

Sommaire

I-Introduction	1
1. Présentation des structures d'accueil.....	3
1.1. Institut national de la recherche agronomique	3
1.1.1 Au niveau national.....	3
1.1.2 Unité PSH du Centre Provence-Alpes-Côte d'Azur	3
1.2 Plateforme BioNanoNMRI	3
1.3 Projet APLIM	4
2. Partie bibliographique	4
2.1 Etude des flux de la plante de tomate.....	4
2.1.1 Systèmes de transport de la plante de tomate	4
a- Voie xylémienne.....	4
Structure et rôle	4
Fonctionnement.....	4
b- Voie phloémienne	5
Structure et rôle	5
Fonctionnement.....	5
2.1.2 Rôle des flux dans la croissance du fruit.....	6
a- Influx d'eau.....	6
b- Flux au niveau de la zone d'abscission	6
2.1.3 Impact du déficit hydrique et carboné sur les flux.....	6
a- Sur la croissance de la plante	6
b- Sur la croissance du fruit.....	7
2.1.4 Modèle plante virtuelle	7
2.1.5 Technologies d'étude du statut hydrique et carboné de la plante	8
2.1.6 Apport de la technologie IRM-RMN pour l'étude des flux dans la plante	10
2.2 Phénomène de Résonance Magnétique Nucléaire	11
2.2.1 Historique	11
2.2.2 Principe de la RMN	11
a- Notion de spin nucléaire.....	11
b- Origine du signal RMN	11
2.2.3- Détection du signal	12

a- Principe.....	12
b- Représentation électrocinétique de l'antenne.....	12
c- Rapport Signal sur Bruit.....	13
2.2.4 - Phénomène de relaxation	13
a- Relaxation longitudinale ou spin réseau.....	13
b- Relaxation transversale ou spin-spin	14
2.2.5 Imagerie par résonance magnétique nucléaire	14
2.3 Contexte et sujet de stage.....	14
II Matériel et méthodes.....	16
1. Evolution des temps de relaxation et du SNR selon la fréquence de résonance.....	16
1.1 Matériel	16
1.1.1 Matériel végétal	16
a- Variété	16
b- Conditions de culture	16
1.1.2 Instrumentation RMN.....	16
1.2 Méthodes	17
1.2.1 Mesure du T1.....	17
1.2.2 Mesure du T2.....	17
1.2.3 Mesure du SNR	17
1.3 Analyse des résultats	17
2. Recherche de biomarqueurs RMN des flux hydrocarbonés au cours du nyctémère puis au cours d'un stress hydrique	18
2.1 Matériel	18
2.1.1 Matériel végétal	18
2.1.2 Instrumentation RMN.....	18
2.2 Méthodes	18
2.2.1 Dispositif expérimental.....	18
2.2.2 Conduite de l'essai.....	18
2.2.3 Mesures des différents biomarqueurs RMN	18
2.2.4 Analyse des résultats.....	18
3. Recherche de biomarqueurs RMN des flux hydrocarbonés après défoliation.....	19
3.1 Matériel	20

3.1.1 Matériel végétal	20
3.2 Méthodes	20
3.2.1 Dispositif expérimental et conduite de l'essai	20
3.2.2 Mesures des différents biomarqueurs RMN	20
3.2.3 Analyse des résultats	20
4. Etude de l'évolution du T2 par suivi IRM	20
4.1 Matériel	21
4.1.1 Matériel végétal	21
4.1.2 Instrumentation RMN	21
4.2 Méthodes	21
4.2.1 Dispositif expérimental et conduite de l'essai	21
4.2.2 Mesure du T2.....	21
4.2.3 Analyse des résultats.....	21
III Résultats	22
1. Evolution des T1, T2 et du SNR selon f_0 au sein d'une tige de tomate	22
1.1 Evolution des temps de relaxation selon f_0 au sein d'une tige de tomate	22
1.2 Evolution du SNR selon f_0 au sein d'une tige de tomate	22
2 .Recherche de biomarqueurs RMN des flux hydrocarbonés au cours du nyctémère chez la tomate	22
2.1 Impact de cycles jours nuits sur la repousse longitudinale.....	22
2.1.1 Evolution du temps de relaxation T1	22
2.1.2 Etude de l'évolution des valeurs de SNR d'après une expérience de saturation ...	23
2.2 Impact de cycles jours nuits sur la repousse transversale	23
2.2.1 Etude de l'évolution du temps de relaxation T2.....	23
2.2.2 Etude de l'évolution des valeurs de SNR d'après une expérience CPMG	23
3. Recherche de biomarqueurs RMN des flux hydrocarbonés au cours d'un stress hydrique chez la tomate	23
3.1 Impact d'un stress hydrique sur la repousse longitudinale et ses composants.....	23
3.1.1 Evolution du temps de relaxation T1	23
3.1.2 Etude de l'évolution des valeurs de SNR d'après une expérience de saturation ...	24
3.2 Impact d'un stress hydrique sur la repousse transversale et ses composants	24
3.2.1 Etude de l'évolution du temps de relaxation T2.....	24
3.2.2 Etude de l'évolution des valeurs de SNR d'après une expérience CPMG	24

4. Recherche de biomarqueurs RMN des flux hydrocarbonés après défoliation.....	25
4.1 Etude de l'évolution du temps de relaxation T2	25
4.2 Etude de l'évolution du SNR d'après une expérience CPMG.....	25
5 Etude de l'évolution du T2 par suivi IRM	26
5.1 Répartition tissulaire des T2.....	26
5.2 Evolution des T2 au cours du nycthémère	26
IV Discussion	27
1. Evolution des T1, T2 et du SNR selon f_0 au sein d'une tige de tomate.....	27
2 .Recherche de biomarqueurs RMN des flux hydrocarbonés au cours du nycthémère et au cours d'un stress hydrique chez la tomate	27
2.1 Suivi des temps de relaxation T1 et T2.....	27
2.2 Suivi du SNR.....	29
3. Recherche de biomarqueurs RMN des flux hydrocarbonés après défoliation.....	30
3.1 Suivi du temps de relaxation T2	30
3.2 Suivi du SNR.....	31
4. Caractérisation des flux hydrocarbonés	32
V Conclusions et perspectives.....	33
Bibliographie	35

Glossaire/abréviations

APLIM : Advanced Plant Life Imaging and Metrology

CNRS : Centre National de Recherche Scientifique

CPMG : Carr-Purcell Meiboom Gill

EN : Entre-nœud

Inra : Institut national de la recherche agronomique

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

S(T1a) : Signal de la repousse longitudinale de la composante courte du T1

S(T1b) : Signal de la repousse longitudinale de la composante longue du T1

S(T2a) : Signal de la repousse transversale de la composante courte du T2

S(T2b) : Signal de la repousse transversale de la composante longue du T2

SNR : Signal Sur Bruit

TE : Temps d'écho

T1 : Temps de relaxation longitudinale

T1a : Temps de relaxation longitudinale de la composante courte

T1b : Temps de relaxation longitudinale de la composante longue

T2 : Temps de relaxation transversale

T2a : Temps de relaxation transversale de la composante courte

T2b : Temps de relaxation transversale de la composante longue

Listes annexes

ANNEXE I Composition de la solution nutritive utilisée pour irriguer les plants de tomate..	1
ANNEXE II : Evolution du poids et du diamètre de la tige du plant de tomate avant et après défoliation.....	2
ANNEXE III : Chronogramme de la séquence <i>écho de spin</i>	3
ANNEXE IV : Evolution de la distribution des T2 au sein des différents tissus de la tige de tomate au cours de cycles jours – nuits.....	4

Listes illustrations

Figure 1 : IRM horizontal VARIAN 9,4 T.

Figure 2 : IRM vertical OXFORD 4,7 T:

Figure 3 : Théorie de la cohésion tension expliquant les flux de sève brute chez les plantes.

Figure 4 : Complexe tube criblé - cellule compagne.

Figure 5 : Voie de circulation du phloème au sein d'une plante.

Figure 6 : Zone d'abscission du fruit de tomate.

Figure 7 : Représentation d'un modèle de plante virtuelle et de ses interactions avec l'environnement.

Figure 8 : Evolution des valeurs de potentiel hydrique mesurées au sein d'une tige et du fruit de tomate à l'aide d'un psychromètre.

Figure 9 : Comparaison entre les variations de diamètre de la tige d'un chêne et le flux xylémien mesuré à travers un modèle.

Figure 10 : Evolution des vitesses de flux xylémiens et phloémiens, mesurées par imagerie RMN, chez la Tomate au cours du temps.

Figure 11 : Evolution des vitesses de flux xylémiens et phloémiens mesurées par imagerie RMN, au niveau d'un hypocotyle de Ricin de 40 jours au cours du temps.

Figure 12 : Evolution du temps de relaxation T2 au cours de la conservation du fruit pour la variété Granny Smith et pour la variété EC.

