valider définitivement cette synergie de conditions climatiques induisant le rougissement en conditions contrôlées, il nous faudrait exposer des jeunes Douglas dormants à des températures racinaires froides, des températures journalières douces (favorisant la transpiration) et des températures gélives nocturnes (inférieures à -3°C pour avoir une prise en glace du xylème) pendant 15-20 jours afin de simuler des conditions climatiques typiques des périodes anticycloniques. Afin de comparer l'impact d'une période anticyclonique sur des Douglas hydratés ou après un pré-conditionnement de stress hydrique, une partie de ces arbres devrait être préalablement déshydratée à P12 par exemple.

Le suivi des arbres avec nos mesures physiologiques (de PLC, de potentiel hydrique, d'humidité pondérale, d'échanges gazeux) pourrait permettre de mieux comprendre la séquence des événements qui conduisent aux désordres physiologiques menant au rougissement hivernal. Une attention particulière sera portée à la compréhension des pertes hydriques passives. En effet, une fermeture stomatique incomplète ou un développement inadéquat des cuticules des aiguilles pourraient être des facteurs qui conduisent à une augmentation des pertes d'eau par transpiration pendant l'hiver et, par conséquent, à un risque plus élevé de subir une sécheresse gélive, lors des hivers à rougissement. Ainsi, l'estimation des pertes cuticulaires sur des rameaux d'arbres en sécheresse hivernale *stricto sensu* et après plusieurs cycles GD sera pertinente. La drought box devrait nous permettre de telles mesures

(Billon et al. 2020). En cas de modification de la conductance cuticulaire avant/pendant/après, il serait éventuellement intéressant d'étudier la nature de la composition de la cuticule afin de voir comment en évolue la composition.

Sur le terrain, dans le cadre de cette étude, nous avons instrumenté les Douglas avec des PépiPIAFs au niveau de la base des arbres. Cependant, il y pourrait avoir plus de cycles GD au niveau de l'apex (Mayr et al. 2007). Ainsi, il serait intéressant d'installer au moins deux PépiPIAFs par arbres (un dans la couronne et un au collet) afin de comparer le nombre de cycles GD dans les deux zones du tronc et de confirmer le mécanisme précédemment énoncé. L'instrumentation d'un nombre plus important d'arbres et de parcelles, dans de nombreux contextes géographiques, permettraient d'affiner le portrait-robot des Douglasaies particulièrement vulnérables au rougissement en caractérisant, par exemple l'effet de l'exposition.

A partir de nos expérimentations, observations, raisonnements, nous expliquons le rougissement par une défaillance hydraulique causée par la formation/expansion de bulles d'air dans les trachéides du Douglas. Cette défaillance hydraulique sera favorisée par des contraintes hydriques induites par une transpiration quotidienne doublée d'épisodes gel-dégel successifs, ce qui entrainerait à la fois une remobilisation incomplète de l'eau dans la branche ainsi que d'importantes pertes hydriques non contrôlées. Ainsi, la déshydratation des parties les plus distales pourrait être accélérée tandis que les basses températures du sol pourraient ne permettre qu'une absorption très limitée, induisant un épuisement progressif des réserves hydriques du tronc.

III. La thèse dans le projet Doux-glace dans un contexte sylvicole

Ce travail permet de répondre à la question du mécanisme physiologique et de l'associer à des aléas climatiques particuliers. S'il manque des connaissances sur certains points bien précis (*cf.* : § précédent), la compréhension globale du mécanisme a été levée.

Un point important pour les gestionnaires aurait été de pouvoir prédire les parcelles ayant un fort potentiel à rougissement. Ce travail a été partiellement réalisé avec l'analyse bioclimatique. En effet, le risque de rougissement actuel a été représenté au niveau national. Si le risque de rougissement est plutôt bien en adéquation avec les observations à rougissement, il serait considéré comme faible en Livradois-Forez ou dans les Vosges, ce qui n'est pas le cas (Figure Sup 14). Ainsi, retravailler l'analyse bioclimatique, via une analyse à priori pourrait être intéressant et permettrait d'être plus critique vis-à-vis de l'analyse bioclimatique réalisée sans a priori. Ceci réalisé, nous pourrions cartographier le risque au niveau national et à une échelle parcellaire, ce qui serait un vrai atout pour les forestiers. Si le modèle représente bien le risque de rougissement en France, nous pourrions par la suite modéliser le risque pour les années à venir à l'aide des scénarios du GIEC *i.e.* les RCP 2,6 ; 4,5 ; 6.0 et 8.

Une approche différente c'est-à-dire non paramétrique avec des arbres de décision du type random Forest aurait pu permettre d'identifier différemment les conditions climatiques liées au rougissement et ainsi, de remettre en perspective la pertinence ou pas de l'utilisation des z-scores.

Il serait intéressant de modéliser ce risque de rougissement à diverses altitudes pour savoir où il serait pertinent, ou pas, de le planter. Aujourd'hui, les plantations de Douglas tendent à « grimper » en altitude. En effet, si dans les dernières décennies, le Douglas était planté à des altitudes maximales de 1100 m, il commence à être planté dans les Alpes et les Pyrénées, soit à des altitudes avoisinant les 1400 m.

Comme le montre le chapitre 1 de la partie IV, la gestion sylvicole est un facteur amplifiant le rougissement hivernal. Ainsi, les premiers hivers de plantation, une intervention sylvicole minimaliste est requise afin de préserver une ambiance forestière autour des jeunes Douglas et de limiter le risque de rougissement. Si un nettoyage de la parcelle est vraiment indispensable, il serait important de bien choisir le moment de l'année c'est-à-dire pas en sortie d'hiver, les Douglas pouvant déjà être stressés par les conditions climatiques environnementales. Une attention particulière devrait être accordée à la plantation des semis afin de prendre « soin » du système racinaire. Pour ce faire, prêter attention à la qualité de la plantation c'est-à-dire à ne pas écraser, « bourrer » le système racinaire au fond du trou - afin d'éviter la formation de chignon ou de crosse racinaire. Cela favoriserait une croissance racinaire correcte ainsi qu'un ancrage satisfaisant de l'arbre dans le sol, ce qui pourrait en limitant la contrainte édaphique, diminuer la contrainte hydrique hivernale donc l'ampleur du rougissement.

Un travail approfondi sur le lien entre les pratiques sylvicoles du Douglas en lien avec le rougissement apporterait des connaissances pour une gestion optimale des jeunes douglasaies. En effet,

des expérimentations en futaie régulières / irrégulières / régénération naturelle ou en plantations mélangées *in situ* pourrait apporter de nombreuses réponses pour une gestion sylvicole limitant le rougissement. Aujourd'hui le Douglas est principalement géré en futaie régulière équiennne, c'est-à-dire en plantation d'arbres du même âge, à densité de plantation bien définie. Des alternatives, comme la plantation en futaie irrégulière existe. Il s'agit de conduire la régénération naturelle de manière diffuse dans le temps et l'espace, ce qui amène à la présence d'arbres d'âges différents, d'hauteurs différentes au sein d'une même parcelle. Si une plantation en futaie irrégulière semblerait être une opération propice à l'évitement du rougissement (maintien d'un microclimat stable au niveau des semis de Douglas), les forestiers ont des inquiétudes et peu de recul sur ce type de gestion sur cette essence. A titre d'exemple, les gestionnaires craignent que la survie des semis de Douglas sous couvert, pendant plusieurs décennies, ne soit au prix d'une diminution de la croissance – le Douglas étant une essence de lumière – et de la qualité du bois. Un second aspect de la futaie irrégulière à prendre en compte serait la multiplication des rotations par rapport à une futaie régulière, ce qui complexifie la gestion forestière en augmentant les couts de gestion.

Néanmoins, il serait intéressant de mener des essaies de futaies irrégulières et de mélanges propices à une croissance optimale du Douglas (mélange Douglas – Hêtre, *cf. Introduction*) dans des zones connues pour être sensible au rougissement hivernal afin de caractériser de façon rigoureuse le lien futaie régulière et rougissement.

Annexes

"Je suis désolé de te dire ça mais je crois que tu as terminé." C'est terrifiant mais il a raison. Elle soupire et regarde par la fenêtre, où trois corbeaux ourdissent un plan complexe pour fondre sur sa poubelle à compost. "Qu'est-ce que je vais faire maintenant ?"

Il éclate d'un rire aussi franc que si elle avait fait une blague.

"Tu vas le recopier au propre et on va le poster à tes éditeurs. Avec quatre mois de retard.

- Je ne peux pas.

- Pourquoi ?

- Y a rien qui va. A commencer par le titre."

Richard Powers

Partie 1:

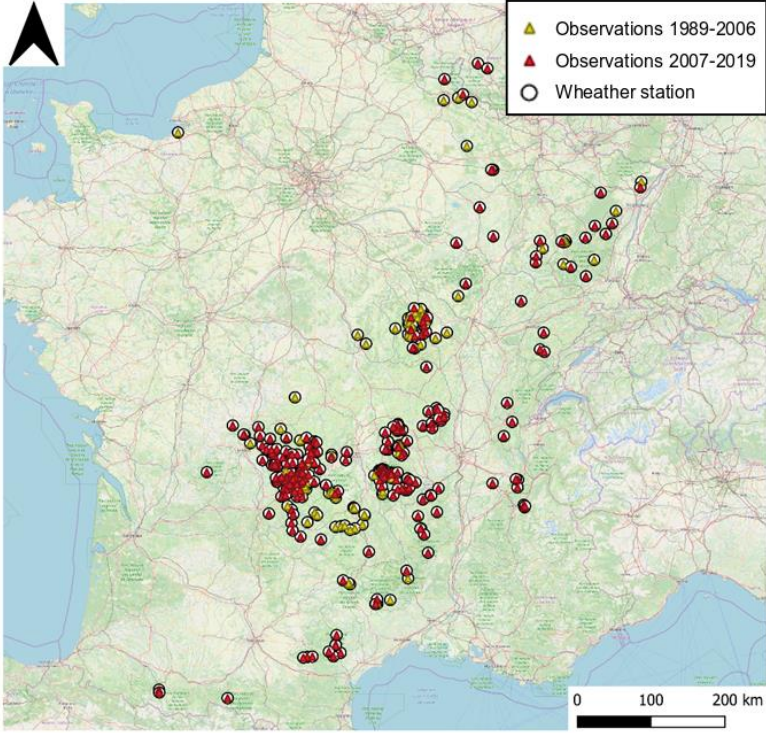


Figure sup 1 : Reddening stand locations in France between 1989 and 2019

Partie 2



DÉPARTEMENT DE LA SANTÉ DES FORÊTS



Fiche d'observation

V : veille sanitaire

Sous-type V : veille sanitaire / diagnostic-conseil / front processionnaire du pin *

Code CO	Date d'observation	Numéro de fiche
Fiche Parente	Raison du retour	

LOCALISATION	Relevé au GPS	OUI / NON *	Référentiel
	X Référentiel (ou longitude)*		Est / Ouest * Y référentiel (ou latitude)* Nord
	Département – commune		
	Propriété	Forêt domaniale/ Autre forêt publique/ forêt privée ou autre propriété *	

Type de peuplement	Essence dominante
Essence concernée	Nombre d'échantillons
Pourcentage de tiges concernées	% Sévérité (0 à 4)

ORDRE	PROBLEME (code problème à 7 caractères OU code problème à 7 caractères + 2 chiffres correspondants à l'année du dégât OU code symptôme à 7 caractères + code organe à 2 caractères)
1	
2	
3	
4	
5	

* : rayer la mention inutile

Informations complémentaires	Typologie du peuplement
Surface affectée : Pourcentage de tiges mortes : Age des arbres affectés : Altitude :	JP jeune plantation de moins de 10 ans ou peupleraie de moins de 5 ans PL plantation de 10 à 30 ans ou peupleraie de 5 à 10 ans SN semis naturel SA semis artificiel GA gaulis FA futaie adulte VF vieille futaie régulière FR futaie en régénération FS semis dans une futaie en régénération FI futaie irrégulière TA taillis TF mélange taillis futaie PE pépinière SE sous étage AI arbres isolés ou alignements ou haies CH chablis AB arbres abattu DE bois débarqués (sur place à dépôt) HB : hors matériel ligneux
Raisons du retour sur une placette DIAG : Identification d'un problème non déterminé CONS : Identification d'un problème et conseil au gestionnaire QUAR : Suspicion d'organisme de quarantaine VERI : Vérification de données AGGR : Aggravation d'un problème préexistant	
Notation de la sévérité du problème (pour les tiges concernées, en rapport avec le type de dommages)	
0 – sévérité nulle : pas de dommage (pas de problème ou seulement des signes de présence) 1 – faible sévérité : atteinte très limitée des houppiers (10 %) ou quelques chancres sur les branches ou faibles dommages corticaux sur le tronc ou quelques colonies d'insectes visibles sur les troncs 2 – sévérité moyenne : atteinte moyenne des houppiers (moins de 50 %) ou quelques branches fines mortes dans les houppiers ou chancres nombreux sur les branches ou quelques chancres limités sur les troncs ou dommages corticaux (pourritures, décollements d'écorce) limités sur les troncs ou colonies d'insectes très visibles sur les troncs 3 – problème sévère : atteinte forte des houppiers (de 50 à 80 %) ou branches mortes très visibles dans les houppiers (chancres très nombreux sur les branches) ou chancres nombreux sur les troncs ou dégradations significatives des troncs (pourritures, décollements d'écorce) mais avec un impact économique significatif ou colonies d'insectes très importantes sur les troncs, des doutes quant à l'avenir des tiges atteintes 4 – problème très sévère : atteinte très forte des houppiers (plus de 80 %) ou branches mortes très nombreuses dans les houppiers ou dégradations importantes des troncs (chancres, pourritures, décollements d'écorce) ou dépérissement avancé ou mortalité.	

Version 2020

Figure sup 2 : Fiche d'observation type des correspondants- observateurs du Département de la Santé des Forêts.

▪ **Estimation du pourcentage d'arbre atteint :**

Le pourcentage d'arbre atteint par le rougissement a été estimé au niveau de la plantation en comptant le nombre de Douglas rouges présents sur 10 quadrats de 15 douglas.

Le point de départ de ce comptage était un arbre affecté par le phénomène en bord de parcelle. Ensuite, les observations sont réalisées sur 10 grappes présentes sur une distance de 200 m ; le maillage a pu être adapté à la forme et à la taille de la parcelle. En effet, la distance de 200 m pouvait correspondre au périmètre de la plantation comme à l'équivalent d'un « demi-périmètre ». L'effet « planteur » a été limité en inventoriant les arbres sur 3 lignes distinctes.

Une caractérisation plus fine des tiges atteintes peut être réalisée à l'aide de la catégorisation suivante pour décrire l'état de chaque tige annotée.

Code	Description des Douglas atteints ou non
0	Arbre vivant sans problème
1	Vivant avec perte foliaire de type rouille suisse
2	Mortalité de cime sans remise en place de l'avenir de la tige
3	Arbre rouge mais base vivante
4	Arbre totalement rouge
5	Arbre vivant penché ou couché
6	Arbre penché et rouge
7	Frottis vivant
8	Frottis rouge
9	Autres
10	Mort ancien (hors comptage des tiges)

▪ **Estimation de la sévérité du rougissement :**

La sévérité du rougissement est estimée à l'aide d'une grille de notation de 0 à 4, soit une atteinte nulle à une atteinte très importante de la tige considérée (Figure sup 2). Il est essentiel de préciser que le critère de la sévérité est caractérisé par l'atteinte des tiges atteintes, *i.e.* concernées par le rougissement des aiguilles.

Partie 3 - chapitre 1

Preliminary experimentation to test the combined effect of low soil temperatures and warm temperatures on Douglas-fir seedlings.

To characterize the physiology of Douglas-fir exposed to various cold soil temperatures, preliminary data experimentations were carried out with a warm aerial temperature (15°C) and various soil temperature (2°C, 4°C, 8°C, 15°C). Three Douglas-fir seedlings (1 year) per conditions were maintained for 15 days in a controlled chamber (Aralab) with a constant air temperature of 15°C, photoperiod 12h of light (300-400 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), and air humidity at 80%.

Preliminary data confirmed that low soil temperatures combined with warm air temperature generated hydraulic stress on Douglas-fir (Figure Sup 1).