Figure 13 : Mouvement de précession du spin autour de l'axe d'orientation du champ B_0 .

Figure 14 : Polarisation des spins sous B_0 .

Figure 15 : Phénomène d'excitation et de relaxation à la suite d'un pulse RF.

Figure 16 : Enregistrement du signal RMN au cours de la relaxation des spins.

Figure 17 : Représentation électrique d'une antenne RMN.

Figure 18 : Relaxation longitudinale.

Figure 19 : Relaxation transversale.

Figure 20 : Cycle de développement de la variété *Solanum lycopersicum* 'West virginia 106'.

Figure 21 : Antenne RMN découplée permettant l'émission et la réception du champ électromagnétique.

Figure 22 : Chronogramme de la séquence *saturation-récupération*.

Figure 23 : Chronogramme de la séquence *écho de spin CPMG*.

Figure 24 : Signal de relaxation transversale selon deux composantes.

Figure 25 : Antenne clipsable résonnant à 5 MHz construite dans le cadre de l'étude.

Figure 26 : Enceinte climatique construite dans le cadre de l'étude.

Figure 27 : Evolution de la PAR et de la température de l'air au sein de l'enceinte sur la durée de l'expérimentation.

Figure 28 : Evolution de l'hygrométrie de l'air et du substrat au sein de l'enceinte climatique sur la durée de l'expérimentation.

Figure 29 : Plant de tomate avant défoliation partielle puis après la coupe des feuilles.

Figure 30 : Evolution de la PAR et de la température au sein de l'enceinte avant et après défoliation.

Figure 31 : Evolution de l'hygrométrie de l'air et du substrat de la plante au sein de l'enceinte avant et après défoliation.

Figure 32 : Antenne *saddle-coil* clipsable et son support.

Figure 33 : Ajustement du support de l'antenne et de l'antenne *saddle coil* clipsable autour de la tige de tomate.

Figure 34 : Evolution des valeurs de T1 et T2 selon la fréquence f_0 au niveau de l'EN 21 d'une tige de tomate.

Figure 35 : Evolution du SNR selon la fréquence f_0 au niveau de l'EN 21 d'une tige de tomate.

Figure 36 : Evolution de T1 au sein d'une tige de tomate au cours du nyctémère. La lumière est d'intensité maximale.

Figure 37 : Evolution de S(T1) au sein d'une tige de tomate au cours du nyctémère.

Figure 38 : Evolution de T2 au sein d'une tige de tomate au cours du nyctémère.

Figure 39 : Evolution de S(T2) au sein d'une tige de tomate au cours du nyctémère.

Figure 40 : Evolution de T1 au sein d'une tige de tomate au cours d'un stress hydrique.

Figure 41 : Evolution de S(T1) au sein d'une tige de tomate au cours d'un stress hydrique.

Figure 42 : Evolution de T2 au sein d'une tige de tomate au cours d'un stress hydrique.

Figure 43 : Evolution de S(T2) au sein d'une tige de tomate au cours d'un stress hydrique.

Figure 44 : Evolution de T2 au sein d'une tige de tomate avant et après défoliation.

Figure 45 : Evolution de S(T2) au sein d'une tige de tomate avant et après défoliation.

Figure 46 : Cartographie des T2 au sein d'une tige de tomate et comparaison avec l'image de base et une coupe histologique. L

Figure 47 : Cartographie et distribution des T2 au sein d'une tige de tomate en période diurne.

Figure 48 : Cartographie et distribution des T2 au sein d'une tige de tomate en période nocturne.

I-Introduction

L'acquisition des ressources hydriques et carbonées ainsi que leurs flux au sein de la plante jouent un rôle essentiel dans le développement et la croissance de ses différents organes (fruits, graines, feuilles, racines...). En ce qui concerne les productions horticoles fruitières, les flux hydrocarbonés circulant vers le fruit sont particulièrement importants dans l'élaboration du rendement et de la qualité finale et ont donc également un impact socio-économique fort. En effet, l'acte d'achat du consommateur est de plus en plus conditionné par les qualités organoleptiques et nutritionnelles du produit. Ainsi, il est important de comprendre et quantifier les variations des flux au sein de la plante et des organes reproducteurs pour optimiser l'élaboration du rendement et la qualité finale. De plus, dans un contexte de changement climatiques et de raréfaction de certaines ressources, l'étude des effets des contraintes environnementales sur ces flux doit permettre de proposer de nouvelles stratégies de production (itinéraires techniques et sélection de géotypes mieux adaptés) afin d'anticiper les pertes de rendements et de maintenir la qualité des produits récoltés.

De nombreuses études se sont intéressées aux flux dans la plante en conditions optimales ou en réponse à des stress. Ces études abordent différentes échelles spatiales (de la molécule à la plante entière) et temporelles (de la minute au cycle de culture) et l'intégration des connaissances acquises à ces différentes échelles est un véritable challenge. Pour y parvenir, des modèles de plante virtuelle, décrivant l'acquisition des ressources en eau et en assimilats carbonés ainsi que leur disponibilité au sein de la plante ont été développés. Ils peuvent être couplés à des modèles de fruits virtuels permettant ainsi de décrire la croissance et l'élaboration de la qualité de ces derniers.

Ces modèles prédisent les flux hydrocarbonés au sein de la plante ainsi que les potentiels hydriques et osmotiques associés, en réponse à l'environnement. L'évaluation et la validation de ces modèles reposent sur l'acquisition de données parfois difficiles à mesurer d'un point de vue expérimental. Différentes technologies sont utilisées, dont certaines sont invasives ou destructives, perturbant ainsi les gradients de potentiels hydriques et osmotiques, moteurs des flux xylémiens et phloémiens.

Avec le développement des techniques de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) et d'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM), la recherche dispose désormais d'une instrumentation non destructive, non invasive et présentant une bonne résolution temporelle pour étudier les flux hydrocarbonés circulant au sein de la plante. Cette instrumentation, d'abord développée pour l'étude des matériaux et très utilisée en médecine humaine pour la détection rapide de maladies ou traumatismes, est depuis peu utilisée dans le domaine biologie végétale et ouvre un nouveau champ d'étude pour répondre aux enjeux auxquels la filière fruits et légumes fait face. En effet, cette dernière subit depuis de nombreuses années le poids de la concurrence internationale et est à la recherche de solutions pour tenter d'enrayer la chute

actuelle de la consommation des fruits et légumes et d'optimiser les rendements et la qualité finale des produits.

Légume le plus consommé dans le monde et représentant une production mondiale de plus de 163 millions de tonnes en 2013 (FAO), la tomate (*Solanum lycopersicum*) est d'une importance économique majeure. Actuellement, la production française, localisée principalement en région Bretagne et Provence Alpes Côte d'Azur, s'inscrit dans une conjoncture de crise de la consommation corrélée à une forte pression concurrentielle européenne et mondiale. Fruit d'étude modèle par excellence, la caractérisation de l'évolution des flux hydrocarbonés en son sein doit permettre d'améliorer son itinéraire technique de production qui pourra ensuite être adapté à d'autres types culturaux horticoles.

La problématique de cette étude est ainsi de savoir si des biomarqueurs RMN des flux hydrocarbonés chez la plante de tomate peuvent être mis en évidence, au cours de cycles journaliers ainsi qu'en réponse à des contraintes abiotiques.

Pour cela des études basées sur des techniques RMN à bas champs et des techniques IRM ont été mises en place. La variabilité des flux et des teneurs en eau au niveau temporel, ainsi que les réponses à des stress hydriques et carbonés seront étudiées via des expériences de relaxométrie et un suivi des processus physiologiques marqueurs du développement de la plante sera réalisé. Des travaux d'imagerie viendront les compléter dans le but d'avoir une approche visuelle des biomarqueurs identifiés. Les expériences de relaxométrie seront réalisées au sein d'une enceinte climatique de sorte à ne pas avoir à sortir la plante de son environnement naturel lors des expérimentations et d'être à même de contrôler ce dernier. Ces travaux de recherche doivent permettre à terme de calibrer et valider les hypothèses d'un modèle « plante virtuelle » développé pour prédire les flux au sein de la plante de tomate ainsi que la croissance et la qualité finale des fruits individuels.



Figure 1 : IRM horizontal VARIAN 9,4 T.



Figure 2 : IRM vertical OXFORD 4,7 T.

1. Présentation des structures d'accueil

1.1. Institut national de la recherche agronomique

1.1.1 *Au niveau national*

Premier institut de recherche agronomique en Europe, l'Institut national de la recherche agronomique (Inra), créé en 1946 et présidé et dirigé par Mr. François Houllier (jusqu'en aout 2016), engage et réalise des recherches au service d'enjeux de société. Ses principales missions consistent en l'acquisition et la diffusion de références scientifiques, en l'élaboration des programmes de recherche nationaux et européens et en la contribution à l'innovation scientifique. Les grands axes de recherche sont répartis selon différents enjeux tels que le développement d'une agriculture plus productive et compétitive, en meilleure adéquation avec les besoins nutritionnels de l'Homme et plus respectueuse de l'environnement. L'Inra, dont le financement est d'ordre public, se décompose en dix-sept centres de recherche répartis sur l'ensemble du territoire français et treize départements scientifiques.