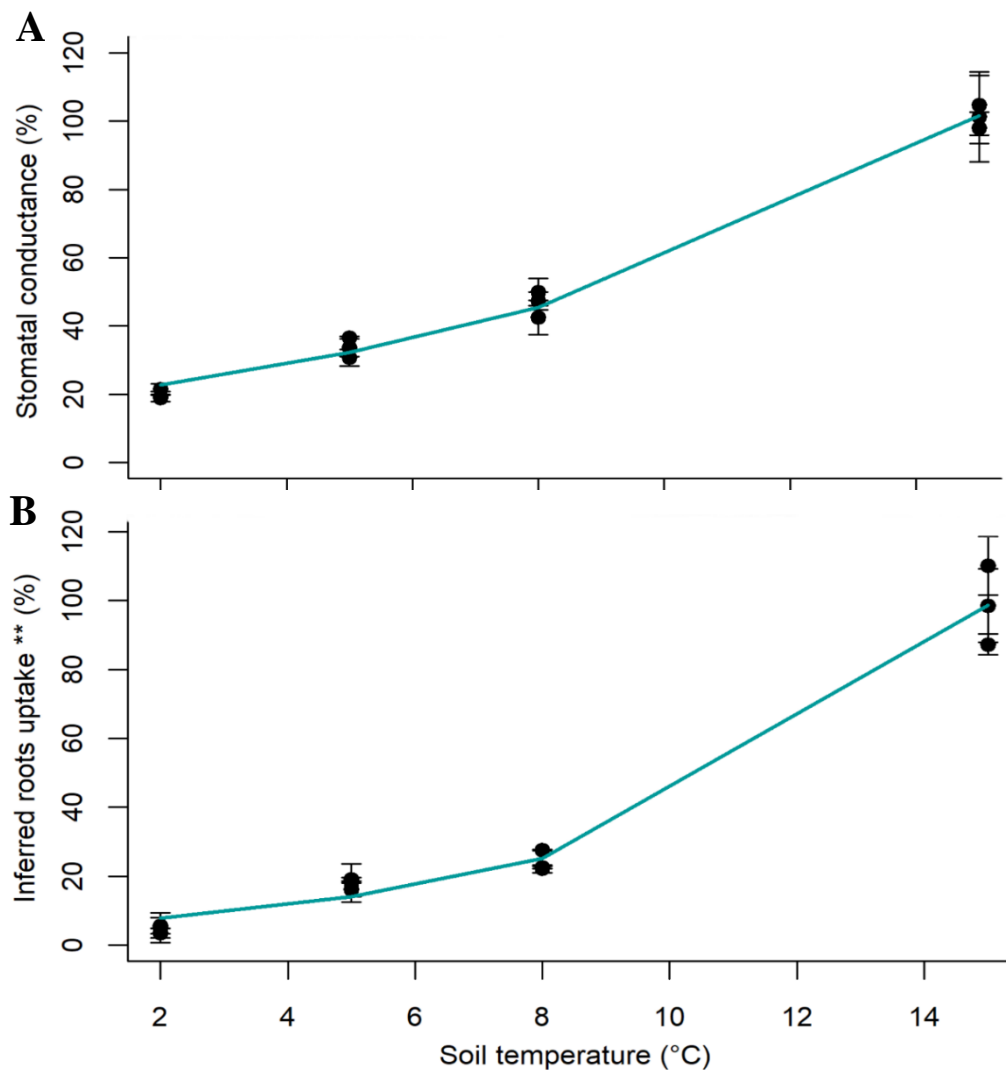


Figure Sup 3: Impact of soil temperatures on stomatal conductance (A) and deduced roots uptake (B). ** Roots uptake is deduced from the amount of water evaporated and transpired by the plant-pot system, obtained by the daily difference in weight of the plant-pot system. The pot was covered by a plastic film to limit water loss on transpiration by Douglas-fir. n=3 for T=15°C, T=8°C, T=5°C, T=2°C

Roots water uptake and stomatal conductance are reduced by 75% and 45% respectively at low soil temperatures (8°C) compared to the soil temperature at 15°C (Mellander, 2006). Preliminary results showed that temperatures between 2 and 5°C inhibited 90% of root water uptake and 75% of stomatal conductance. Therefore, we decided to keep the soil at 3-4°C for the present study (Partie III – chapitre 1)

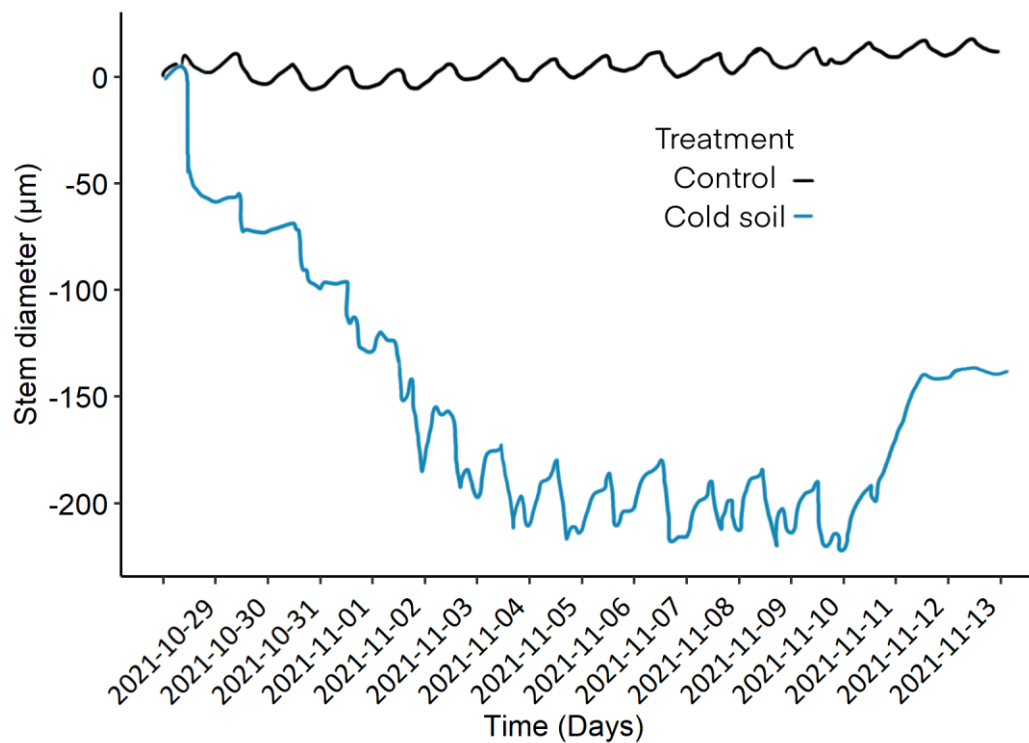


Figure Sup 4 : Effect of cold soil temperatures ($T_{soil} = 2^{\circ}C$) on normalized stem diameter. Data measured with dendrometers. Black: Douglas-fir at $T_{soil} = T_{air} = 15^{\circ}C$ and blue Douglas fir at $T_{soil} = 2^{\circ}C$ (Constant soil temperature at $2^{\circ}C$ from the 03/11/2021 until the 10/11/2021 when temperatures were increased as the control) and $T_{air} = 15^{\circ}C$.

Low soil temperatures cause a strong shrinkage of the stem diameter (about $200\mu m$), while the stem diameter of the control remains around 0. As pointed out by Cochard et al., 2001, the small variations in diameter are correlated with the difference in water potential between bark and xylem, thus providing information on the water status of the tree and its daily growth. As the trees sampled in this experiment had completed their growing season, the growth component was excluded from the signal. Thus, the use of dendrometers to understand hydraulic dynamics at low soil temperatures ($T_{soil} = 2^{\circ}C$) and air temperatures of Douglas fir ($T_{air} = 15^{\circ}C$) is relevant.

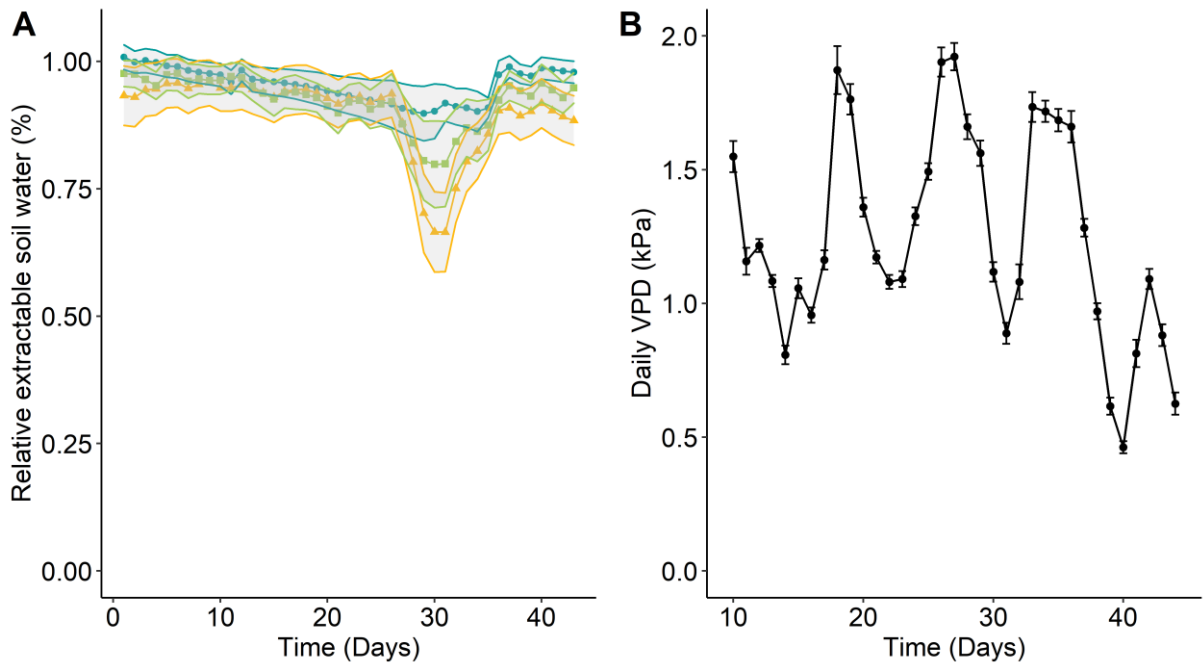


Figure Sup 5 : Relative extractable water (REW) and Vapour-pressure deficit (VPD) in the greenhouse during the experimentation. Control (green), Cold Soil (blue), Cold Soil + High light (orange)

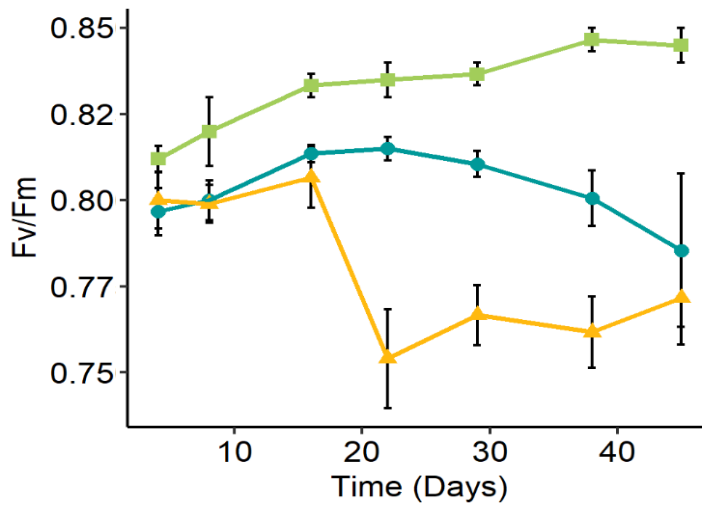


Figure Sup 6 : Effect of cold soil temperatures or/and high light intensity on Fv/Fm of Douglas fir during the experimentation. Mean \pm SE, $n \geq 3$ for control and $n \geq 5$ for CS and CSHL treatment.

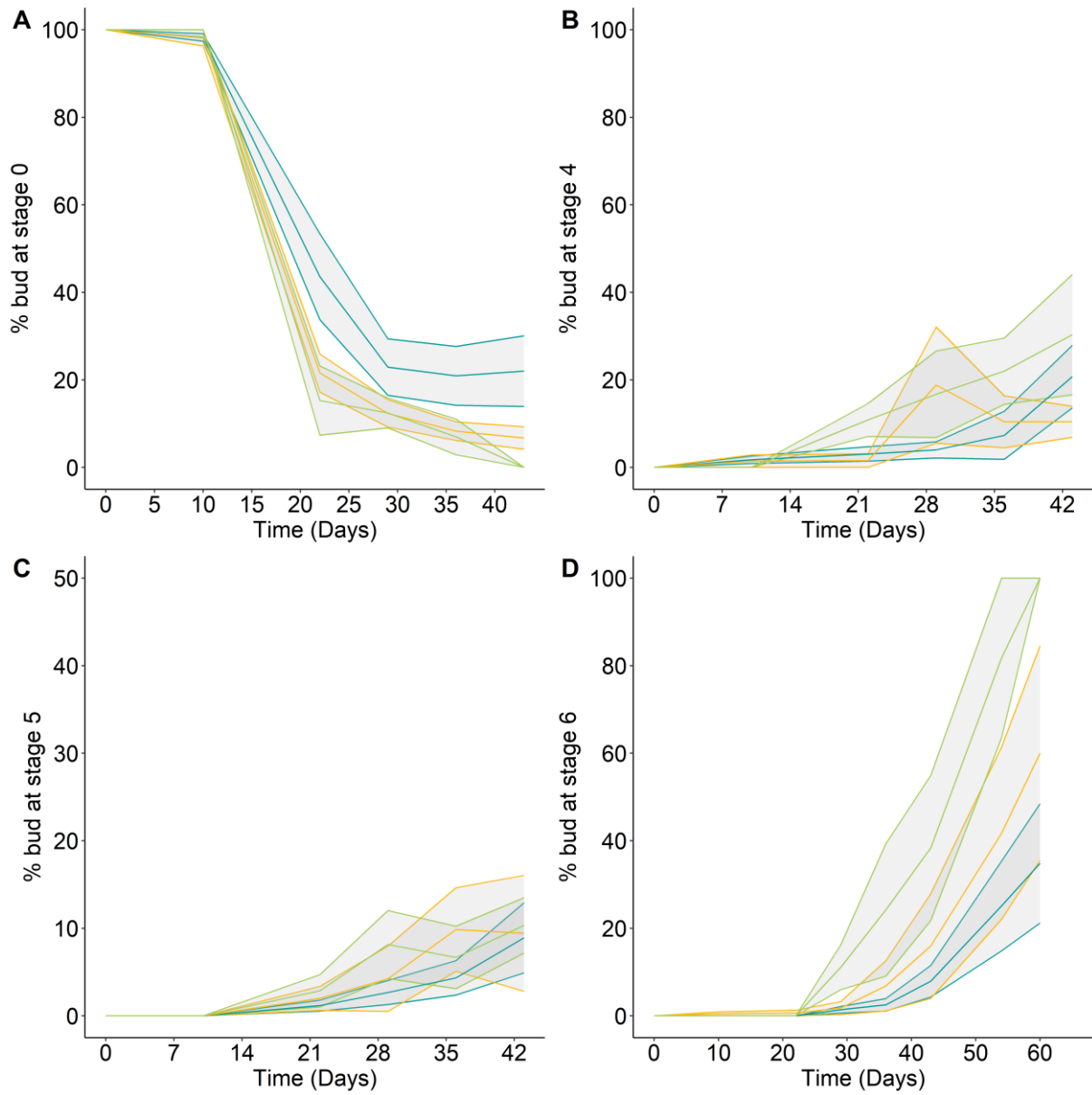


Figure Sup 7 : Effect of cold soil temperatures or/and high light intensity on the primary growth. A: primary growth through phenological stage 0. B: primary growth through phenological stage 4 C: primary growth through phenological stage 5. D: primary growth through phenological stage 6. Mean \pm se.

Treatment	Growth resumption	Secondary growth	Phenological stages	Lenght of
	(day)	day 45 (µm)	day 45	terminal shoot (cm)
Cold Soil	25.5 ± 1.1	355.5 ± 55	4.5 ± 0.66	15.54 ± 6.92
Cold soil+ High light	21 ± 2.2	678 ± 79	2.3 ± 0.67	6.8 ± 3.03
Control	13.6 ± 0.8	660 ± 65	5 ± 0.57	29.4 ± 4.33
Cold soil: Control	0.038 *	0.024 *	0.0016 **	0.000644 ***
Cold soil: Cold soil+HL	0.00001****	0.0308 *	0.000784 ****	0.0097 **
Control: Cold soil+HL	0.404 ns	0.9 ns	1 ns	0.00000482 ****

Figure Sup 8 : Effect of the treatment on secondary growth resumption, on secondary growth and phenological stage on day 45, and on length of terminal shoot. Mean ± se.

Day	Day 14		Day 31		Day 45	
	Starch	Soluble carbohydrates	Starch	Soluble carbohydrates	Starch	Soluble carbohydrates
CS	27.2 ± 1.07	144.5 ± 4.29	45.7 ± 12.57	110.6 ± 5.9	37 ± 10.48	80.2 ± 4.82
CS+ HL	20.4 ± 4.22	124.1 ± 3.91	38.4 ± 6.64	109.5 ± 3.82	64.2 ± 16.99	82.9 ± 4.56
C	4.8 ± 2.29	116.3 ± 2.35	5.26 ± 1.07	90.38 ± 1.68	13.6 ± 1.75	73.3 ± 2.35
CS: C	0.0147 *	0.0253 *	0.0025**	0.0253 *	0.123 ns	0.635 ns
CS: CS+ HL	0.066 ns	0.49	0.201 ns	0.992	0.32 ns	0.878 ns
C: CS+ HL	0.711	0.0741 ns	0.0475*	0.0169*	0.0221 *	0.441 ns

Figure Sup 9 : Effect of the treatment on secondary growth resumption, on starch soluble carbohydrates on days 14, 31 and 45. Mean ± se.