1.1.2 *Unité PSH du Centre Provence-Alpes-Côte d'Azur*

L'Unité Plante et Système de culture Horticole (PSH) située à Avignon et faisant partie du Centre Inra PACA, s'inscrit au sein du pôle de recherche Production Horticole Intégrée (PHI) et a pour mission d'améliorer la qualité, aussi bien visuelle que gustative, des produits récoltés, dans le respect des normes environnementales existantes. Située au cœur d'un des plus grands bassins de production fruitière et légumière, l'unité, via des approches expérimentales et de modélisation, étudie l'impact des pratiques agricoles et de l'environnement sur le système plante à différentes échelles. Une des thématiques de recherche de l'unité est orientée sur l'analyse et la modélisation des interactions entre les ressources disponibles et les fonctions vitales de la plante en fonction de l'environnement et des pratiques culturales et c'est en son sein que s'inscrit le projet d' « Etude des Flux Hydrocarbonés chez la Tomate ».

1.2 Plateforme BioNanoNMRI

La plateforme BioNanoNMRI s'inscrit au sein du laboratoire Charles Coulomb, Unité Mixte de Recherche de l'Université Montpellier et du Centre National de Recherche Scientifique (CNRS), créée en 2011. Le laboratoire travaille sur des thématiques allant de la Physique théorique à la Biophysique et la Physico-Chimie et les travaux de recherche se décomposent en six axes. Parmi eux, se trouve le champ de recherche traitant de la Bio Nano Imagerie, représenté par Mr Christophe Goze-Bac, directeur de la plateforme BioNanoNMRI. La plateforme dédiée à l'Imagerie par Résonance Magnétique Nucléaire collabore avec des partenaires privés et publics désireux d'utiliser des techniques non invasives pour répondre à leurs problématiques. Les projets de recherche s'orientent autour d'études dans le domaine de la biologie, de la santé, de l'agronomie, ainsi qu'autour de la conceptualisation d'antennes plus performantes. La plateforme comprend un IRM horizontal VARIAN 9.4 T (Figure 1), un IRM vertical OXFORD 4.7 T (Figure 2) et un relaxomètre 0-2 T.

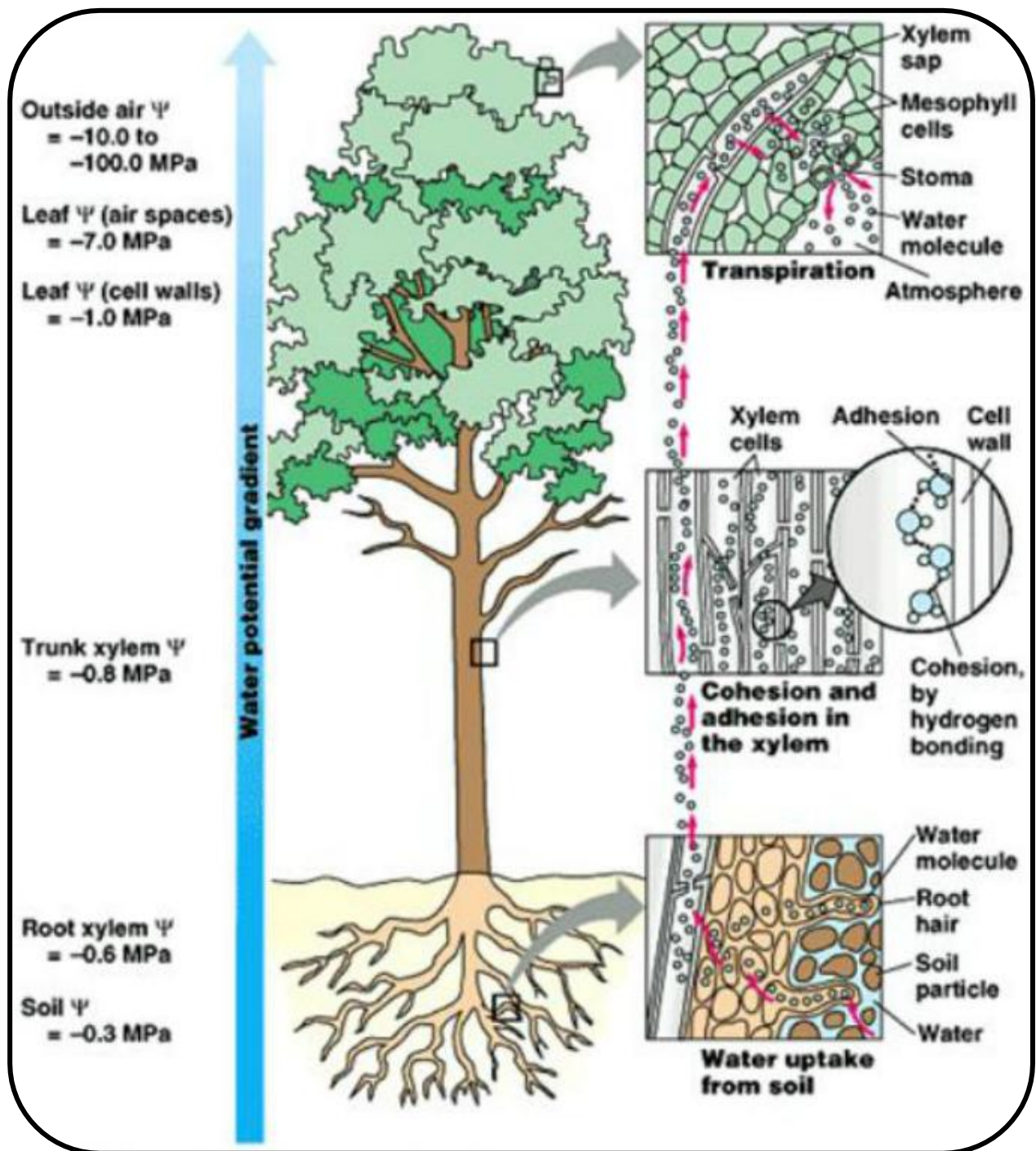


Figure 3 : Théorie de la cohésion tension expliquant les flux de sève brute chez les plantes (Source : Joyeux, Pairel, Tourret ; <http://docplayer.fr/16257184-Thème-1-a-5-les-relations-entre-organisation-et-mode-de-vie-résultat-de-l'évolution-l'exemple-de-la-vie-fixée-chez-les-plantes.ht>).

1.3 Projet APLIM

Cette étude des flux hydrocarbonés chez la Tomate s'inscrit au sein du projet Advanced Plant Life Imaging and Metrology (APLIM). Le consortium interdisciplinaire impliqué dans APLIM vise à développer et appliquer les technologies RMN à l'étude des Végétaux et plus particulièrement des plantes tropicales. Ainsi, physiologistes, physiciens, électroniciens et chimistes collaborent ensemble dans le but de répondre à des questions de recherche posées par les agronomes et la littérature scientifique. L'objectif est d'étudier les réponses des végétaux aux stress biotiques et abiotiques en utilisant des technologies non invasives et non destructives. Ce projet, qui s'inscrit dans un contexte de réchauffement climatique, a pour finalité de découvrir des marqueurs de visualisation des stress et de développer des variétés présentant des marqueurs de résistance ou d'adaptation à ceux-ci.

2. Partie bibliographique

2.1 Etude des flux de la plante de tomate

2.1.1 Systèmes de transport de la plante de tomate

a- Voie xylémienne

Structure et rôle

Au sein d'une plante le système xylémien assure le transport de l'eau et des sels minéraux de la partie racinaire jusqu'aux parties aériennes. Le xylème est constitué d'éléments conducteurs, de cellules parenchymateuses et de fibres ligneuses. Le système conducteur, comprend des trachéides et des vaisseaux qui sont tous deux formés de cellules mourant à maturité (Nabors, 2008). Les trachéides sont des cellules allongées ayant des extrémités en fuseau ainsi que des parois épaisses et lignifiées et comprennent de nombreuses ponctuations (Myburg et Sederoff, 2001). Leur alignement crée un système conducteur continu pouvant également transporter des acides aminés ainsi que des hormones (Gourieroux *et al.*, 2016). Les vaisseaux sont quant à eux plus courts et de diamètre plus grand que les trachéides et ils possèdent également une capacité de transport hydrique plus importante (Nabors, 2008) En revanche, ce plus grand diamètre augmente le risque d'embolie au sein du système de conduction (Tixier, 2013). Dans les tissus, l'eau peut être sous trois formes, à savoir fortement liée, faiblement liée et libre. Au sein du xylème, l'eau peut ensuite quitter les vaisseaux et être évaporée au cours de la transpiration. Elle permet également l'alimentation des tissus pour leur croissance, le maintien de leur turgescence et leur métabolisme et peut également être détournée vers le phloème pour participer au flux de masse (Hölttä *et al.*, 2005).

Fonctionnement

Le déplacement de l'eau au sein des éléments conducteurs se fait selon un gradient de potentiels hydriques décroissant (Figure 3). L'eau a un flux laminaire et circule vers les compartiments ayant les potentiels les plus négatifs selon la théorie de la cohésion-tension proposée par Dixon et Joly (1894) et selon laquelle l'évapotranspiration est l'élément moteur

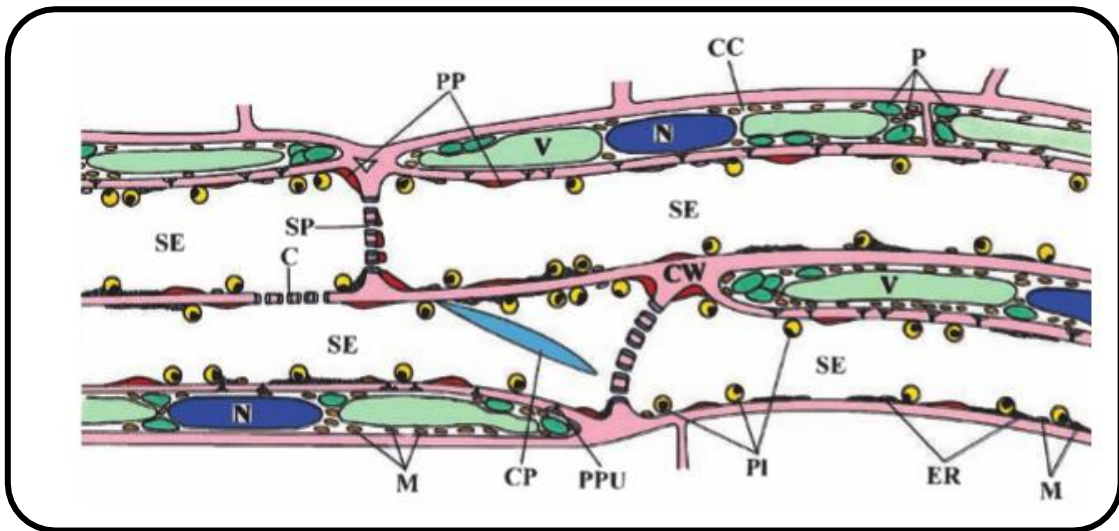


Figure 4 : Complexe tube criblé - cellule compagne (source : Van Bel, 2003)
 CC : Companioncells (cellule compagne) ; SE : sievelements (tubes criblés) ; PPU : plasmodesmaunits (plasmodesmes) ; PI : sievelementsplastid (chloroplastes) ; M : mitochondria (mitochondrie) ; ER : rediculum endoplasmique ; PP : parietalproteins (protéines pariétales) ; CP : protein cluster (complexe protéique) ; C : callose ; CW : cellwall (paroi cellulaire) ; N : nucleus (noyau) ; P : plastids (plastés) ; V : vacuole.

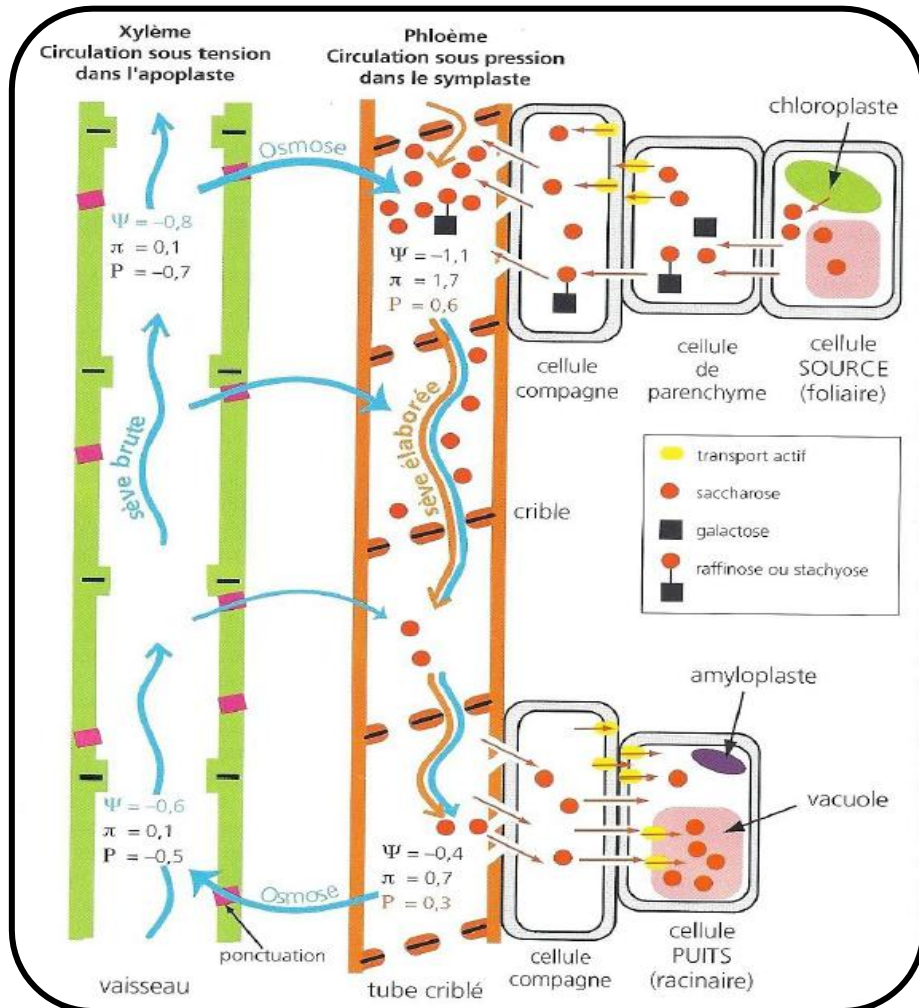


Figure 5 : Voie de circulation du phloème au sein d'une plante (Source : Joyeux, Pairel, Touret ; D'après Biologie et Physiologie végétale de S. Meyer, C. Reeb, R. Bosdeveix). Les flèches bleues représentent la circulation de la sève brute et les flèches oranges la circulation de la sève élaborée. La direction des flèches indique la direction du flux. Π : pression osmotique ; P : pression hydrostatique ; ψ : potentiel hydrique.

des flux d'eau. La cohésion des molécules d'eau entre elle est liée aux interactions entre les charges partielles négatives de l'atome d'oxygène (O₂) et celles positives des atomes d'hydrogène (H₁). L'eau est sous tension car la force de gravité l'attire vers le bas alors que la force motrice exercée par la transpiration des parties aériennes l'attire vers les étages supérieurs. Ainsi plus la transpiration de la plante est forte et plus les flux seront importants si la disponibilité au niveau racinaire est suffisante (Nabors, 2008). Le déplacement de l'eau peut se faire de cellule à cellule par la voie symplastique, entre les cellules par la voie apoplastique et également par voie transmembranaire. Le flux xylémien présente des variations journalières importantes et est bien plus important le jour que la nuit au niveau de la tige chez la Tomate. C'est en tout cas le résultat d'une étude RMN menée par Windt *et al.* (2006). Cette baisse de volume de flux nocturne est associée à une baisse de la transpiration ainsi qu'à une diminution de la surface de conduction de l'ordre de 25 % chez la Tomate due à un raccourcissement du diamètre des vaisseaux.

b- Voie phloémienne

Structure et rôle

La nutrition organique, minérale et hormonale des organes puits implique la voie phloémienne qui participe ainsi au contrôle de nombreux processus développementaux et physiologiques et à la signalisation longue distance au sein de la plante (Nabors, 2008). Le phloème véhicule les assimilats issus de la photosynthèse et est riche en glucides solubles, en acides aminés et des ARN circulent en son sein (Kehr et Buhtz, 2007). C'est une structure complexe comprenant trois types cellulaires principaux, à savoir les cellules parenchymateuses, les cellules compagnes et les cellules criblées. Ces deux derniers types cellulaires s'associent pour former un complexe cellule compagne – cellule criblée (Figure 4). Les premières assurent la charge des cellules criblées en assimilats alors que les secondes conduisent la sève phloémienne. Contrairement aux éléments xylémiens, les cellules du phloème sont vivantes.