-

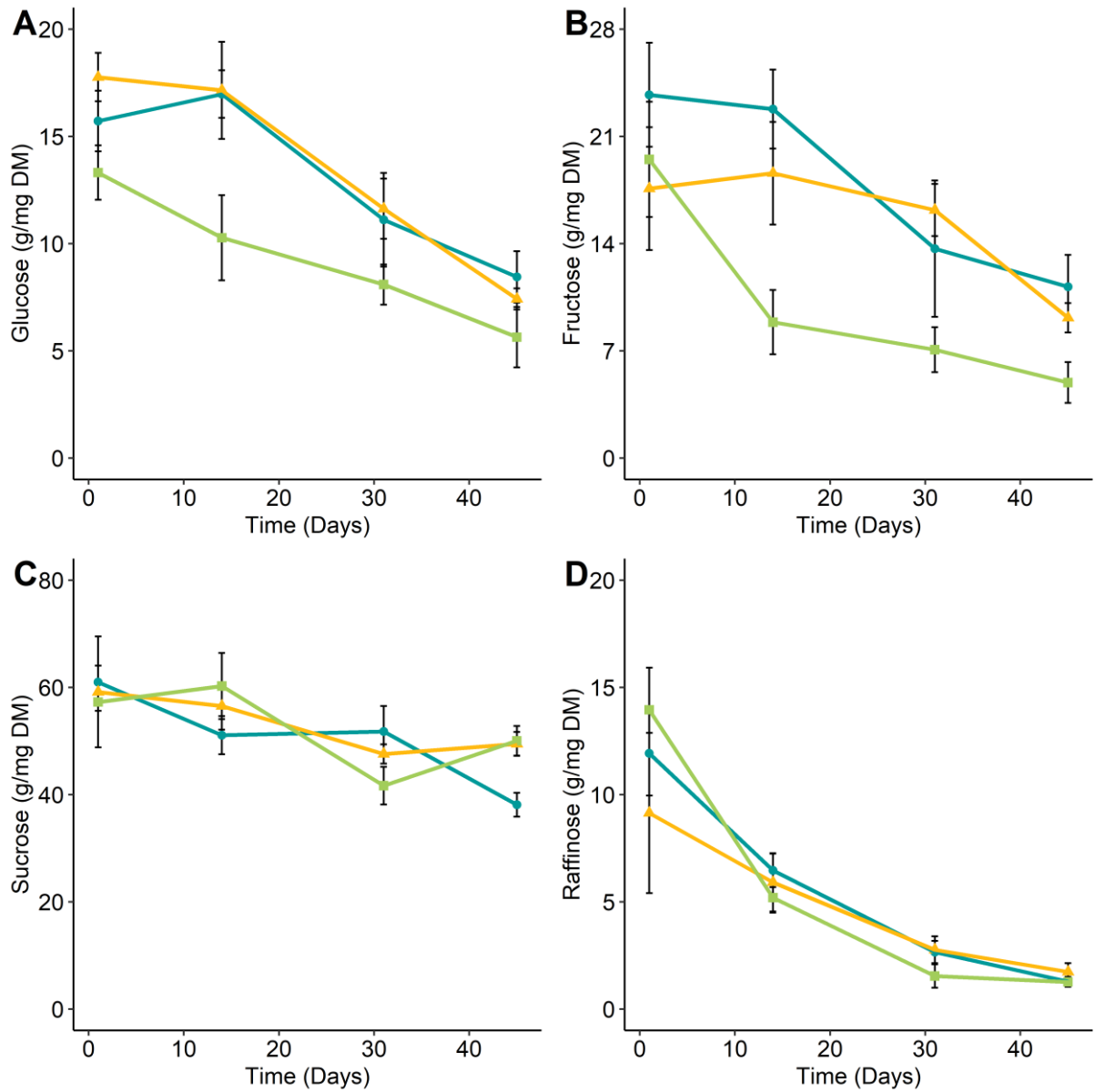


Figure Sup 10 : Effect of cold soil temperatures or/and high light intensity on soluble carbohydrates content in Douglas-fir needles. Mean \pm SE. Control (green), Cold Soil (blue), Cold Soil + High light (orange) A: Glucose content. B: Fructose content. C: Sucrose content. D : Raffinose content.

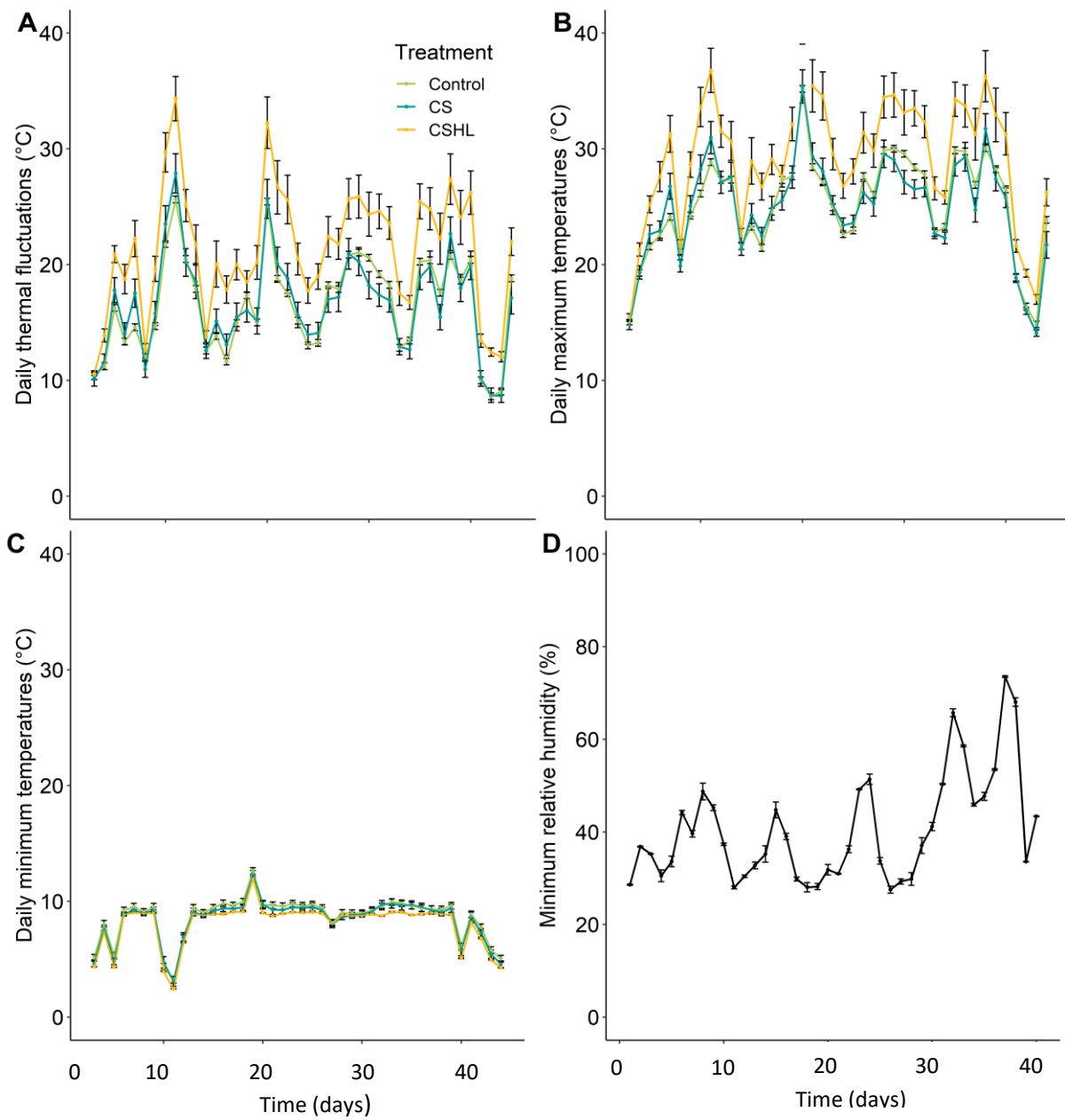


Figure Sup 11 : Effect of cold soil temperatures or/and high light intensity on soluble carbohydrates content in Douglas-fir needles. Mean \pm SE. Control (green), Cold Soil (blue), Cold Soil + High light (orange)

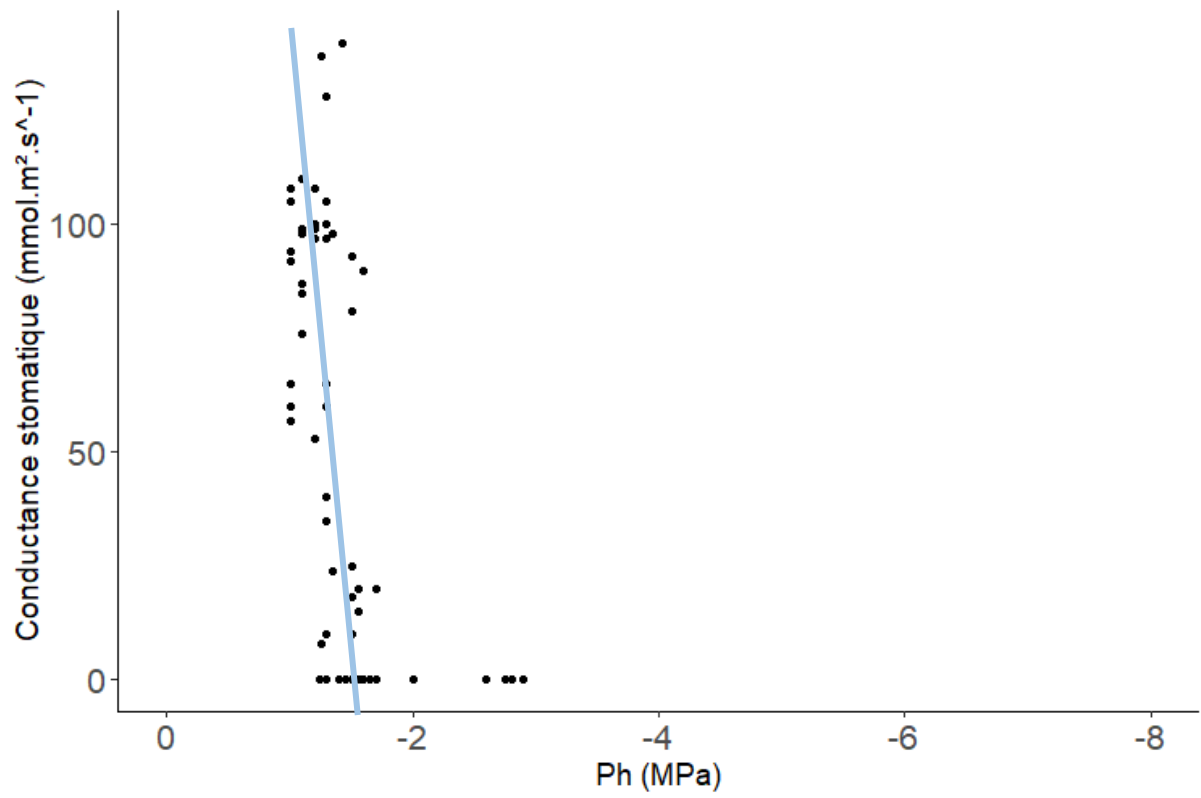


Figure Sup 12 : Evolution de la conductance stomatique en fonction du potentiel hydrique ($Ph \sim \Psi$). Fermeture stomatique pour $\Psi = -1.55 \pm 0.05$ MPa.

Partie 4

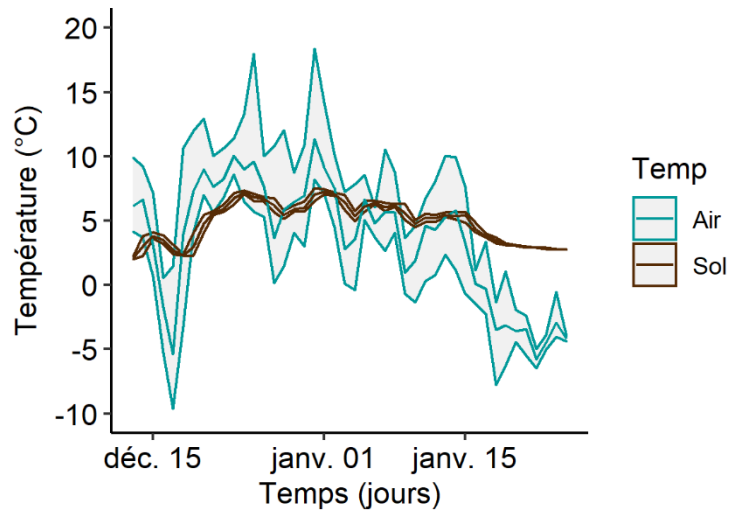


Figure Sup 13 : Etude de la température de l'air et du sol 2023 dans le LF de décembre à janvier.

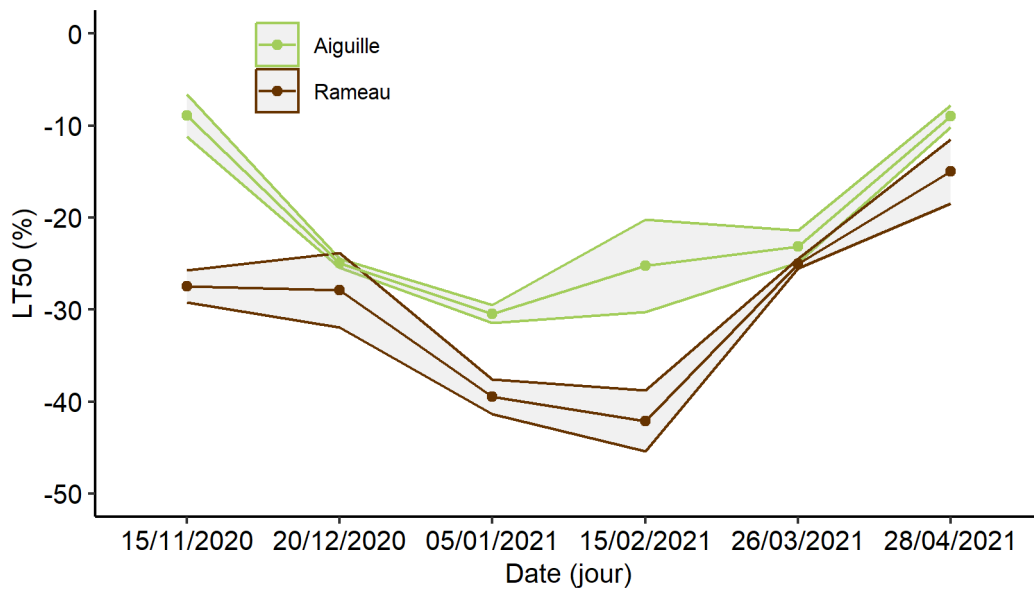


Figure Sup 14 : Mesure de la résistance au gel dans les aiguilles et les rameaux de l'année pendant l'hiver 2020-2021 sur les douglas de la plate-forme de l'INRAe. Par date, $n = 5 - 10$ douglas, Moyenne \pm SE. La mesure de la résistance au gel est estimée via la LT50 (Lethal Temperature pour lequel la fuite d'électrolytes – associée à un taux de dommages cellulaires – est mesurée à 50%).

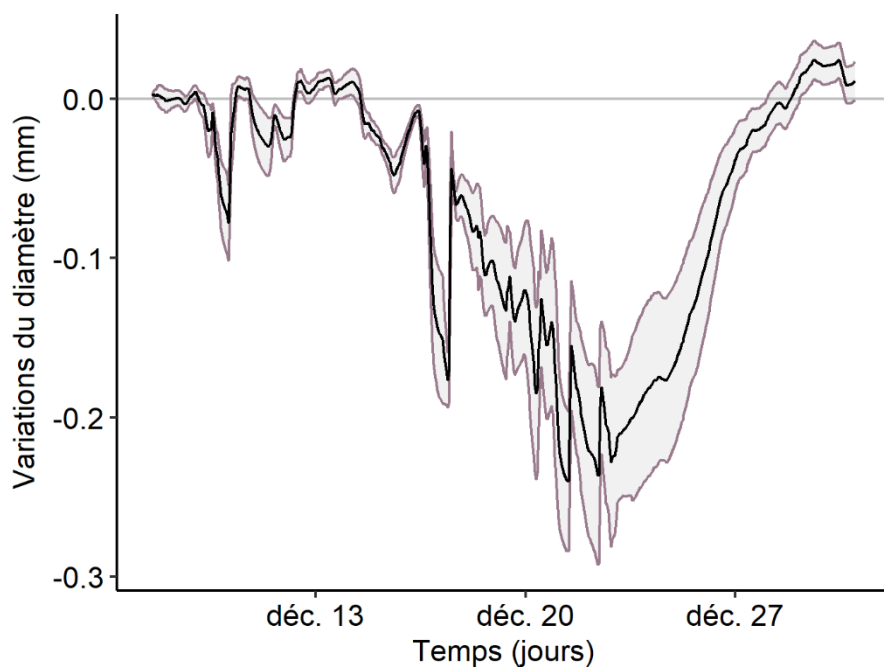


Figure Sup 15 : Mesure des variations de diamètre au mois de décembre 2022 dans le LF. N= 6. Moyenne \pm se.