Fonctionnement

Les flux phloémiens ascendants et descendants se font selon un écoulement sous pression, hypothèse proposée par Münch en 1930 (Nabors, 2008). Les assimilats sont transportés suivant un courant de masse entre les organes sources, tels que les feuilles, et les organes puits, tels que les fruits (Lalonde *et al.*, 2003). Au niveau des sources, la concentration en glucides solubles est forte, de par leur forte activité photosynthétique, et le potentiel hydrique est faible, dû à la transpiration. Cette baisse de potentiel hydrique induit un flux d'eau en provenance du xylème par osmose depuis les cellules voisines et, de ce fait, la pression hydrostatique augmente (Figure 5). Au niveau des puits, la concentration en sucres est plus faible, le potentiel osmotique diminue, et les flux d'eau en leur direction sont atténués car le potentiel hydrique est élevé. Il se crée ainsi un gradient de pression hydrostatique décroissant entre les organes sources et les organes puits et l'eau repasse ensuite dans les vaisseaux lignifiés par osmose (Pfautsch, 2015). Les flux phloémiens ne varient pas de façon significative

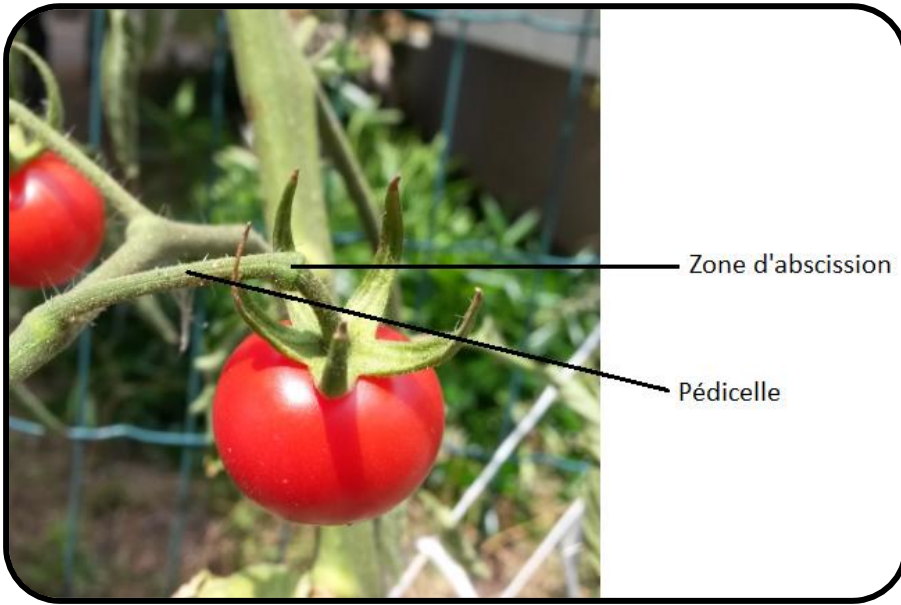


Figure 6 : Zone d'abscission du fruit de Tomate.

au cours du nycthémère chez la tomate, bien qu'une légère baisse de vélocité ait été observée au cours de la nuit (Windt *et al.*, 2006). Une même constance d'évolution des vitesses de flux au cours de cycles jours nuits a été mise en évidence, toujours par des mesures RMN au niveau de l'hypocotyle du riz (*Ricinus communis*) (Peuke *et al.*, 2001).

2.1.2 Rôle des flux dans la croissance du fruit

a- Influx d'eau

La croissance du fruit de tomate dépend des apports en eau, nutriments et autres assimilats provenant de la partie végétative de la plante. Après une intense phase de division pendant la phase précoce de développement, se produit la phase d'expansion cellulaire jusqu'à la maturation du fruit. Le processus d'expansion cellulaire est dû à une augmentation de la pression de turgescence vacuolaire ce qui induit un relâchement de la paroi et une croissance de la cellule. Il existe également une corrélation positive entre le phénomène d'endoréplication, correspondant à une augmentation de la quantité d'ADN, et la croissance cellulaire (Deluche, 2015). La hausse de la pression de turgescence permettant la croissance du fruit est induite par une entrée d'eau au sein des cellules qui serait majoritairement due à un influx phloémien. En effet, différents travaux de recherche (Ho *et al.*, 1987 ; Plaut *et al.*, 2004) ont montré que le phloème participerait à hauteur de 80 à 90 % des apports en eau vers le fruit. Toutefois, l'apport de l'instrumentation IRM a soulevé une contradiction quant à cette contribution puisque les expériences de Windt *et al.* (2009), ont mis en lumière le fait que le xylème prendrait part à 75 % de l'influx au niveau du pédoncule, sur la base de mesures faites en amont de la zone d'abscission, et serait majoritairement responsable de l'entrée d'eau vers le fruit. Les influx xylémiens et phloémiens présentent des dynamiques opposées au cours du nycthémère puisqu'en effet l'entrée d'eau via le phloème est principalement diurne alors que l'influx xylémien est maximal durant la phase nocturne (Ho *et al.*, 1987).

b- Flux au niveau de la zone d'abscission

L'abscission est un processus de séparation cellulaire naturel pouvant toucher les organes floraux, les feuilles ainsi que les fruits (Ito et Nakano, 2015). La zone d'abscission (ZA) (Figure 6) comprend plusieurs couches de cellules à faible densité cytoplasmique, prédéterminées à un stade précoce de développement, et se situe au niveau de la jonction entre le pédicelle et la tige. Cette zone est identifiée comme étant un site de haute résistance du xylème et seuls quelques vaisseaux sont présents en son sein (Van Ieperen *et al.*, 2003). La résistance au flux xylémien pourrait donc être marquée à ce niveau et de ce fait réduire l'influx vers le fruit. Toutefois, ce postulat a été remis en cause par Malone et Andrews (2001) qui affirment que cette résistance n'interfère pas avec l'influx xylémien vers le fruit.

2.1.3 Impact du déficit hydrique et carboné sur les flux

a- Sur la croissance de la plante

Le stress hydrique, selon son intensité, impacte la croissance végétative et induit des réponses physiologiques de la plante qui seront différentes si celle-ci est de type isohydrique ou

anhysohydrique (Tardieu et Simonneau, 1998). Le comportement isohydrique est caractérisé par une fermeture rapide des stomates, induite par une hausse de la synthèse d'acide abscissique (Osakabe *et al.*, 2014), permettant ainsi de maintenir le potentiel hydrique foliaire et de maintenir la turgescence cellulaire. Le comportement anisohydrique est lui marqué par le fait que les stomates restent ouverts pour un même niveau de stress hydrique induisant ainsi de fortes variations du potentiel hydrique foliaire, une diminution de la turgescence cellulaire et des micro-contractions diurnes de la tige plus importantes. Concernant le stress carboné, un ombrage de la plante conduit à moins grande diminution des potentiels hydriques ainsi qu'une plus faible micro contraction de la tige au cours de la journée comparativement à une plante exposée à une luminosité de 480 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ (Johnson *et al.*, 1992). Ce stress conduit de plus à une diminution de l'activité photosynthétique ainsi qu'à une baisse de la concentration en sucres au sein du phloème, ce qui à terme induit une diminution des flux phloémiens (Baldazzi *et al.*, 2013).

b- Sur la croissance du fruit

Contrairement à la plante entière où le stress hydrique impacte à la baisse certains paramètres physiologiques, la croissance des fruits n'est que légèrement réduite au cours de l'application du stress (Kitano, 1996), mais les effets dépendent de nombreux facteurs dont la durée et l'intensité du stress, le stade de la plante ou le génotype (Ripoll *et al.*, 2016). Le maintien de la croissance en cas de stress modéré s'expliquerait par le fait que les influx, à la fois phloémiens et xylémiens, sont maintenus lors de la période d'application du stress (Plaut *et al.*, 2004). Toutefois, ces résultats sont en contradiction avec ceux trouvés par Van Ieperen *et al.* (2002), qui démontre une diminution de la croissance des fruits lorsque les apports en eau sont restreints. Cette diminution de la croissance semble s'expliquer par le fait que le stress hydrique induit une hausse de la résistance hydraulique xylémienne au niveau du pédoncule ce qui réduirait de ce fait les apports en eau xylémiens vers le fruit.

En cas de fortes chaleurs, vectrices d'une diminution de la teneur en eau du sol, le potentiel hydrique de la tige peut devenir inférieur à celui du fruit, et ainsi provoquer un efflux d'eau depuis le fruit vers la partie végétative plus demandeuse de par sa forte évapotranspiration. Cette hypothèse d'inversion des flux a pour la première fois été mise en évidence chez le pommier (*Malus domestica*) et la sortie d'eau se faisait par voie xylémienne (Lang, 1990). Chez la tomate la visualisation d'un efflux vers la partie végétative a pu être observée sans que ne soit caractérisé le système conducteur emprunté par l'eau sortant du fruit (Johnson *et al.*, 1992). Cet efflux d'eau journalier est corrélé avec les observations de micro contractions de la tige durant la journée et avec le fait que la croissance des fruits est plus importante au cours de la nuit (Guichard, 1999 ; Johnson *et al.*, 1992).

2.1.4 Modèle plante virtuelle

La compréhension de la croissance et du développement du système plante est essentielle dans une optique d'amélioration des itinéraires techniques et culturaux mais aussi variétale.