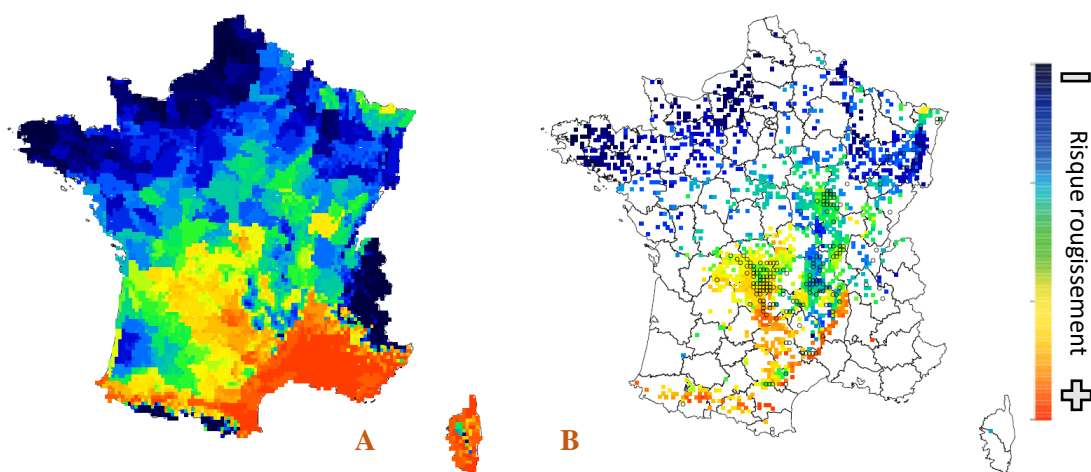


Figure Sup 16 : Zones de risque de rougissement sur la France entière (A) en orange (risque très élevé) et en bleu foncé (pas de risque). B : zones de risque limitées aux zones ayant des plantations.

Références

- Adams, WW Iii, B. Demmig-Adams, A. S. Verhoeven, et D. H. Barker. 1995. « “Photoinhibition” During Winter Stress: Involvement of Sustained Xanthophyll Cycle-Dependent Energy Dissipation ». *Functional Plant Biology* 22 (2): 261-76. <https://doi.org/10.1071/pp9950261>.
- Allen, Craig D., Alison K. Macalady, Haroun Chenchouni, Dominique Bachelet, Nate McDowell, Michel Vennetier, Thomas Kitzberger, 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 (4): 660-84. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2009.09.001>.
- Ameglio, T., C. Bodet, A. Lacoïnte, et H. Cochard. 2002. « Winter Embolism, Mechanisms of Xylem Hydraulic Conductivity Recovery and Springtime Growth Patterns in Walnut and Peach Trees ». *Tree Physiology* 22 (17): 1211-20. <https://doi.org/10.1093/treephys/22.17.1211>.
- Améglio, Thierry, Christian Bodet, André Lacoïnte, et Hervé Cochard. 2002. « Winter embolism, mechanisms of xylem hydraulic conductivity recovery and springtime growth patterns in walnut and peach trees ». *Tree Physiology* 22 (17): 1211-20. <https://doi.org/10.1093/treephys/22.17.1211>.
- Améglio, Thierry, Hervé Cochard, et Frank W. Ewers. 2001. « Stem diameter variations and cold hardiness in walnut trees ». *Journal of Experimental Botany* 52 (364): 2135-42. <https://doi.org/10.1093/jexbot/52.364.2135>.
- Ameglio, Thierry, J. Morizet, P. Cruiziat, et Michel Martignac. 1990. « The Effects of Root Temperature on Water Flux, Potential and Root Resistance in Sunflower ». *Agronomie* 10 (4): 331.
- Anderegg, William R. L., Jeffrey A. Hicke, Rosie A. Fisher, Craig D. Allen, Juliann Aukema, Barbara Bentz, Sharon Hood, et al. 2015. « Tree Mortality from Drought, Insects, and Their Interactions in a Changing Climate ». *New Phytologist* 208 (3): 674-83. <https://doi.org/10.1111/nph.13477>.
- Angelier A (2007) French Douglas-fir forests. Office National des Forêts, Paris, p 296 (in French)
- Aussenac, Gilbert. 2000. « Interactions between Forest Stands and Microclimate: Ecophysiological Aspects and Consequences for Silviculture ». *Annals of Forest Science* 57 (3): 287-301. <https://doi.org/10.1051/forest:2000119>.
- Baffoin, Romain, Guillaume Charrier, Anne-Emilie Bouchardon, Marc Bonhomme, Thierry Améglio, et André Lacoïnte. 2021. « Seasonal changes in carbohydrates and water content predict dynamics of frost hardiness in various temperate tree species ». *Tree Physiology* 41 (9): 1583-1600. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpab033>.
- Bailey, J. D., et C. A. Harrington. 2006. « Temperature Regulation of Bud-Burst Phenology within and among Years in a Young Douglas-Fir (*Pseudotsuga Menziesii*) Plantation in Western Washington, USA ». *Tree Physiology* 26 (4): 421-30. <https://doi.org/10.1093/treephys/26.4.421>.
- Bajji, Mohammed, Jean-Marie Kinet, et Stanley Lutts. 2002. « The Use of the Electrolyte Leakage Method for Assessing Cell Membrane Stability as a Water Stress Tolerance Test in Durum Wheat ». *Plant Growth Regulation* 36 (1): 61-70. <https://doi.org/10.1023/A:1014732714549>.
- Ball, M. C., M. J. Canny, C. X. Huang, J. J. G. Egerton, et J. Wolfe. 2006. « Freeze/Thaw-Induced Embolism Depends on Nadir Temperature: The Heterogeneous Hydration Hypothesis ». *Plant, Cell & Environment* 29 (5): 729-45. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2005.01426.x>.
- Barigah, Tête Sévérien, Olivia Charrier, Marie Douris, Marc Bonhomme, Stéphane Herbette, Thierry Améglio, Régis Fichot, Frank Brignolas, et Hervé Cochard. 2013. « Water stress-induced xylem hydraulic failure is a causal factor of tree mortality in beech and poplar ». *Annals of Botany* 112 (7): 1431-37. <https://doi.org/10.1093/aob/mct204>.
- Bastien Jean Charles,. 2020. « Potential of Douglas-Fir under Climate Change ». In *Douglas-Fir - an Option for Europe*, édité par Valeriu-Norocel Nicolescu, 11:5. What Science Can Tell Us. European Forest Institute. <https://doi.org/10.36333/wsctu11>.

- Bastien, Jean-Charles, Leopoldo Sanchez, et Daniel Michaud. 2013. « Douglas-Fir (*Pseudotsuga Menziesii* (Mirb.) Franco) ». In *Forest Tree Breeding in Europe: Current State-of-the-Art and Perspectives*, édité par Luc E Pâques, 325-69. Managing Forest Ecosystems. Dordrecht: Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-6146-9_7.
- Bastien (1998) Douglas-fir silviculture. In: *Silviculture of conifer species*, Ecole Nationale du Génie Rural, des Eaux et des Forêts, Nancy, pp 10–19 (in French)
- Baubet Olivier, Goudet Morgane. 2015. « Enquête sur le rougissement physiologique du douglas dans le Massif central ». Bilan de la santé des forêts en 2014. https://agriculture.gouv.fr/sites/minagri/files/article_rougissement_physiologique.pdf.
- Bella I. E., Navrati S. 1987. « Growth losses from winter drying (red belt damage) in lodgepole pine stands on the east slopes of the Rockies in Alberta ». 1987. <https://cdsciencepub.com/doi/abs/10.1139/x87-199>.
- Billon, Lise M., Chris J. Blackman, Hervé Cochard, Eric Badel, Adnane Hitmi, Julien Cartailleur, Romain Souchal, et José M. Torres-Ruiz. 2020. « The DroughtBox: A New Tool for Phenotyping Residual Branch Conductance and Its Temperature Dependence during Drought ». *Plant, Cell & Environment* 43 (6): 1584-94. <https://doi.org/10.1111/pce.13750>.
- Black, Bryan A., David C. Shaw, et Jeffrey K. Stone. 2010. « Impacts of Swiss needle cast on overstory Douglas-fir forests of the western Oregon Coast Range ». *Forest Ecology and Management* 259 (8): 1673-80. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2010.01.047>.
- Bond, Barbara J., et Kathleen L. Kavanagh. 1999. « Stomatal behavior of four woody species in relation to leaf-specific hydraulic conductance and threshold water potential ». *Tree Physiology* 19 (8): 503-10. <https://doi.org/10.1093/treephys/19.8.503>.
- Bonfils, Marc. 2011. « Permaculture ». <https://www.permatheque.fr/wp-content/uploads/2015/09/Marc-Bonfils-Permaculture.pdf>.
- Bouche, Pauline S., Steven Jansen, Julia Cruz Sabalera, Hervé Cochard, Régis Burlett, et Sylvain Delzon. 2016. « Low Intra-Tree Variability in Resistance to Embolism in Four Pinaceae Species ». *Annals of Forest Science* 73 (3): 681-89. <https://doi.org/10.1007/s13595-016-0553-6>.
- Bouriaud, O., N. Bréda, G. Le Moguédec, et G. Nepveu. 2004. « Modelling Variability of Wood Density in Beech as Affected by Ring Age, Radial Growth and Climate ». *Trees* 18 (3): 264-76. <https://doi.org/10.1007/s00468-003-0303-x>.
- Boyce, John S. 1954. « Hypoderma Needle Blight of Southern Pines ». *Journal of Forestry* 52 (7): 496-98. <https://doi.org/10.1093/jof/52.7.496>.
- Bréda, Nathalie, et Vincent Badeau. 2008. « Forest tree responses to extreme drought and some biotic events: Towards a selection according to hazard tolerance? ». *Comptes Rendus Geoscience, Ecosystèmes et événements climatiques extrêmes*, 340 (9): 651-62. <https://doi.org/10.1016/j.crte.2008.08.003>.
- Bréda, Nathalie, et Marianne Peiffer. 2014. « Vulnerability to Forest Decline in a Context of Climate Changes: New Prospects about an Old Question in Forest Ecology ». *Annals of Forest Science* 71 (6): 627-31. <https://doi.org/10.1007/s13595-014-0411-3>.
- Brodersen, Craig, et Andrew McElrone. 2013. « Maintenance of xylem Network Transport Capacity: A Review of Embolism Repair in Vascular Plants ». *Frontiers in Plant Science* 4. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2013.00108>.
- Brodribb, Tim J., et Hervé Cochard. 2009. « Hydraulic Failure Defines the Recovery and Point of Death in Water-Stressed Conifers ». *Plant Physiology* 149 (1): 575-84. <https://doi.org/10.1104/pp.108.129783>.
- Brodribb, Tim J., et N. Michele Holbrook. 2003. « Stomatal Closure during Leaf Dehydration, Correlation with Other Leaf Physiological Traits ». *Plant Physiology* 132 (4): 2166-73. <https://doi.org/10.1104/pp.103.023879>.
- Burr, Karen E, Richard W Tinus, Stephen J Wallner, et Rudy M King. s. d. « Comparison of Four Cold Hardiness Tests on Three Western Conifers ».
- Canadell, J., et L. López-Soria. 1998. « Lignotuber Reserves Support Regrowth Following Clipping of Two Mediterranean Shrubs ». *Functional Ecology* 12 (1): 31-38. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2435.1998.00154.x>.

- Carter, R. E., J. Otchere-Boateng, et K. Klinka. 1984. « Dieback of a 30-year-old Douglas-fir plantation in the Brittain River Valley, British Columbia: Symptoms and diagnosis ». *Forest Ecology and Management* 7 (4): 249-63. [https://doi.org/10.1016/0378-1127\(84\)90002-1](https://doi.org/10.1016/0378-1127(84)90002-1).
- Cavender-Bares, Jeannine. 2005. « 19 - Impacts of Freezing on Long Distance Transport in Woody Plants ». In *Vascular Transport in Plants*, édité par N. Michele Holbrook et Maciej A. Zwieniecki, 401-24. Physiological Ecology. Burlington: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012088457-5/50021-6>.
- Cayford, J. H., M. P. H. Wheaton, V. Hildahl, et L. D. Nairn. 1959. « Injury to trees from winter drying and frost in manitoba and saskatchewan in 1958 ». *The Forestry Chronicle* 35 (4): 282-90. <https://doi.org/10.5558/tfc35282-4>.
- Chamberlain, Catherine J., et E. M. Wolkovich. 2021. « Late Spring Freezes Coupled with Warming Winters Alter Temperate Tree Phenology and Growth ». *New Phytologist* 231 (3): 987-95. <https://doi.org/10.1111/nph.17416>.
- Chang, Christine Yao-Yun, Katharina Bräutigam, Norman P. A. Hüner, et Ingo Ensminger. 2021. « Champions of Winter Survival: Cold Acclimation and Molecular Regulation of Cold Hardiness in Evergreen Conifers ». *New Phytologist* 229 (2): 675-91. <https://doi.org/10.1111/nph.16904>.
- Charra-Vaskou, Katline, Eric Badel, Guillaume Charrier, Alexandre Ponomarenko, Marc Bonhomme, Loïc Foucat, Stefan Mayr, et Thierry Améglio. 2016. « Cavitation and water fluxes driven by ice water potential in Juglans regia during freeze-thaw cycles ». *Journal of Experimental Botany* 67 (3): 739-50. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv486>.
- Charra-Vaskou, Katline, Anna Lintunen, Thierry Améglio, Eric Badel, Hervé Cochard, Stefan Mayr, Yann Salmon, Heikki Suhonen, Mahaut Van Rooij, et Guillaume Charrier. 2023. « Xylem Embolism and Bubble Formation during Freezing Suggest Complex Dynamics of Pressure in Betula Pendula Stems ». Édité par Yoel Forterre. *Journal of Experimental Botany* 74 (18): 5840-53. <https://doi.org/10.1093/jxb/erad275>
- Charrier, Guillaume, Marc Bonhomme, André Lacoïnte, et Thierry Améglio. 2011. « Are Budburst Dates, Dormancy and Cold Acclimation in Walnut Trees (Juglans Regia L.) under Mainly Genotypic or Environmental Control? » *International Journal of Biometeorology* 55 (6): 763-74. <https://doi.org/10.1007/s00484-011-0470-1>.
- Charrier, Guillaume, Katline Charra-Vaskou, Jun Kasuga, Hervé Cochard, Stefan Mayr, et Thierry Améglio. 2014. « Freeze-Thaw Stress: Effects of Temperature on Hydraulic Conductivity and Ultrasonic Activity in Ten Woody Angiosperms ». *Plant Physiology* 164 (2): 992-98. <https://doi.org/10.1104/pp.113.228403>.
- Charrier, Guillaume, Hervé Cochard, et Thierry Améglio. 2013. « Evaluation of the impact of frost resistances on potential altitudinal limit of trees ». *Tree Physiology* 33 (9): 891-902. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpt062>.
- Charrier, Guillaume, André Lacoïnte, et Thierry Améglio. 2018. « Dynamic Modeling of Carbon Metabolism During the Dormant Period Accurately Predicts the Changes in Frost Hardiness in Walnut Trees Juglans regia L. » *Frontiers in Plant Science* 9: 1746. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01746>.
- Charrier, Guillaume, Jérôme Ngao, Marc Saudreau, et Thierry Améglio. 2015. « Effects of Environmental Factors and Management Practices on Microclimate, Winter Physiology, and Frost Resistance in Trees ». *Frontiers in Plant Science* 6 (avril). <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00259>.
- Charrier, Guillaume, Markus Nolf, Georg Leitinger, Katline Charra-Vaskou, Adriano Losso, Ulrike Tappeiner, Thierry Améglio, et Stefan Mayr. 2017. « Monitoring of Freezing Dynamics in Trees: A Simple Phase Shift Causes Complexity ». *Plant Physiology* 173 (4): 2196-2207. <https://doi.org/10.1104/pp.16.01815>.
- Charrier, Guillaume, Manuel Pramsohler, Katline Charra-Vaskou, Marc Saudreau, Thierry Améglio, Gilbert Neuner, et Stefan Mayr. 2015. « Ultrasonic Emissions during Ice Nucleation and Propagation in Plant Xylem ». *New Phytologist* 207 (3): 570-78. <https://doi.org/10.1111/nph.13361>.

- Choisnel, E, V Jacq, Jm Guehl, et G Aussenac. 1990. « Simulation de la variabilité de la photosynthèse hivernale du douglas (*Pseudotsuga menziesii* Mirb) dans les conditions climatiques françaises ». *Annales des Sciences Forestières* 47 (5): 495-508. <https://doi.org/10.1051/forest:19900507>.
- Choudhury, Feroza K., Rosa M. Rivero, Eduardo Blumwald, et Ron Mittler. 2017. « Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination ». *The Plant Journal* 90 (5): 856-67. <https://doi.org/10.1111/tpj.13299>.
- Christersson, L., et H. von Fircks. 1990. « Frost and Winter Dessication as Stress Factors. » *Aquilo. Ser. Botanica*, n° No. 29: 13-19.
- Chuste, Pierre-Antoine. 2018. « Étude de la sensibilité du hêtre lorrain à un événement climatique extrême. Quels sont les rôles des métabolismes carboné et azoté dans la mort des arbres? »
- Cochard, H. 1992. « Vulnerability of Several Conifers to Air Embolism ». *Tree Physiology* 11 (1): 73-83. <https://doi.org/10.1093/treephys/11.1.73>.
- Cochard, Hervé. 2006. « Cavitation in Trees ». *Comptes Rendus Physique, Nucleation*, 7 (9): 1018-26. <https://doi.org/10.1016/j.crhy.2006.10.012>.
- Cochard, Hervé, Stéphane Herbette, Tête Barigah, Eric Badel, Mustapha Ennajeh, et Alberto Vilagrosa. 2010. « Does Sample Length Influence the Shape of Xylem Embolism Vulnerability Curves? A Test with the Cavitron Spinning Technique ». *Plant, Cell & Environment* 33 (9): 1543-52. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2010.02163.x>.
- Cochard, Hervé, Teemu Hölttä, Stéphane Herbette, Sylvain Delzon, et Maurizio Mencuccini. 2009. « New Insights into the Mechanisms of Water-Stress-Induced Cavitation in Conifers ». *Plant Physiology* 151 (2): 949-54. <https://doi.org/10.1104/pp.109.138305>.
- Cochard, Hervé, Damien Lemoine, Thierry Améglio, et André Granier. 2001. « Mechanisms of xylem recovery from winter embolism in *Fagus sylvatica* ». *Tree Physiology* 21 (1): 27-33. <https://doi.org/10.1093/treephys/21.1.27>.
- Colombo, Stephen J. 1998. « Climatic warming and its effect on bud burst and risk of frost damage to white spruce in Canada ». *The Forestry Chronicle* 74 (4): 567-77. <https://doi.org/10.5558/tfc74567-4>.
- Cox, R. M., et X. B. Zhu. 2003. « Effects of Simulated Thaw on Xylem Cavitation, Residual Embolism, Spring Dieback and Shoot Growth in Yellow Birch ». *Tree Physiology* 23 (9): 615-24. <https://doi.org/10.1093/treephys/23.9.615>.
- Crouch, Glenn LeRoy. 1981. *Effects of Nitrogen and Phosphorus Fertilizers on Deer Browsing and Growth of Young Douglas-Fir*. U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Northwest Forest and Range Experiment Station.
- Dahms, D. E. 1992. « Buried Soils of Late Quaternary Moraines of the Wind River Mountains, Wyoming ». *Geological Society of America, Abstracts with Programs; (United States)* 24:7 (janvier). <https://www.osti.gov/biblio/5504931>.
- Dalla-Salda, Guillermina, Alejandro Martinez-Meier, Hervé Cochard, et Philippe Rozenberg. 2009. « Variation of wood density and hydraulic properties of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) clones related to a heat and drought wave in France ». *Forest Ecology and Management* 257 (1): 182-89. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.08.019>.
- da Ronch F, Caudullo G, de Rigo D (2016) *Pseudotsuga menziesii* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. In: San-Miguel-Ayanz J, de Rigo D, Caudullo G, Houston Durant T, Mauri A (eds) European atlas of forest tree species. Publication Office of the EU, Luxembourg, pp 146–147
- Daudet, F.-A. 2004. « Experimental Analysis of the Role of Water and Carbon in Tree Stem Diameter Variations ». *Journal of Experimental Botany*, novembre. <https://doi.org/10.1093/jxb/eri026>.
- Day, Thomas A., Scott A. Heckathorn, et Evan H. DeLucia. 1991. « Limitations of Photosynthesis in *Pinus Taeda* L. (Loblolly Pine) at Low Soil Temperatures ». *Plant Physiology* 96 (4): 1246-54. <https://doi.org/10.1104/pp.96.4.1246>.
- DeHayes, D. H., C. E. Waite, et M. A. Ingle. 1990. « Storage Temperature and Duration Influence Cold Tolerance of Red Spruce Foliage ». *Forest Science* 36 (4): 1153-58. <https://doi.org/10.1093/forestscience/36.4.1153>.
- Dellero, Younes. 2016. « Les interactions entre la photorespiration et le métabolisme primaire des feuilles d'*Arabidopsis thaliana*: Caractérisation de mutants pour les enzymes photorespiratoires “« glycolate oxydase »” et “ « glutamate:glyoxylate aminotransférase 1 »” ». ».

- DeLucia. 1986. « Effect of Low Root Temperature on Net Photosynthesis, Stomatal Conductance and Carbohydrate Concentration in Engelmann Spruce (*Picea Engelmannii* Parry Ex Engelm.) Seedlings », 12.
- Demmig-Adams, Barbara, Seok-Chan Koh, Christopher M. Cohu, Onno Muller, Jared J. Stewart, et William W. Adams. 2014. « Non-Photochemical Fluorescence Quenching in Contrasting Plant Species and Environments ». In *Non-Photochemical Quenching and Energy Dissipation in Plants, Algae and Cyanobacteria*, édité par Barbara Demmig-Adams, Gyozo Garab, William Adams III, et Govindjee, 40:531-52. *Advances in Photosynthesis and Respiration*. Dordrecht: Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-017-9032-1_24.
- Deslauriers, A., Garcia, L., Charrier, G., Buttò, V., Pichette, A., & Paré, M. (2021). Cold acclimation and deacclimation in wild blueberry: Direct and indirect influence of environmental factors and non-structural carbohydrates. *Agricultural and Forest Meteorology*, 301 108349. Drénou, C., et J. Rosa. 2014. « Douglas-fir and drought: Application of the ARCHI method in monitoring dieback. » *Forêt-Entreprise*, n° No.216: 6-17.
- Domec, J.-C., J. M. Warren, F. C. Meinzer, J. R. Brooks, et R. Coulombe. 2004. « Native Root Xylem Embolism and Stomatal Closure in Stands of Douglas-Fir and Ponderosa Pine: Mitigation by Hydraulic Redistribution ». *Oecologia* 141 (1): 7-16. <https://doi.org/10.1007/s00442-004-1621-4>.
- Domec, Jean-Christophe, et Barbara L. Gartner. 2001. « Cavitation and Water Storage Capacity in Bole Xylem Segments of Mature and Young Douglas-Fir Trees ». *Trees* 15 (4): 204-14. <https://doi.org/10.1007/s004680100095>.
- Dhont C, Sylvestre P, Gros-Louis M-C, Isabel N. 2010. Field guide for identifying apical bud break and bud formation stages in white spruce. Quebec, QC, Canada: Natural Resources Canada, Canadian Forest Service, Laurentian Forestry Centre.
- Drénou, C., et J. Rosa. 2014. « Douglas fir and drought: Application of the ARCHI method in monitoring dieback. » *Forêt-Entreprise*, n° No.216: 6-17.
- Driessche, R. Van Den. 1969. « Influence of moisture supply, temperature, and light on frost-hardiness changes in Douglas-fir seedlings ». *Canadian Journal of Botany* 47 (11): 1765-72. <https://doi.org/10.1139/b69-254>.
- Duursma, Remko A., Christopher J. Blackman, Rosana Lopéz, Nicolas K. Martin-StPaul, Hervé Cochard, et Belinda E. Medlyn. 2019. « On the Minimum Leaf Conductance: Its Role in Models of Plant Water Use, and Ecological and Environmental Controls ». *New Phytologist* 221 (2): 693-705. <https://doi.org/10.1111/nph.15395>.
- Ensminger, Ingo, Florian Busch, et Norman P. A. Huner. 2006. « Photostasis and Cold Acclimation: Sensing Low Temperature through Photosynthesis ». *Physiologia Plantarum* 126 (1): 28-44. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00627.x>.
- Fettig, Christopher J., Kier D. Klepzig, Ronald F. Billings, A. Steven Munson, T. Evan Nebeker, Jose F. Negrón, et John T. Nowak. 2007. « The Effectiveness of Vegetation Management Practices for Prevention and Control of Bark Beetle Infestations in Coniferous Forests of the Western and Southern United States ». *Forest Ecology and Management* 238 (1-3): 24-53. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2006.10.011>.
- Fletcher, A. M., et C. J. A. Samuel. 2010. « Choice of Douglas Fir Seed Sources for Use in British Forests. » *Forestry Commission Bulletin*, n° No.129. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20103334062>.
- Freeman, Michael B. s. d. « The Role of Abiotic and Biotic Factors in Douglas-Fir Decline in the Western Cascades, Washington ».
- Fryer, M.J. 1992. The antioxidant effects of thylakoid Vitamin E (α -tocopherol). *Plant Cell Environ.* 15:381–392
- Fuchs, Jasper M, Anika Hittenbeck, Susanne Brandl, Matthias Schmidt, et Carola Paul. 2022. « Adaptation strategies for spruce forests—economic potential of bark beetle management and Douglas fir cultivation in future tree species portfolios ». *Forestry: An International Journal of Forest Research* 95 (2): 229-46. <https://doi.org/10.1093/forestry/cpab040>.
- Gamon, J. A., et R. W. Pearcy. 1990. « Photoinhibition in *Vitis Californica*: Interactive Effects of Sunlight, Temperature and Water Status ». *Plant, Cell & Environment* 13 (3): 267-75. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1990.tb01311.x>.

- Gardingen, P. R. van, J. Grace, et C. E. Jeffree. 1991. « Abrasive Damage by Wind to the Needle Surfaces of *Picea Sitchensis* (Bong.) Carr. and *Pinus Sylvestris* L. » *Plant, Cell & Environment* 14 (2): 185-93. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1991.tb01335.x>.
- Genty, Bernard, Jean-Marie Briantais, et Neil R. Baker. 1989. « The Relationship between the Quantum Yield of Photosynthetic Electron Transport and Quenching of Chlorophyll Fluorescence ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 990 (1): 87-92. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(89\)80016-9](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(89)80016-9).
- Gillies, Sharon L., et William Vidaver. 1990. « Resistance to Photodamage in Evergreen Conifers ». *Physiologia Plantarum* 80 (1): 148-53. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1990.tb04389.x>.
- Glerum, C., et J. L. Farrar. 1966. « FROST RING FORMATION IN THE STEMS OF SOME CONIFEROUS SPECIES ». *Canadian Journal of Botany* 44 (7): 879-86. <https://doi.org/10.1139/b66-103>.
- Goh, Chang-Hyo, Suk-Min Ko, Seokchan Koh, Young-Joo Kim, et Hyeun-Jong Bae. 2012. « Photosynthesis and Environments: Photoinhibition and Repair Mechanisms in Plants ». *Journal of Plant Biology* 55 (2): 93-101. <https://doi.org/10.1007/s12374-011-9195-2>.
- « Gold: Influence of snow cover on heat flow from the ground - Google Scholar ». s. d. https://scholar.google.com/scholar_lookup?hl=en&volume=46&publication_year=1958&pages=13-21&journal=International+Association+of+Science+Hydrology&author=L.+W.+Gold&title=Influence+of+snow+cover+on+heat+flow+from+the+ground.
- Gordon, John C., et Philip R. Larson. 1970. « Redistribution of ¹⁴C-Labeled Reserve Food in Young Red Pines During Shoot Elongation ». *Forest Science* 16 (1): 14-20. <https://doi.org/10.1093/forestscience/16.1.14>.
- Granier, A., M. Reichstein, N. Bréda, I. A. Janssens, E. Falge, P. Ciais, T. Grünwald, et al. 2007. « Evidence for Soil Water Control on Carbon and Water Dynamics in European Forests during the Extremely Dry Year: 2003 ». *Agricultural and Forest Meteorology* 143 (1): 123-45. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2006.12.004>.
- Guadagno, Carmela R., Brent E. Ewers, Heather N. Speckman, Timothy Llewellyn Aston, Bridger J. Huhn, Stanley B. DeVore, Joshua T. Ladwig, Rachel N. Strawn, et Cynthia Weinig. 2017. « Dead or Alive? Using Membrane Failure and Chlorophyll *a* Fluorescence to Predict Plant Mortality from Drought ». *Plant Physiology* 175 (1): 223-34. <https://doi.org/10.1104/pp.16.00581>.
- Guehl, J. M., B. Clerc, et J. M. Desjeunes. 1985. « Etude comparée des potentialités hivernales d'assimilation carbonée de trois conifères de la zone tempérée (*Pseudotsuga menziesii* Mirb., *Abies alba* Mill. et *Picea excelsa* Link.) ». *Annales des Sciences Forestières* 42 (1): 23-38. <https://doi.org/10.1051/forest:19850102>.
- Guy, Charles L. s. d. « Cold Acclimation and Freezing Stress Tolerance: Role of Protein Metabolism ».
- Hadley, J. L., et R. G. Amundson. 1992. « Effects of Radiational Heating at Low Air Temperature on Water Balance, Cold Tolerance, and Visible Injury of Red Spruce Foliage ». *Tree Physiology* 11 (1): 1-17. <https://doi.org/10.1093/treephys/11.1.1>.
- Hadley, J. L., et W. K. Smith. 1983. « Influence of Wind Exposure on Needle Desiccation and Mortality for Timberline Conifers in Wyoming, U.S.A. » *Arctic and Alpine Research* 15 (1): 127-35. <https://doi.org/10.1080/00040851.1983.12004335>.
- Hadley, Julian L., et William K. Smith. 1986. « Wind Effects on Needles of Timberline Conifers: Seasonal Influence on Mortality ». *Ecology* 67 (1): 12-19. <https://doi.org/10.2307/1938498>.
- Hansen, E. M., J. K. Stone, B. R. Capitano, P. Rosso, W. Sutton, L. Winton, A. Kanaskie, et M. G. McWilliams. 2000. « Incidence and Impact of Swiss Needle Cast in Forest Plantations of Douglas-fir in Coastal Oregon ». *Plant Disease* 84 (7): 773-78. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.7.773>.
- Hansen, J., et E. Beck. 1988. « Evidence for Ideal and Non-Ideal Equilibrium Freezing of Leaf Water in Frosthardy Ivy (*Hedera Helix*) and Winter Barley (*Hordeum Vulgare*) ». *Botanica Acta* 101 (1): 76-82. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1988.tb00014.x>.
- Hart, S. J., Veblen, T. T., Schneider, D., & Molotch, N. P. (2017). Summer and winter drought drive the initiation and spread of spruce beetle outbreak. *Ecology*, 98(10), 2698-270
- Hartmann, Henrik, Ana Bastos, Adrian J. Das, Adriane Esquivel-Muelbert, William M. Hammond, Jordi Martínez-Vilalta, Nate G. McDowell, et al. 2022. « Climate Change Risks to Global Forest