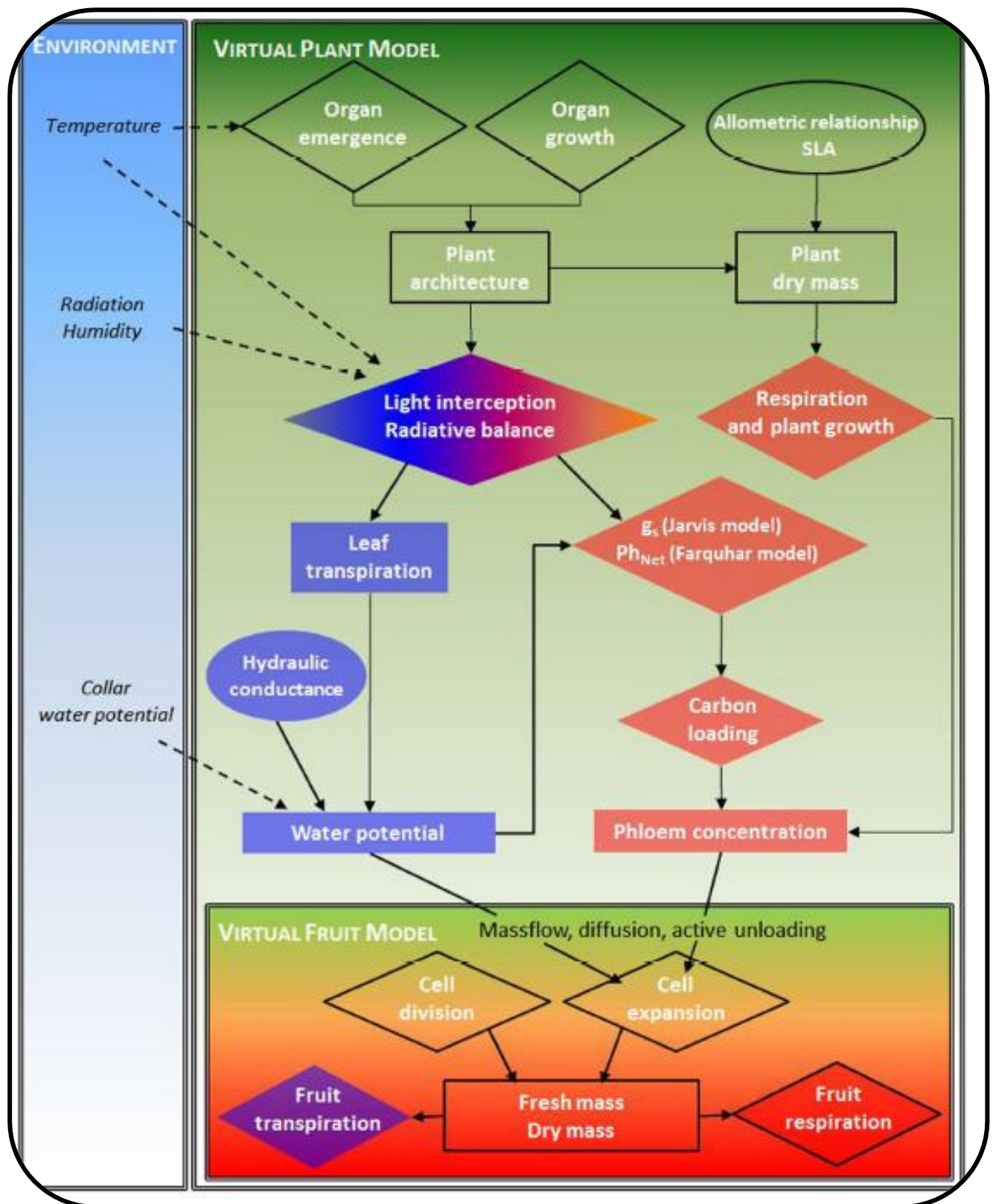


Figure 7 : Représentation d'un modèle de plante virtuelle et de ses interactions avec l'environnement (Baldazzi *et al.*, 2013). Les losanges représentent les différents processus relatifs à la croissance de la plante et du fruit. Les rectangles représentent les différentes variables du modèle. En bleu sont indiqués les facteurs impactant les ressources hydriques et en rouge les facteurs impactant les ressources carbonées. Les flèches indiquent les interactions entre différents processus.

Mais, de par la de multiplicité des facteurs pouvant impacter la croissance végétative et la croissance des fruits, ainsi que de par les nombreux niveaux d'organisation présents au sein du système plante, il est très difficile de prévoir la croissance de celle-ci. Toutefois, les travaux de modélisation permettent d'aborder ce problème et d'estimer le potentiel de croissance et de production d'une plante en fonction de son environnement. C'est ainsi qu'a été développé un modèle de plante virtuelle chez la Tomate (Baldazzi *et al.*, 2013) (Figure 7). Ce modèle représente les stades de développement de la plante, allant de la division cellulaire à la récolte, et est utilisé pour étudier virtuellement l'impact d'une limitation des ressources en eau et en carbone sur les flux de nutriments vers le fruit et au sein de la plante. La variabilité des réponses est analysée à différentes échelles, de la cellule jusqu'à l'organe qui sera récolté. Concernant les flux hydriques, ils sont, au sein du modèle, gouvernés par la chute des potentiels hydriques le long de la tige et par la variabilité de la conductivité hydraulique et l'hypothèse est posée que cette dernière diminue avec le diamètre de la tige et des vaisseaux. A chaque phénomène physiologique, tel que la croissance cellulaire ou le chargement du phloème, est associée une équation mathématique qui a été adaptée au modèle de plante virtuelle. Différents sous modèles peuvent ensuite être intégrés au sein du modèle plante virtuelle pour modéliser la qualité finale du fruit en fonction de contraintes environnementales. C'est ainsi qu'il est possible de déterminer la qualité finale du fruit de Pêche, par voie de modélisation, en fonction de l'itinéraire technique utilisé (Génard *et al.*, 2009). Un modèle de croissance du fruit a également été réalisé chez la tomate et permet d'étudier les variations des flux impliqués dans le grossissement du fruit et l'accumulation de réserves carbonées en son sein en réponse à des carences hydriques et carbonées (Liu *et al.*, 2007). Toutefois, ces modèles ne peuvent être complètement validés et des informations complémentaires doivent y être associées pour les optimiser. Du côté plante, il y a une nécessité d'une meilleure compréhension du transfert de l'eau et des assimilats en son sein dans le but d'identifier l'impact d'un stress hydrique sur l'allocation carbonée vers le fruit et au sein de la plante. De même, côté fruit, il est émis l'hypothèse que les allocations carbonées en sa direction sont indépendantes de sa position au sein de la plante. Des investigations complémentaires sont de ce fait nécessaires pour valider ou non ces hypothèses.

2.1.5 Technologies d'étude du statut hydrique et carboné de la plante

Au sein d'une plante, les mesures de variations de teneur en eau, ou en carbohydrates ainsi que les mesures de flux sont délicates car ces paramètres physiologiques indicateurs du statut hydrique et carboné de la plante sont très variables au cours de la journée et au cours du développement de la plante ou de l'organe. Les flux xylémiens et phloémiens étant très sensibles à toute modification des gradients de potentiels hydriques ou osmotiques, cela rend d'autant plus difficile leur évaluation (Tixier, 2013 ; Van Bel, 2003). Toutefois des mesures destructives, ou non existent et permettent de caractériser les flux ou l'état hydrocarboné d'un système végétal. Pour mesurer l'évolution des flux hydrocarbonés, la technique de girdling peut

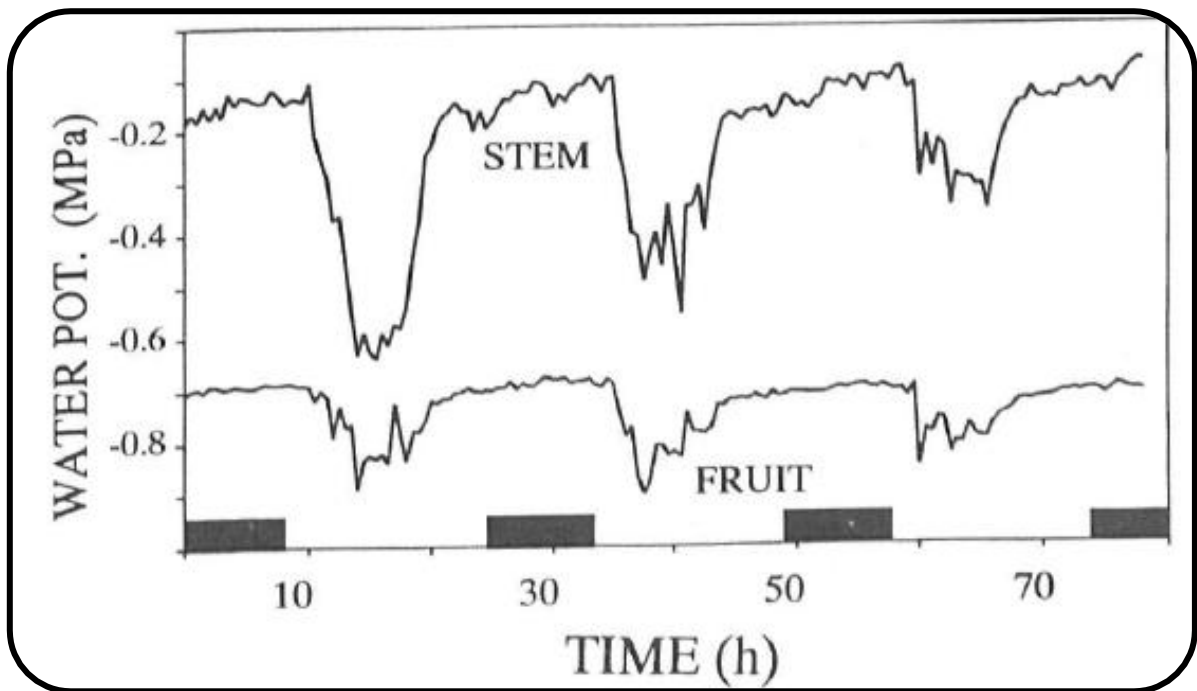


Figure 8 : Evolution des valeurs de potentiel hydrique mesurées au sein d'une tige et du fruit de tomate à l'aide d'un psychromètre (Johnson, 1992).

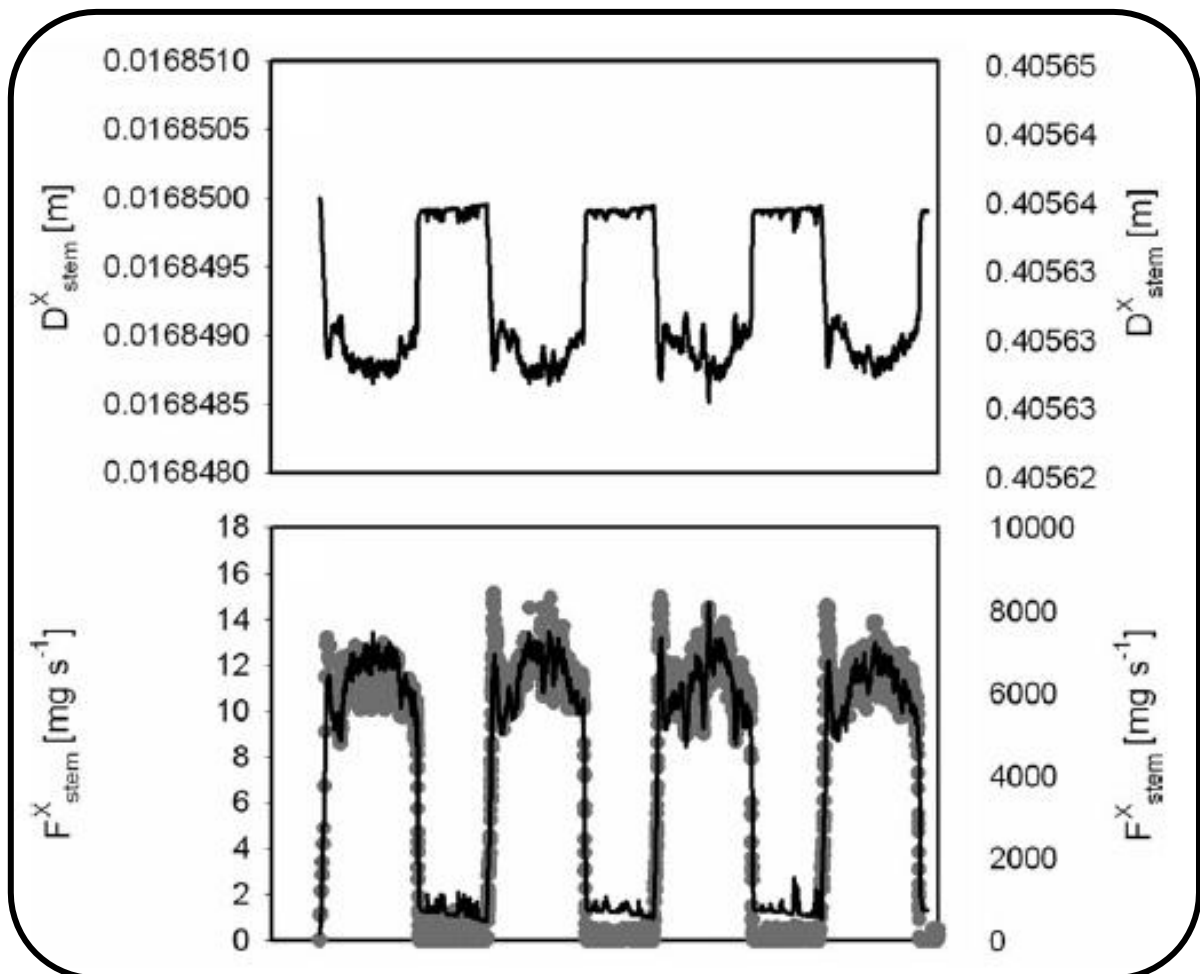


Figure 9 : Comparaison entre les variations de diamètre de la tige d'un chêne et le flux xylémien mesuré à travers un modèle (De Schepper & Steppe, 2010).

être mise en exergue. Bien qu'elle permette de visualiser des dynamiques journalières de flux chez la tomate (Guichard *et al.*, 2005), elle présente l'inconvénient d'être indirecte et destructrice puisque les tissus phloémiens sont détruits et cela complique de ce fait le suivi à long terme des flux. L'utilisation d'isotopes radioactifs est également un recours permettant le suivi des flux xylémiens et phloémiens et repose sur l'utilisation d'isotopes radioactifs tels que l'hydrogène (^2H), le carbone (^{14}C) et l'oxygène (^{18}O) (Brüggeman *et al.*, 2011). La visualisation des flux isotopiques est ensuite réalisée par autoradiographie qui est une technologie lourde et destructive pour la plante. Pour quantifier les flux xylémiens, des capteurs thermiques peuvent être utilisés. Ainsi, la méthode Granier (Granier, 1985), permet de mesurer le flux de sève brute en implémentant la différence de température mesurée par deux sondes insérées dans la tige au sein d'une équation permettant de déterminer des vitesses de flux xylémien (Braun et Schmid, 1999). Une solution innovante, mais invasive, développée par Jensen *et al.* (2011) basée sur l'utilisation d'une solution de 5(6)-carboxyfluorescein placée à la surface de la feuille permet de suivre la vitesse de flux phloémien. Ainsi il a été mesuré que les vitesses de flux phloémien varient de $3 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ chez l'Ephémère de Virginie (*Tradescantia virginiana* L.) à $150 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ en cours de journée chez la Tomate. Pour mesurer les potentiels hydriques et osmotiques au sein des plantes, il peut être utilisé une chambre à pression, ce qui nécessite le détachement de l'organe à étudier, ou un psychromètre, qui est invasif pour la plante puisqu'il est enfoncé au niveau de la tige, du pétiole, ou du fruit (Johnson, 1992 ; Hossain et Nonami, 2012) (Figure 8). L'évaluation des variations de pression osmotique au cours du chargement phloémien peut également être estimée de façon directe en analysant les stylets de pucerons placés au niveau d'une source carbonée (Gould *et al.*, 2005). La teneur en eau au niveau de la tige peut être mesurée en étant corrélée à des changements de conductivité hydraulique et d'impédance en son sein (Nadler, 2008).

Bien que les mesures présentées jusqu'ici soient ou destructives ou invasives, il existe toutefois des techniques qui ne le sont pas et qui permettent d'évaluer les flux ou le statut hydrocarboné d'une plante. Ainsi, l'étude de l'évolution du diamètre de la tige ou du tronc, mesurée à l'aide d'un capteur de déplacement laser, peut être corrélée à des variations de potentiels hydriques au sein de ces tissus et à des variations de vitesse de flux xylémiens (Kitano, 1996). De Schepper et Steppe (2010) montrent ainsi chez le Chêne (*Quercus robur* L.) que la vitesse de transport xylémienne, exprimée en $\text{mg}\cdot\text{s}^{-1}$, est maximale en cours de journée, pour une PAR égale à $230 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, lorsque le potentiel hydrique et le diamètre du tronc sont à leurs valeurs minimales (Figure 9). Des estimations de vitesses de flux peuvent également être réalisées en étudiant l'évolution de l'intensité transpiratoire. Ainsi, chez le pin (*Pinus sylvestris* L.), un modèle liant les évolutions de diamètre de tronc et les intensités transpiratoires permet d'évaluer les vitesses de flux de sève, qui sont maximales en cours de journée lorsque l'évapotranspiration est également maximale (Perämäki *et al.*, 2001).