- Health: Emergence of Unexpected Events of Elevated Tree Mortality Worldwide ». *Annual Review of Plant Biology* 73 (1): 673-702. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-102820-012804>.
- Haralamb A (1967) Culture of forest species, 3rd edn. Editura Agro-Silvică, București, p 755
- Hedgcock, Georges. 1912. « Winter-killing and smelter-injury in the forest of Montana ».
- Heisler, Gordon M., et David R. Dewalle. 1988. « 2. Effects of windbreak structure on wind flow ». *Agriculture, Ecosystems & Environment*, Proceedings of an International Symposium on Windbreak Technology, 22-23 (août): 41-69. [https://doi.org/10.1016/0167-8809\(88\)90007-2](https://doi.org/10.1016/0167-8809(88)90007-2).
- Henson, W. R. 1952. « Chinook winds and red belt injury to lodgepole pine in the rocky mountain parks area of Canada ». *The Forestry Chronicle* 28 (1): 62-64. <https://doi.org/10.5558/tfc28062-1>.
- Herbette, Stephane, Aline Le Menn, Patrick Rousselle, Thierry Ameglio, Zehava Faltin, Gérard Branlard, Yuval Eshdat, Jean-Louis Julien, Joël R. Drevet, et Patricia Roeckel-Drevet. 2005. « Modification of Photosynthetic Regulation in Tomato Overexpressing Glutathione Peroxidase ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 1724 (1): 108-18. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2005.04.018>.
- Hermann, Richard K., et Denis P. Lavender. 1999. « Douglas-Fir Planted Forests ». *New Forests* 17 (1): 53-70. <https://doi.org/10.1023/A:1006581028080>.
- Herrick, G. T., et A. J. Friedland. 1991. « Winter Desiccation and Injury of Subalpine Red Spruce ». *Tree Physiology* 8 (1): 23-36. <https://doi.org/10.1093/treephys/8.1.23>.
- Hiratsuka, Y., et H. Zalasky. 1993. « Frost and other climate-related damage of forest trees in the prairie provinces », 1993.
- Hoch, G., A. Richter, et Ch. Körner. 2003. « Non-Structural Carbon Compounds in Temperate Forest Trees ». *Plant, Cell & Environment* 26 (7): 1067-81. <https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2003.01032.x>.
- Holling, C. S. 1973. « Resilience and Stability of Ecological Systems ». *Annual Review of Ecology and Systematics* 4: 1-23.
- Holtmeier, Friedrich-Karl, et Gabriele Broll. 2010. « Wind as an Ecological Agent at Treelines in North America, the Alps, and the European Subarctic ». *Physical Geography* 31 (3): 203-33. <https://doi.org/10.2747/0272-3646.31.3.203>.
- Horntvedt, R., et Kåre Venn. 1980. « Frost Injury to Norway Spruce during the Winter of 1976–1977 ». *European Journal of Forest Pathology* 10 (2-3): 71-77. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.1980.tb00011.x>.
- Hughes, Nicole M. 2011. « Winter Leaf Reddening in ‘Evergreen’ Species: Minireview ». *New Phytologist* 190 (3): 573-81. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03662.x>.
- Huner. 1998. « Energy balance and acclimation to light and cold: Trends in Plant Science ». 1998. [https://www.cell.com/trends/plant-science/fulltext/S1360-1385\(98\)01248-5?code=cell-site&mobileUi=0](https://www.cell.com/trends/plant-science/fulltext/S1360-1385(98)01248-5?code=cell-site&mobileUi=0).
- Irvine, J., et J. Grace. 1997. « Continuous Measurements of Water Tensions in the Xylem of Trees Based on the Elastic Properties of Wood ». *Planta* 202 (4): 455-61. <https://doi.org/10.1007/s004250050149>.
- Ivanov, A.G., P.V. Sane, Y. Zeinalov, G. Malmberg, P. Gardeström, N.P.A. Huner, et G. Öquist. 2001. « Photosynthetic Electron Transport Adjustments in Overwintering Scots Pine (Pinus Sylvestris L.) ». *Planta* 213 (4): 575-85. <https://doi.org/10.1007/s004250100522>.
- Jalkanen Risto. 1990. « Root cold stress causing a premature yellowing of oldest Scots pines needles ». In *Recent research on foliage diseases*, 34-37. Rovaniemi Research Station, Rovaniemi, Finland.
- Jalkanen, Risto, éd. 1993. *Forest Pathological Research in Northern Forests with a Special Reference to Abiotic Stress Factors: Extended SNS Meeting in Forest Pathology in Lapland, Finland, 3 - 7 August, 1992*. Metsäntutkimuslaitoksen Tiedonantoja 451. Helsinki: Metsäntutkimuslaitos.
- JJ Zwiazek. 2013. « Biochemical and Biophysical Changes in Relation to Cold Hardiness ». In *Conifer Cold Hardiness*, 165-86. Springer Science & Business Media.
- Johnson, Daniel M., Remi Wortemann, Katherine A. McCulloh, Lionel Jordan-Meille, Eric Ward, Jeffrey M. Warren, Sari Palmroth, et Jean-Christophe Domec. 2016. « A test of the hydraulic vulnerability segmentation hypothesis in angiosperm and conifer tree species ». *Tree Physiology* 36 (8): 983-93. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpw031>.

- Jones, H. G., et R. A. Sutherland. 1991. « Stomatal Control of Xylem Embolism ». *Plant, Cell & Environment* 14 (6): 607-12. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1991.tb01532.x>.
- Kalberer, Scott R., Michael Wisniewski, et Rajeev Arora. 2006. « Deacclimation and Reacclimation of Cold-Hardy Plants: Current Understanding and Emerging Concepts ». *Plant Science* 171 (1): 3-16. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2006.02.013>.
- Kamp, Bart J. Van Der, et John Worrall. 1990. « An Unusual Case of Winter Bud Damage in British Columbia Interior Conifers ». *Canadian Journal of Forest Research* 20 (10): 1640-47. <https://doi.org/10.1139/x90-217>.
- Kåre Venn, Risto, éd. 1993. « Red Belts in Boreal Forests ». In *Forest Pathological Research in Northern Forests with a Special Reference to Abiotic Stress Factors: Extended SNS Meeting in Forest Pathology in Lapland, Finland, 3 - 7 August, 1992*, 50-54. Metsäntutkimuslaitoksen Tiedonantoja 451. Helsinki: Metsäntutkimuslaitos.
- Kavanagh, K. L., B. J. Bond, S. N. Aitken, B. L. Gartner, et S. Knowe. 1999. « Shoot and root vulnerability to xylem cavitation in four populations of Douglas-fir seedlings ». *Tree Physiology* 19 (1): 31-37. <https://doi.org/10.1093/treephys/19.1.31>.
- Kerhoulas, Lucy, Wade Poldas, Nicholas Kerhoulas, et John-Pascal Berrill. 2020. « Physiology and Growth of Douglas-Fir and Redwood Seedlings Planted After Partial Harvesting ». *Frontiers in Forests and Global Change* 3. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/ffgc.2020.00049>.
- Knüsel, Simon, Richard L. Peters, Matthias Haeni, Micah Wilhelm, et Roman Zweifel. 2021. « Processing and Extraction of Seasonal Tree Physiological Parameters from Stem Radius Time Series ». *Forests* 12 (6): 765. <https://doi.org/10.3390/f12060765>.
- Körner, Christian. 1998. « A Re-Assessment of High Elevation Treeline Positions and Their Explanation ». *Oecologia* 115 (4): 445-59. <https://doi.org/10.1007/s004420050540>.
- . 2019. « No need for pipes when the well is dry—a comment on hydraulic failure in trees ». *Tree Physiology* 39 (5): 695-700. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpz030>.
- Kozłowski, T. T. 2012. *Soil Water Measurement, Plant Responses, and Breeding for Drought Resistance*. Elsevier.
- Kramer, Paul J. 1940. « Root resistance as a cause of decreased water absorption by plants at low temperatures ». *Plant Physiology* 15 (1): 63-79. <https://doi.org/10.1104/pp.15.1.63>.
- Krause, G. Heinrich. 1988. « Photoinhibition of Photosynthesis. An Evaluation of Damaging and Protective Mechanisms ». *Physiologia Plantarum* 74 (3): 566-74. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1988.tb02020.x>.
- Kron, Wolfgang. 2005. « Flood Risk = Hazard • Values • Vulnerability ». *Water International* 30 (1): 58-68. <https://doi.org/10.1080/02508060508691837>.
- Lacointe, André. 2000. « Carbon Allocation among Tree Organs: A Review of Basic Processes and Representation in Functional-Structural Tree Models ». *Annals of Forest Science* 57 (5): 521-33. <https://doi.org/10.1051/forest:2000139>.
- Łakomy, P, et M Iwańczuk. « Phaeocryptopus Gaeumannii in Douglas-fir stands in Smolarz Forest District».
- Lamacque, Lia. 2020. « Caractérisation physiologique de la réponse à la sécheresse de la Lavande et du Lavandin : impact de la culture inter-rang ». Phdthesis, Université Clermont Auvergne [2017-2020]. <https://theses.hal.science/tel-02985392>.
- Lamacque, Lia, Guillaume Charrier, Fernanda dos Santos Farnese, Benjamin Lemaire, Thierry Améglio, et Stéphane Herbette. 2020. « Drought-Induced Mortality: Branch Diameter Variation Reveals a Point of No Recovery in Lavender Species ». *Plant Physiology* 183 (4): 1638-49. <https://doi.org/10.1104/pp.20.00165>.
- Langvall Ola, 2010 "Interactions between Near-Ground Temperature and Radiation, Silvicultural Treatments and Frost Damage to Norway Spruce Seedlings" Phd thesis
- Lassoie, James P., et David J. Salo. 1981. « Physiological response of large Douglas-fir to natural and induced soil water deficits ». *Canadian Journal of Forest Research* 11 (1): 139-44. <https://doi.org/10.1139/x81-019>.
- Lee, Seong Hee, Gap Chae Chung, Ji Young Jang, Sung Ju Ahn, et Janusz J. Zwiazek. 2012. « Overexpression of PIP2;5 Aquaporin Alleviates Effects of Low Root Temperature on Cell Hydraulic Conductivity and Growth in Arabidopsis ». *Plant Physiology* 159 (1): 479-88. <https://doi.org/10.1104/pp.112.194506>.

- Lee, Seong Hee, Gap Chae Chung, et Ernst Steudle. 2005. « Gating of aquaporins by low temperature in roots of chilling-sensitive cucumber and chilling-tolerant figleaf gourd ». *Journal of Experimental Botany* 56 (413): 985-95. <https://doi.org/10.1093/jxb/eri092>.
- Lemoine, Damien, André Granier, et H. Cochard. 1999. « Mechanism of Freeze-Induced Embolism in *Fagus Sylvatica* L. » *Trees* 13 (4): 206-10. <https://doi.org/10.1007/PL00009751>.
- LePage, Phil, et K. Dave Coates. 1994. « Growth of planted lodgepole pine and hybrid spruce following chemical and manual vegetation control on a frost-prone site ». *Canadian Journal of Forest Research* 24 (2): 208-16. <https://doi.org/10.1139/x94-031>.
- Levitt, J. 1980. « Responses of Plants to Environmental Stress, 2nd Edition, Volume 1: Chilling, Freezing, and High Temperature Stresses. » *Responses of Plants to Environmental Stress, 2nd Edition, Volume 1: Chilling, Freezing, and High Temperature Stresses*. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19802605739>.
- Lewis, J. D., D. Olszyk, et D. T. Tingey. 1999. « Seasonal Patterns of Photosynthetic Light Response in Douglas-Fir Seedlings Subjected to Elevated Atmospheric CO₂ and Temperature ». *Tree Physiology* 19 (4-5): 243-52. <https://doi.org/10.1093/treephys/19.4-5.243>.
- Lhotellier, Rémi. 2005. « Spatialisation des températures en zone de montagne alpine ». These de doctorat, Université Joseph Fourier (Grenoble). <http://www.theses.fr/2005GRE10201>.
- Lindström, Anders, et Erik Troeng. 1995. « Temperature Variations in Planting Mounds during Winter ». *Canadian Journal of Forest Research* 25 (3): 507-15. <https://doi.org/10.1139/x95-057>.
- Lintunen, A., T. Hölttä, et M. Kulmala. 2013. « Anatomical Regulation of Ice Nucleation and Cavitation Helps Trees to Survive Freezing and Drought Stress ». *Scientific Reports* 3 (1): 2031. <https://doi.org/10.1038/srep02031>
- Lippu, Jukka. 1998. « Redistribution of ¹⁴C-Labelled Reserve Carbon in *Pinus Sylvestris* Seedlings during Shoot Elongation ». *Silva Fennica* 32 (1). <https://doi.org/10.14214/sf.696>.
- Lockhart, James A. 1965. « An analysis of irreversible plant cell elongation ». *Journal of Theoretical Biology* 8 (2): 264-75. [https://doi.org/10.1016/0022-5193\(65\)90077-9](https://doi.org/10.1016/0022-5193(65)90077-9).
- Loo Marcela, Dobrowolska Dorota van. 2020. « Douglas-Fir Distribution in Europe ». In *Russian Forests and Climate Change*, édité par European Forest Institute et Marcela van Loo, 11. chapter 2:12. What Science Can Tell Us. European Forest Institute. <https://doi.org/10.36333/wscu11>.
- Lopushinsky, W., et T. A. Max. 1990. « Effect of Soil Temperature on Root and Shoot Growth and on Budburst Timing in Conifer Seedling Transplants ». *New Forests* 4 (2): 107-24. <https://doi.org/10.1007/BF00119004>.
- Lopushinsky, William, et Merrill R. Kaufmann. 1984. « Effects of Cold Soil on Water Relations and Spring Growth of Douglas-fir Seedlings ». *Forest Science* 30 (3): 628-34. <https://doi.org/10.1093/forestscience/30.3.628>.
- Los, Dmitry A., et Norio Murata. 2004. « Membrane Fluidity and Its Roles in the Perception of Environmental Signals ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, Lipid-Protein Interactions, 1666 (1): 142-57. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2004.08.002>.
- Lu, Huicui, Sonia Condés, Miren del Río, Venceslas Goudiaby, Jan den Ouden, Godefridus M. J. Mohren, Mart-Jan Schelhaas, Rein de Waal, et Frank J. Sterck. 2018. « Species and soil effects on overyielding of tree species mixtures in the Netherlands ». *Forest Ecology and Management* 409 (février): 105-18. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.11.010>.
- Lyr, H. 1996. « Effect of the Root Temperature on Growth Parameters of Various European Tree Species ». *Annales Des Sciences Forestières* 53 (2-3): 317-23. <https://doi.org/10.1051/forest:19960214>.
- MacHattie, L. B. 1963. « Winter injury of Lodgepole pine foliage ». *Weather* 18 (10): 301-7. <https://doi.org/10.1002/j.1477-8696.1963.tb05148.x>.
- Magnani, F., et M. Borghetti. 1995. « Interpretation of Seasonal Changes of Xylem Embolism and Plant Hydraulic Resistance in *Fagus Sylvatica* ». *Plant, Cell & Environment* 18 (6): 689-96. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1995.tb00570.x>.
- Maguire, Douglas A., Alan Kanaskie, William Voelker, Randy Johnson, et Greg Johnson. 2002. « Growth of Young Douglas-Fir Plantations Across a Gradient in Swiss Needle Cast Severity ». *Western Journal of Applied Forestry* 17 (2): 86-95. <https://doi.org/10.1093/wjaf/17.2.86>.

- Malmqvist, Cecilia, Kristina Wallertz, et Ulf Johansson. 2018. « Survival, Early Growth and Impact of Damage by Late-Spring Frost and Winter Desiccation on Douglas-Fir Seedlings in Southern Sweden ». *New Forests* 49 (6): 723-36. <https://doi.org/10.1007/s11056-018-9635-7>.
- Man, Rongzhou, Steve Colombo, Gordon J. Kayahara, Shelagh Duckett, Ricardo Velasquez, et Qing-Lai Dang. 2013. « A Case of Extensive Conifer Needle Browning in Northwestern Ontario in 2012: Winter Drying or Freezing Damage? » *The Forestry Chronicle* 89 (05): 675-80. <https://doi.org/10.5558/tfc2013-120>.
- Man, Rongzhou, Gordon J Kayahara, Qing-Lai Dang, et James A Rice. 2009. « A Case of Severe Frost Damage Prior to Budbreak in Young Conifers in Northeastern Ontario: Consequence of Climate Change? » *The Forestry Chronicle* 85 (3): 453-62. <https://doi.org/10.5558/tfc85453-3>.
- Man, Rongzhou, Pengxin Lu, et Qing-Lai Dang. 2021. « Cold Tolerance of Black Spruce, White Spruce, Jack Pine, and Lodgepole Pine Seedlings at Different Stages of Spring Dehardening ». *New Forests* 52 (2): 317-28. <https://doi.org/10.1007/s11056-020-09796-0>.
- Manion, P. D. 1981. « Tree Disease Concepts. » *Tree Disease Concepts*. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19810672031>.
- Manter, Daniel K., Barbara J. Bond, Kathleen L. Kavanagh, Pablo H. Rosso, et Gregory M. Filip. 2000. « Pseudothecia of Swiss Needle Cast Fungus, *Phaeocryptopus Gaeumannii*, Physically Block Stomata of Douglas Fir, Reducing CO₂ Assimilation ». *New Phytologist* 148 (3): 481-91. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2000.00779.x>.
- Mantova, Marylou, Paulo E. Menezes-Silva, Eric Badel, Hervé Cochard, et José M. Torres-Ruiz. 2021. « The Interplay of Hydraulic Failure and Cell Vitality Explains Tree Capacity to Recover from Drought ». *Physiologia Plantarum* 172 (1): 247-57. <https://doi.org/10.1111/ppl.13331>.
- Maple, William R. 1975. *Mortality of Longleaf Pine Seedlings Following a Winter Burn against Brown-Spot Needle Blight*. U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station
- Marchand, Peter J., et Brian F. Chabot. 1978. « Winter Water Relations of Tree-Line Plant Species on MT. Washington, New Hampshire ». *Arctic and Alpine Research* 10 (1): 105-16. <https://doi.org/10.1080/00040851.1978.12003947>.
- Martínez-Vilalta, Jordi, Ester Prat, Imma Oliveras, et Josep Piñol. 2002. « Xylem Hydraulic Properties of Roots and Stems of Nine Mediterranean Woody Species ». *Oecologia* 133 (1): 19-29. <https://doi.org/10.1007/s00442-002-1009-2>.
- Martínez-Vilalta, Jordi, Anna Sala, Dolores Asensio, Lucía Galiano, Günter Hoch, Sara Palacio, Frida I. Piper, et Francisco Lloret. 2016. « Dynamics of Non-Structural Carbohydrates in Terrestrial Plants: A Global Synthesis ». *Ecological Monographs* 86 (4): 495-516. <https://doi.org/10.1002/ecm.1231>.
- Maruta, Emiko, Kenichi Yazaki, Mayumi Y Ogasu, et Haruhiko Taneda. 2022. « Pit aspiration causes an apparent loss of xylem hydraulic conductivity in a subalpine fir (*Abies mariesii* Mast.) overwintering at the alpine timberline ». *Tree Physiology* 42 (6): 1228-38. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpab173>.
- Mathieu, P., L. Laget, et C. Drénou. 2016. « Fomes impact on Douglas in Tarn. » *Forêt-Entreprise*, n° No.226: 54-59.
- Matz Stéphane. 2015. « Compte rendu - Visite suite aux dépérissements constatés sur le dispositif de Naucodie ».
- Mayr, Stefan, et Katline Charra-Vaskou. 2007. « Winter at the Alpine Timberline Causes Complex Within-Tree Patterns of Water Potential and Embolism in *Picea Abies* ». *Physiologia Plantarum* 131 (1): 131-39. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2007.00942.x>.
- Mayr, Stefan, Hervé Cochard, Thierry Améglio, et Silvia B. Kikuta. 2007. « Embolism Formation during Freezing in the Wood of *Picea abies* ». *Plant Physiology* 143 (1): 60-67. <https://doi.org/10.1104/pp.106.085704>.
- Mayr, Stefan, Andreas Gruber, et Helmut Bauer. 2003. « Repeated Freeze–Thaw Cycles Induce Embolism in Drought Stressed Conifers (Norway Spruce, Stone Pine) ». *Planta* 217 (3): 436-41. <https://doi.org/10.1007/s00425-003-0997-4>.
- Mayr, Stefan, Peter Schmid, Barbara Beikircher, Feng Feng, et Eric Badel. 2020. « Die Hard: Timberline Conifers Survive Annual Winter Embolism ». *New Phytologist* 226 (1): 13-20. <https://doi.org/10.1111/nph.16304>.

- Mayr, Stefan, Gerhard Wieser, et Helmut Bauer. 2006. « Xylem temperatures during winter in conifers at the alpine timberline ». *Agricultural and Forest Meteorology* 137 (mars): 81-88. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2006.02.013>.
- Mayr, Stefan, Marion Wolfschwenger, et Helmut Bauer. 2002. « Winter-Drought Induced Embolism in Norway Spruce (*Picea Abies*) at the Alpine Timberline ». *Physiologia Plantarum* 115 (1): 74-80. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2002.1150108.x>.
- McDowell, Nate G., David J. Beerling, David D. Breshears, Rosie A. Fisher, Kenneth F. Raffa, et Mark Stitt. 2011. « The Interdependence of Mechanisms Underlying Climate-Driven Vegetation Mortality ». *Trends in Ecology & Evolution* 26 (10): 523-32. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2011.06.003>.
- McMinn, R. G., et A. Funk. 1970. « Unusual Drought Symptoms in Douglas Fir ». *Canadian Journal of Botany* 48 (12): 2123-27. <https://doi.org/10.1139/b70-307>.
- Mellander, Per-Erik, Manfred Stähli, David Gustafsson, et Kevin Bishop. 2006. « Modelling the Effect of Low Soil Temperatures on Transpiration by Scots Pine ». *Hydrological Processes* 20 (9): 1929-44. <https://doi.org/10.1002/hyp.6045>.
- Mikami, Koji, et Norio Murata. 2003. « Membrane Fluidity and the Perception of Environmental Signals in Cyanobacteria and Plants ». *Progress in Lipid Research* 42 (6): 527-43. [https://doi.org/10.1016/S0163-7827\(03\)00036-5](https://doi.org/10.1016/S0163-7827(03)00036-5).
- Miller, Megan L., et Daniel M. Johnson. 2017. « Vascular Development in Very Young Conifer Seedlings: Theoretical Hydraulic Capacities and Potential Resistance to Embolism ». *American Journal of Botany* 104 (7): 979-92. <https://doi.org/10.3732/ajb.1700161>.
- Morén, Ann-sofie, et Kurth L. Perttu. 1994. « Regional temperature and radiation indices and their adjustment to horizontal and inclined forest land ». *Studia Forestalia Suecica*.
- Mura, Claudio, Valentina Buttò, Roberto Silvestro, Annie Deslauriers, Guillaume Charrier, Patricia Raymond, et Sergio Rossi. s. d. « The Early Bud Gets the Cold: Diverging Spring Phenology Drives Exposure to Late Frost in a *Picea Mariana* [(Mill.) BSP] Common Garden ». *Physiologia Plantarum* n/a (n/a): e13798. <https://doi.org/10.1111/ppl.13798>.
- Nagelmüller, Sebastian, Erika Hiltbrunner, et Christian Körner. 2017. « Low temperature limits for root growth in alpine species are set by cell differentiation ». *AoB PLANTS* 9 (6): plx054. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plx054>.
- Nardini, Andrea, Maria A. Lo Gullo, Patrizia Trifilò, et Sebastiano Salleo. 2014. « The challenge of the Mediterranean climate to plant hydraulics: Responses and adaptations ». *Environmental and Experimental Botany*, Response to abiotic stresses of plants of Mediterranean-type ecosystems, 103 (juillet): 68-79. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2013.09.018>.
- Negron, Jose F. 1998. « Probability of Infestation and Extent of Mortality Associated with the Douglas-Fir Beetle in the Colorado Front Range ». *Forest Ecology and Management* 107 (1): 71-85. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(97\)00319-8](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(97)00319-8).
- Newton, Michael, et David S. Preest. 1988. « Growth and Water Relations of Douglas Fir (*Pseudotsuga Menziesii*) Seedlings under Different Weed Control Regimes ». *Weed Science* 36 (5): 653-62. <https://doi.org/10.1017/S0043174500075573>.
- Nicolescu, Valeriu-Norocel, William L. Mason, Jean-Charles Bastien, Torsten Vor, Krasimira Petkova, Vilém Podrázský, Martina Đodan, et al. 2023. « Douglas-Fir (*Pseudotsuga Menziesii* (Mirb.) Franco) in Europe: An Overview of Management Practices ». *Journal of Forestry Research*, mars. <https://doi.org/10.1007/s11676-023-01607-4>.
- Nicolescu Valeriu-Norocel 2020. « Douglas-Fir Ecology ». In *Douglas-Fir - an Option for Europe*, édité par Valeriu-Norocel Nicolescu 11:5. What Science Can Tell Us. European Forest Institute. <https://doi.org/10.36333/wsctu11>.
- Offenthaler, Ivo, Peter Hietz, et Hanno Richter. 2001. « Wood Diameter Indicates Diurnal and Long-Term Patterns of Xylem Water Potential in Norway Spruce ». *Trees* 15 (4): 215-21. <https://doi.org/10.1007/s004680100090>.
- Ogren, E., et G. Oquist. 1985. « Effects of Drought on Photosynthesis, Chlorophyll Fluorescence and Photoinhibition Susceptibility in Intact Willow Leaves ». *Planta* 166 (3): 380-88. <https://doi.org/10.1007/BF00401176>.

- Öquist, Gunnar, et Norman P.A. Huner. 2003. « Photosynthesis of Overwintering Evergreen Plants ». *Annual Review of Plant Biology* 54 (1): 329-55. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.54.072402.115741>.
- Ottander, Christina, Douglas Campbell, et Gunnar Oquist. 1995. « Seasonal Changes in Photosystem II Organisation and Pigment Composition in *Pinus Syvestris* », 8.
- Pachauri, R. K., Leo Mayer, et Intergovernmental Panel on Climate Change, éd. 2015. *Climate Change 2014: Synthesis Report*. Geneva, Switzerland: Intergovernmental Panel on Climate Change.
- Pagter, Majken, Isabelle Lefèvre, Rajeev Arora, et Jean-Francois Hausman. 2011. « Quantitative and Qualitative Changes in Carbohydrates Associated with Spring Deacclimation in Contrasting *Hydrangea* Species ». *Environmental and Experimental Botany*, Responses, Acclimations and Adaptations of Northern Plants to Global Change, 72 (3): 358-67. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2011.02.019>.
- Pavlov, I. N. 2015. « Biotic and Abiotic Factors as Causes of Coniferous Forests Dieback in Siberia and Far East ». *Contemporary Problems of Ecology* 8 (4): 440-56. <https://doi.org/10.1134/S1995425515040125>.
- Petritan, Ion Catalin, Burghard Von Lüpke, et Any Mary Petritan. 2011. « Influence of Shelterwood and Ground Vegetation on Late Spring Frost Damages of Planted Beech (*Fagus Sylvatica*) and Douglas-Fir (*Pseudotsuga Menziesii*) Saplings ». *BALTIC FORESTRY* 17 (2).
- Petrov, Veselin, Jacques Hille, Bernd Mueller-Roeber, et Tsanko S. Gechev. 2015. « ROS-mediated abiotic stress-induced programmed cell death in plants ». *Frontiers in Plant Science* 6. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2015.00069>.
- Pflug, Ellen E., R. Siegwolf, N. Buchmann, M. Dobbertin, T.M. Kuster, M.S. Günthardt-Goerg, et M. Arend. 2015. « Growth cessation uncouples isotopic signals in leaves and tree rings of drought-exposed oak trees ». *Tree Physiology* 35 (10): 1095-1105. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpv079>.
- Philipson, J. J. 1988. « Root growth in Sitka spruce and Douglas-fir transplants: dependence on the shoot and stored carbohydrates ». *Tree Physiology* 4 (2): 101-8. <https://doi.org/10.1093/treephys/4.2.101>.
- Pittermann, Jarmila, John S. Sperry, James K. Wheeler, Uwe G. Hacke, et Elzard H. Sikkema. 2006. « Mechanical Reinforcement of Tracheids Compromises the Hydraulic Efficiency of Conifer Xylem ». *Plant, Cell & Environment* 29 (8): 1618-28. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2006.01539.x>.
- Potter, Trevor I., Stewart B. Rood, et Karen P. Zanewich. 1999. « Light Intensity, Gibberellin Content and the Resolution of Shoot Growth in Brassica ». *Planta* 207 (4): 505-11. <https://doi.org/10.1007/s004250050510>.
- Pourtet, J. 1949. « Sur divers dommages survenus dans les plantations de Douglas ». *Revue Forestière Française*, n° 4: 174. <https://doi.org/10.4267/2042/27607>.
- Prévost, Marcel, Richard Barry, Jean Stein, et Andre P. Plamondon. 1989. « Évolution du couvert de neige et des profils hydrique et thermique du sol dans un bassin de la sapinière laurentidienne ». *Journal of Hydrology* 107 (1): 343-66. [https://doi.org/10.1016/0022-1694\(89\)90066-8](https://doi.org/10.1016/0022-1694(89)90066-8).
- Pritzkow, Carola, Christopher Szota, Virginia Williamson, et Stefan K Arndt. 2021. « Previous drought exposure leads to greater drought resistance in eucalypts through changes in morphology rather than physiology ». *Tree Physiology* 41 (7): 1186-98. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpaa176>.
- Rajashekar, C. B., et M. J. Burke. 1996. « Freezing Characteristics of Rigid Plant Tissues (Development of Cell Tension during Extracellular Freezing) ». *Plant Physiology* 111 (2): 597-603. <https://doi.org/10.1104/pp.111.2.597>.
- Rajashekar, C., Dali Tao, et P. H. Li. 1983. « Freezing Resistance and Cold Acclimation in Turfgrasses I ». *HortScience* 18 (1): 91-93. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.18.1.91>.
- Ranganathan, Kapilan, Walid El Kayal, Janice E. K. Cooke, et Janusz J. Zwiazek. 2016. « Responses of Hybrid Aspen Over-Expressing a PIP2;5 Aquaporin to Low Root Temperature ». *Journal of Plant Physiology* 192 (mars): 98-104. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2016.02.001>.
- Redfern, D. B., S. C. Gregory, J. E. Pratt, et G. A. Macaskill. 1987. « Foliage Browning and Shoot Death in Sitka Spruce and Other Conifers in Northern Britain during Winter 1983?84 ». *Forest Pathology* 17 (3): 166-80. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.1987.tb00742.x>.

- Reich, Richard William. 1990. « Causes of dieback of Douglas-fir in the interior of B.C. » *British Columbia*.
- Repo, Tapani, Ilkka Leinonen, Aija Ryyppö, et Leena Finér. 2004. « The Effect of Soil Temperature on the Bud Phenology, Chlorophyll Fluorescence, Carbohydrate Content and Cold Hardiness of Norway Spruce Seedlings ». *Physiologia Plantarum* 121 (1): 93-100. <https://doi.org/10.1111/j.0031-9317.2004.00307.x>.
- Ruelland, Eric, Marie-Noelle Vaultier, Alain Zachowski, et Vaughan Hurry. 2009. « Chapter 2 Cold Signalling and Cold Acclimation in Plants ». In *Advances in Botanical Research*, 49:35-150. Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0065-2296\(08\)00602-2](https://doi.org/10.1016/S0065-2296(08)00602-2).
- Sagar, R. M., et M. J. Waterhouse. 2010. « Microclimate Studies in Uniform Shelterwood Systems in the Sub-Boreal Spruce Zone of Central British Columbia. » *Technical Report - Ministry of Forests and Range, Forest Science Program, British Columbia*, n° No.057. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20103123297>.
- Sakai, A. 1970. « Mechanism of Desiccation Damage of Conifers Wintering in Soil-Frozen Areas ». *Ecology* 51 (4): 657-64. <https://doi.org/10.2307/1934045>.
- Sakes, Aimée, Marleen van der Wiel, Paul W. J. Henselmans, Johan L. van Leeuwen, Dimitra Dodou, et Paul Breedveld. 2016. « Shooting Mechanisms in Nature: A Systematic Review ». *PLOS ONE* 11 (7): e0158277. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158277>.
- Salmon, Yann, José M. Torres-Ruiz, Rafael Poyatos, Jordi Martinez-Vilalta, Patrick Meir, Hervé Cochard, et Maurizio Mencuccini. 2015. « Balancing the Risks of Hydraulic Failure and Carbon Starvation: A Twig Scale Analysis in Declining Scots Pine ». *Plant, Cell & Environment* 38 (12): 2575-88. <https://doi.org/10.1111/pce.12572>.
- Samek, Michal, Petr Novotný, Roman Modlinger, Martin Fulín, František Beran, Amit Roy, et Vítězslava Pešková. 2019. « Impact of Rhabdocline Pseudotsugae and Phaeocryptopus Gaeumannii on the Selection of Suitable Provenances of Douglas Fir in Central Europe ». *Forests* 10 (3): 204. <https://doi.org/10.3390/f10030204>.
- Schopfer, Peter. 2006. « Biomechanics of Plant Growth ». *American Journal of Botany* 93 (10): 1415-25. <https://doi.org/10.3732/ajb.93.10.1415>.
- Sergent, Anne-Sophie, Philippe Rozenberg, et Nathalie Bréda. 2014. « Douglas-Fir Is Vulnerable to Exceptional and Recurrent Drought Episodes and Recovers Less Well on Less Fertile Sites ». *Annals of Forest Science* 71 (6): 697-708. <https://doi.org/10.1007/s13595-012-0220-5>.
- Sevanto, Sanna, Noel Michele Holbrook, et Marilyn Ball. 2012. « Freeze/Thaw-Induced Embolism: Probability of Critical Bubble Formation Depends on Speed of Ice Formation ». *Frontiers in Plant Science* 3. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2012.00107>.
- Sevanto, Sanna, Nate G. McDowell, L. Turin Dickman, Robert Pangle, et William T. Pockman. 2014. « How Do Trees Die? A Test of the Hydraulic Failure and Carbon Starvation Hypotheses ». *Plant, Cell & Environment* 37 (1): 153-61. <https://doi.org/10.1111/pce.12141>.
- Soitamo, Arto J., Mirva Piippo, Yagut Allahverdiyeva, Natalia Battchikova, et Eva-Mari Aro. 2008. « Light has a specific role in modulating Arabidopsis gene expression at low temperature ». *BMC Plant Biology* 8 (1): 13. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-8-13>.
- Solberg, éd. 1993. « Monitoring of Abiotic Forest Diseases in Norway ». In *Forest Pathological Research in Northern Forests with a Special Reference to Abiotic Stress Factors: Extended SNS Meeting in Forest Pathology in Lapland, Finland, 3 - 7 August, 1992*, 89-93. Metsäntutkimuslaitoksen Tiedonantoja 451. Helsinki: Metsäntutkimuslaitos.
- Sperry, John S., et Takefumi Ikeda. 1997. « Xylem cavitation in roots and stems of Douglas-fir and white fir ». *Tree Physiology* 17 (4): 275-80. <https://doi.org/10.1093/treephys/17.4.275>.
- Sperry, John S., et June E. M. Sullivan. 1992. « Xylem Embolism in Response to Freeze-Thaw Cycles and Water Stress in Ring-Porous, Diffuse-Porous, and Conifer Species 1 ». *Plant Physiology* 100 (2): 605-13. <https://doi.org/10.1104/pp.100.2.605>.
- Spiecker, H. 2019. « Douglas-Fir - What Science Can Tell Us – an Option for Europe », janvier. <https://policycommons.net/artifacts/1802960/douglas-fir-what-science-can-tell-us/2534604/>.
- Špulák, O., et V. Balcar. 2013. « Temperatures at the Margins of a Young Spruce Stand in Relation to Aboveground Height ». *IForest - Biogeosciences and Forestry* 6 (6): 302. <https://doi.org/10.3832/ifor0815-006>.

- Stoutjesdijk, Ph., et J.J. Barkman. 2014. *Microclimate, Vegetation & Fauna*. KNNV Publishing. <https://doi.org/10.1163/9789004297807>.
- Strand, M., T. Lundmark, I. Soderbergh, et P.-E. Mellander. 2002. « Impacts of Seasonal Air and Soil Temperatures on Photosynthesis in Scots Pine Trees ». *Tree Physiology* 22 (12): 839-47. <https://doi.org/10.1093/treephys/22.12.839>.
- Strimbeck, G.R., D.H. DeHayes, J.B. Shane, G.J. Hawley, et P.G. Schaberg. 1995. « Midwinter dehardening of montane red spruce during a natural thaw ». *Canadian Journal of Forest Research* 25 (12): 2040-44. <https://doi.org/10.1139/x95-221>.
- Suzuki, Nobuhiro, Shai Koussevitzky, Ron Mittler, et Gad Miller. 2012. « ROS and Redox Signalling in the Response of Plants to Abiotic Stress ». *Plant, Cell & Environment* 35 (2): 259-70. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2011.02336.x>.
- Suzuki, Nobuhiro, et Ron Mittler. 2006. « Reactive Oxygen Species and Temperature Stresses: A Delicate Balance between Signaling and Destruction ». *Physiologia Plantarum* 126 (1): 45-51. <https://doi.org/10.1111/j.0031-9317.2005.00582.x>.
- Taiz, L., E. Zeiger, I. M. Møller, et A. Murphy. 2015. « Plant Physiology and Development. » *Plant Physiology and Development.*, n° Ed. 6. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20173165866>.
- Tardieu, Francois, et Thierry Simonneau. 1998. « Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand: Modelling isohydric and anisohydric behaviours ». *Journal of Experimental Botany* 49 (mars): 419-32. https://doi.org/10.1093/jexbot/49.suppl_1.419.
- Tegischer, K., M. Tausz, G. Wieser, et D. Grill. 2002. « Tree- and Needle-Age-Dependent Variations in Antioxidants and Photoprotective Pigments in Norway Spruce Needles at the Alpine Timberline ». *Tree Physiology* 22 (8): 591-96. <https://doi.org/10.1093/treephys/22.8.591>.
- Thalmann, Matthias, et Diana Santelia. 2017. « Starch as a Determinant of Plant Fitness under Abiotic Stress ». *New Phytologist* 214 (3): 943-51. <https://doi.org/10.1111/nph.14491>.
- Thomas, F. M., R. Bögelein, et W. Werner. 2015. « Interaction between Douglas Fir and European Beech - Investigations in Pure and Mixed Stands. » *Forstarchiv* 86 (4): 83-91.
- Thurm, Eric A., et Hans Pretzsch. 2016. « Improved Productivity and Modified Tree Morphology of Mixed versus Pure Stands of European Beech (*Fagus sylvatica*) and Douglas-Fir (*Pseudotsuga menziesii*) with Increasing Precipitation and Age ». *Annals of Forest Science* 73 (4): 1047-61. <https://doi.org/10.1007/s13595-016-0588-8>.
- Thurm, Eric A., Enno Uhl, et Hans Pretzsch. 2016. « Mixture Reduces Climate Sensitivity of Douglas-Fir Stem Growth ». *Forest Ecology and Management* 376 (septembre): 205-20. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2016.06.020>.
- Tinus, R. W., K. E. Burr, N. Atzmon, et J. Riov. 2000. « Relationship between Carbohydrate Concentration and Root Growth Potential in Coniferous Seedlings from Three Climates during Cold Hardening and Dehardening ». *Tree Physiology* 20 (16): 1097-1104. <https://doi.org/10.1093/treephys/20.16.1097>.
- Tranquillini, Walter. 1979. « Climatic Resistance and Damage of Trees at Timberline ». In *Physiological Ecology of the Alpine Timberline: Tree Existence at High Altitudes with Special Reference to the European Alps*, édité par Walter Tranquillini, 91-111. Ecological Studies. Berlin, Heidelberg: Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-67107-4_8.
- Tranquillini, W. (1982). Frost-drought and its ecological significance. In *Physiological plant ecology II: water relations and carbon assimilation* (pp. 379-400). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Turgeon, Robert. 2010. « The Puzzle of Phloem Pressure ». *Plant Physiology* 154 (2): 578-81. <https://doi.org/10.1104/pp.110.161679>.
- Tyree, Melvin T., et Shudong Yang. 1992. « Hydraulic Conductivity Recovery versus Water Pressure in Xylem of *Acer saccharum* 1 ». *Plant Physiology* 100 (2): 669-76. <https://doi.org/10.1104/pp.100.2.669>.
- Urli, Morgane, Jean-Baptiste Lamy, Fabrice Sin, Régis Burrell, Sylvain Delzon, et Annabel J. Porté. 2015. « The High Vulnerability of *Quercus robur* to Drought at Its Southern Margin Paves the Way for *Quercus ilex* ». *Plant Ecology* 216 (2): 177-87. <https://doi.org/10.1007/s11258-014-0426-8>.

- Valeriu-Norocel Nicolescu. 2020. « Douglas-Fir Ecology ». In *Douglas-Fir - an Option for Europe*, édité par Valeriu-Norocel Nicolescu, 11:5. What Science Can Tell Us. European Forest Institute. <https://doi.org/10.36333/wsetu11>.
- Van Pelt, Robert, et Jerry F. Franklin. 1999. « Response of Understory Trees to Experimental Gaps in Old-Growth Douglas-Fir Forests ». *Ecological Applications* 9 (2): 504-12. [https://doi.org/10.1890/1051-0761\(1999\)009\[0504:ROUTTE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(1999)009[0504:ROUTTE]2.0.CO;2).
- Vilagrosa, Alberto, Jordi Cortina, Eustaquio Pelegrín, et Juan Bellot. 2003. « Suitability of Drought-Preconditioning Techniques in Mediterranean Climate ». *Restoration Ecology* 11 (juin): 208-16. <https://doi.org/10.1046/j.1526-100X.2003.00172.x>.
- Volaire, Florence, Karim Barkaoui, David Grémillet, Guillaume Charrier, Olivier Dangles, Laurent J Lamarque, Nicolas Martin-StPaul, et Isabelle Chuine. 2023. « Is a seasonally reduced growth potential a convergent strategy to survive drought and frost in plants? » *Annals of Botany* 131 (2): 245-54. <https://doi.org/10.1093/aob/mcac153>.
- Wan, X., S. M. Landhausser, J. J. Zwiazek, et V. J. Lieffers. 1999. « Root Water Flow and Growth of Aspen (*Populus Tremuloides*) at Low Root Temperatures ». *Tree Physiology* 19 (13): 879-84. <https://doi.org/10.1093/treephys/19.13.879>.
- Wang, Wenna, et Günter Hoch. 2022. « Negative effects of low root temperatures on water and carbon relations in temperate tree seedlings assessed by dual isotopic labelling ». *Tree Physiology* 42 (7): 1311-24. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpac005>
- Wingler, Astrid. 2015. « Comparison of signaling interactions determining annual and perennial plant growth in response to low temperature ». *Frontiers in Plant Science* 5. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2014.00794>.
- Woodruff, David R., et Frederick C. Meinzer. 2011. « Water Stress, Shoot Growth and Storage of Non-Structural Carbohydrates along a Tree Height Gradient in a Tall Conifer ». *Plant, Cell & Environment* 34 (11): 1920-30. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2011.02388.x>.
- Wyant, James G., Philip N. Omi, et Richard D. Laven. 1986. « Fire Induced Tree Mortality in a Colorado Ponderosa Pine/Douglas-fir Stand ». *Forest Science* 32 (1): 49-59. <https://doi.org/10.1093/forestscience/32.1.49>.
- Yamazaki, J. Y., S. Tsuchiya, S. Nagano, et E. Maruta. 2007. « Photoprotective Mechanisms against Winter Stresses in the Needles of *Abies Mariesii* Grown at the Tree Line on Mt. Norikura in Central Japan ». *Photosynthetica* 45 (4): 547-54. <https://doi.org/10.1007/s11099-007-0094-1>.
- Yamazaki, Koji. 2003. « Effects of Pruning and Brush Clearing on Debarking within Damaged Conifer Stands by Japanese Black Bears ». *Ursus* 14 (1): 94-98.
- Yun, Mi R., Hye M. Park, Kyo W. Seo, Seung J. Lee, Dong S. Im, et Chi D. Kim. 2010. « 5-Lipoxygenase plays an essential role in 4-HNE-enhanced ROS production in murine macrophages via activation of NADPH oxidase ». *Free Radical Research* 44 (7): 742-50. <https://doi.org/10.3109/10715761003758122>.
- Zhang, Ao, Zhen-Hai Cui, Jia-Lin Yu, Zi-Ling Hu, Rui Ding, Da-Ming Ren, et Li-Jun Zhang. 2016. « Dissipation of Excess Excitation Energy of the Needle Leaves in *Pinus* Trees during Cold Winters ». *International Journal of Biometeorology* 60 (12): 1953-60. <https://doi.org/10.1007/s00484-016-1182-3>.
- Zimmermann, Martin H. 1964. « The Effect of Low Temperature on Ascent of Sap in Trees ». *Plant Physiology* 39 (4): 568-72.
- Zimmerman MH (1983) Xylem structure and the ascent of the sap. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo.
- Zweifel, R., H. Item, et R. Hasler. 2001. « Link between Diurnal Stem Radius Changes and Tree Water Relations ». *Tree Physiology* 21 (12-13): 869-77. <https://doi.org/10.1093/treephys/21.12-13.869>.
- Zweifel, R., L. Zimmermann, et D. M. Newbery. 2005. « Modeling tree water deficit from microclimate: an approach to quantifying drought stress ». *Tree Physiology* 25 (2): 147-56. <https://doi.org/10.1093/treephys/25.2.147>.
- Zweifel, Roman, Hans Item, et Rudolf Häsler. 2000. « Stem Radius Changes and Their Relation to Stored Water in Stems of Young Norway Spruce Trees ». *Trees* 15 (1): 50-57. <https://doi.org/10.1007/s004680000072>.

Zweifel, Roman, Kathy Steppe, et Frank J. Sterck. 2007. « Stomatal Regulation by Microclimate and Tree Water Relations: Interpreting Ecophysiological Field Data with a Hydraulic Plant Model ». *Journal of Experimental Botany* 58 (8): 2113-31. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm050>.

Abstract

Study of winter reddening in Douglas-fir: Between mild temperatures & ice formation

The Douglas fir is the first reforestation species in the Auvergne-Rhône-Alpes region and the second in France as a whole, and is of considerable economic importance in France, where 13 million trees are produced each year. Winter reddening affects young Douglas-fir (< 15 years old), affecting up to 80% of the plantation. A tree that has reddened has no silvicultural future and typically dies within a year. The aim of this PhD thesis was to gain a better understanding of winter reddening by identifying the climatic parameters that trigger it, as well as the physiological mechanism(s) that cause needle reddening.

A literature review and bioclimatic analysis were conducted to identify critical climatic factors. The review identified certain climatic conditions that are characteristic of 'reddening' years, including anticyclonic periods after winter and/or alternating cold and warm periods. Both the literature synthesis and the bioclimatic analysis identified a combination of climatic variables that include warm daily temperatures, high daily temperature amplitude, at least moderate wind speeds, and relative humidity. However, the climate analysis did not identify freeze-thaw cycles with cold night temperatures, despite their mention in the literature.

To comprehend the process of Douglas fir reddening, we first identified gaps in our knowledge of winter reddening. We then proposed potential mechanisms, either single or interacting, that cause this physiological disorder. These mechanisms include winter drought leading to hydraulic failure, photo-oxidative stress, and premature deacclimation. Under controlled conditions, young Douglas fir trees were exposed to winter drought through a temperature differential between roots and canopy ($T_{SOIL} < 5^{\circ}\text{C}$; $T_{MOY_AIR} \sim 14^{\circ}\text{C}$). Some of the trees were exposed to light intensities that could induce photooxidative stress (greater than 1800 PPFD). Moderate water stress was induced by cold soil temperatures that limited root water uptake, while warm air temperatures caused water loss at the needle level. However, the Douglas fir was able to acclimate to the new environment and resume growth. Exposure to high light intensity did not cause irreversible damage to PSII or photooxidative stress. No reddening of the Douglas fir was observed, thus refuting hypothesis 2, but partially supporting hypothesis 1, as the canopy was not exposed to freezing stress. In the field, we coupled continuous measurements of young Douglas fir diameter variation with temperature/humidity measurements from four plots in the Massif Central from December 2020 to June 2023. The spring frosts that occurred in April 2021 on deacclimated Douglas fir did not result in needle reddening or cambial damage, failing to validate hypothesis 3. However, a comparison between an asymptomatic winter (2021) and a winter with reddening (2022) revealed significant hydraulic stress generated from the apex, associated with an anticyclone period in January 2022. Daily transpiration and freeze-thaw cycles can increase hydraulic stress, potentially exacerbating hydraulic failure and leading to needle desiccation and reddening. Hypothesis 1 is favoured and should be tested under controlled conditions.

Keywords: Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii* Mirb. Franco), winter hydraulic failure, freeze-thaw cycles, photo-oxidative stress, cold early deacclimation

Le Douglas, première essence de reboisement en région Auvergne-Rhône-Alpes et seconde au niveau national, est d'intérêt économique majeur en France avec 13 millions de plants produits par an. Un phénomène de rougissement physiologique affectant les jeunes Douglas (< 15 ans), a été observé en moyenne un hiver sur trois en France, lors des 30 dernières années et peut atteindre jusqu'à 80% de la plantation. Un arbre rougissant n'a pas d'avenir sylvicole et meurt généralement dans l'année suivant le rougissement. Les objectifs de ma thèse ont été de comprendre le phénomène de rougissement hivernal à travers l'identification des paramètres climatiques déclencheurs et du mécanisme physiologique induisant le rougissement des aiguilles.

Afin d'identifier l'aléa climatique critique, une synthèse approfondie basée sur la littérature, ainsi qu'une analyse bioclimatique ont été menées. La synthèse de littérature a permis d'identifier certaines conditions climatiques caractéristiques des années à rougissement à savoir des périodes anticycloniques en sortie d'hiver et/ou la succession de périodes froides et chaudes. La synthèse comme l'analyse bioclimatique ont identifié, plusieurs variables climatiques concomitantes à savoir des températures chaudes en journée, une forte amplitude thermique journalière, une vitesse de vent élevée ainsi qu'une humidité relative de l'air faible. Les cycles gel-dégel, soit des températures nocturnes gélives, ne ressortaient pas de l'analyse bioclimatique mais étaient mentionnés dans la littérature.

Afin de comprendre comment un Douglas rougit, j'ai, dans un premier temps, mis en évidence les lacunes de connaissances sur le rougissement hivernal et proposé des mécanismes potentiels pouvant, seuls ou en interaction, induire ce désordre physiologique à savoir ; 1) une sécheresse hivernale induisant des défaillances hydrauliques, 2) un stress photo-oxydatif et 3) une désacclimatation précoce. En conditions contrôlées, nous avons exposé des jeunes Douglas à une sécheresse hivernale *via* un différentiel thermique entre les racines et le houppier de l'arbre (sol froid < 5°C et air chaud ~ 14°C). Une partie de ces arbres a été exposée à des intensités lumineuses susceptibles d'induire un stress photo-oxydatif (> 1800 PPFD). Les températures froides du sol ont induit un stress hydrique modéré en limitant l'absorption d'eau racinaire alors que les températures chaudes de l'air ont favorisé les pertes hydriques au niveau des aiguilles. Cependant, les Douglas ont pu s'acclimater à ce nouvel environnement jusqu'à leur reprise de croissance. L'exposition à une intensité lumineuse élevée n'a pas généré de dommages irréversibles sur le PSII, ni de stress photo-oxydatif. Aucun rougissement du Douglas n'a été observé suggérant que le mécanisme physiologique induisant le rougissement n'est pas la sécheresse hivernale – telle que définie par nos hypothèses - ou le stress photo-oxydatif. Sur le terrain, nous avons mesuré en continu de décembre 2020 à juin 2023 les variations de diamètre de jeunes douglas ainsi que les températures et hygrométrie de l'air au sein de quatre parcelles dans le Massif Central. Les gels printaniers d'avril 2021 sur des Douglas désacclimatés n'ont pas été suivis de rougissement de l'aiguille ni de dommages cambiaux, ce qui est en contradiction avec l'hypothèse de désacclimatation précoce. Néanmoins, la comparaison d'un hiver sans rougissement (2021) avec un hiver à rougissement (2022) a permis de souligner une forte contrainte hydrique générée depuis l'apex, en lien avec une période anticyclonique en janvier 2022. La défaillance hydraulique serait favorisée par une transpiration quotidienne à laquelle s'ajoutent des cycles gel-dégel qui amplifient la contrainte hydrique et créent des défaillances hydrauliques dans le houppier, pouvant expliquer le dessèchement et le rougissement de l'aiguille. Ainsi, l'hypothèse de sécheresse hivernale est la plus plausible et mériterait d'être testée en conditions contrôlées.

Mots-clés : Douglas (*Pseudotsuga menziesii* Mirb. Franco), défaillance hydraulique hivernale, cycles gel-dégel, stress photo oxydatif, désacclimatation précoce