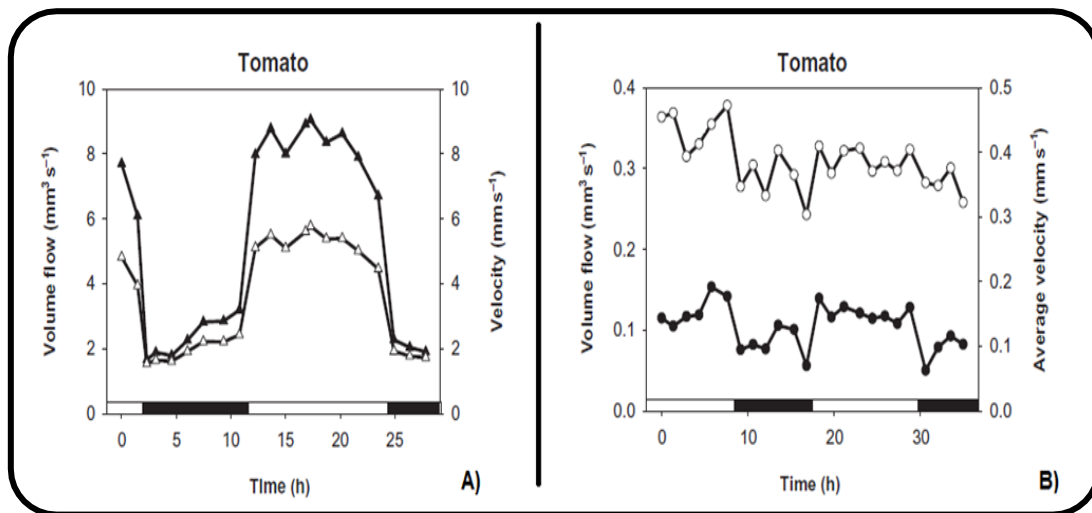


Figure 10 : Evolution des vitesses de flux xylémiens (A) et phloémiens (B), mesurées par imagerie RMN, chez la Tomate au cours du temps (Source : Windt et al., 2006, modifié).

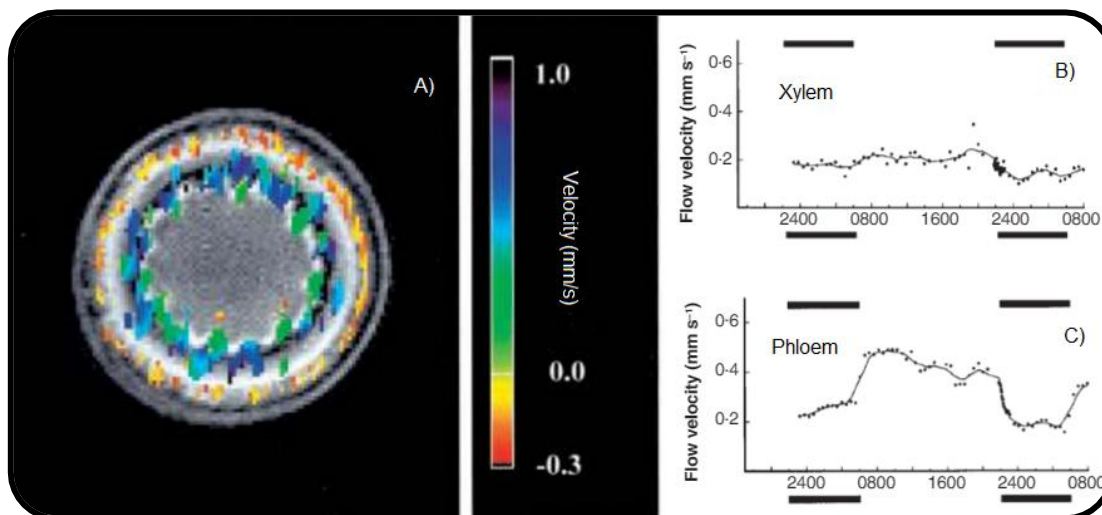


Figure 11 : Evolution des vitesses de flux xylémiens (B) et phloémiens (C) mesurées par imagerie RMN, au niveau d'un hypocotyle de Ricin de 40 jours au cours du temps (Source : Peuke et al., 2001, modifié). A) cartographie des vitesses de flux.

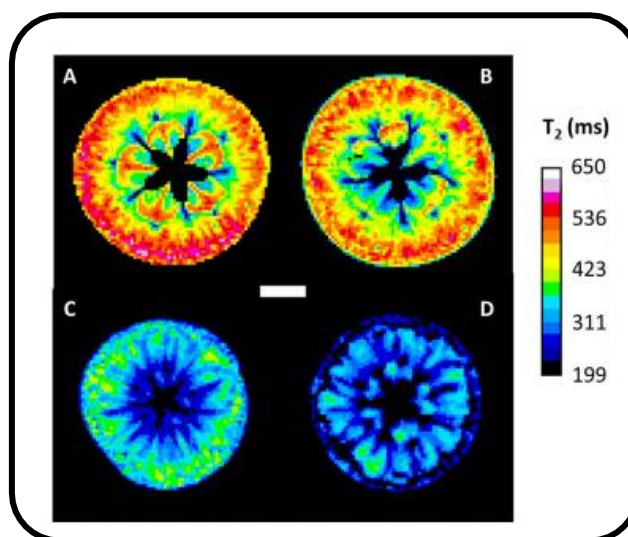


Figure 12 : Evolution du temps de relaxation T₂ au cours de la conservation du fruit pour la variété 'Granny Smith' un mois après récolte (A) et six mois après récolte (B) et pour la variété 'EC' un mois après récolte (C) et six mois après récolte (D).

2.1.6- Apport de la technologie IRM-RMN pour l'étude des flux dans la plante

Avec le récent apport des techniques de RMN, les agronomes disposent d'un outil de mesure non destructif et non invasif pour étudier les processus physiologiques, et notamment le suivi des flux hydrocarbonés, se déroulant chez la plante au cours de son développement et de sa croissance, à ce à de multiples échelles.

De par l'utilisation de cette technologie, des études quantitatives peuvent être menées et c'est dans ce cadre que la quantification du transport hydrique chez la Chrysanthème a pu être effectuée. Il a ainsi été montré que les pertes de volumes d'eau mesurées grâce à l'évolution de l'amplitude du signal RMN sont corrélées aux pertes de poids de la plante (Scheenen *et al.*, 2000). Des variations de teneur en eau, de surfaces de conduction de flux, et des volumes de flux peuvent également être exprimés chez le chêne via des techniques d'imagerie en étudiant les variations d'intensité du signal RMN au cours du temps (Peuke *et al.*, 2006). Il a ainsi été observé que la vitesse de flux, exprimée en mg/s est minimale lorsque la surface de conduction et la teneur en eau au sein des tissus conducteurs sont minimales.

Au niveau d'une graine de Ricin, âgée de six jours, des différences de vitesses de conduction ont été mises en évidence entre le xylème ayant une vitesse de flux moyenne de $0,47 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ et le phloème caractérisé par une vélocité de flux de $0,58 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ (Köckenberger *et al.*, 1997).

A l'échelle de la tige, des variations de vitesses de flux au cours du nyctémère, ne pouvant s'expliquer uniquement par la variation de diamètre des vaisseaux conducteurs, ont été mises en évidence chez la Tomate (Windt *et al.*, 2006). Ainsi, il a été déterminé que le flux xylémien a une vitesse d'écoulement maximale de $8,0 \pm 0,92 \text{ mm}^3 \text{ s}^{-1}$ au cours de la journée et minimale la nuit avec une vitesse de flux de $2,26 \pm 0,52 \text{ mm}^3 \text{ s}^{-1}$ (Figure 10). En revanche, d'après cette étude, les vitesses des flux phloémiens ne varient pas de façon significative au cours de cycle jours-nuits et leur vitesse moyenne d'écoulement est de $0,40 \pm 0,04 \text{ mm}^3 \text{ s}^{-1}$. Au niveau de l'hypocotyle de Ricin, une analyse des flux et de teneur en eau pixel à pixel a montré que la vitesse de la sève phloémienne est indépendante du régime lumineux et est en moyenne de $0,243 \pm 0,003 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ le jour contre $0,255 \pm 0,004 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ la nuit (Peuke *et al.*, 2001). D'après cette étude IRM, le flux xylémien est quant à lui dépendant de l'intensité lumineuse et sa vitesse moyenne est de $0,401 \pm 0,004 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ le jour contre $0,255 \pm 0,003 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ la nuit (Figure 11).

Les travaux d'imagerie RMN sont également un support pour mener des études qualitatives. Ainsi, il est possible d'étudier les changements structuraux se déroulant au sein des tissus au cours de processus physiologiques. C'est ainsi que la perte de structure de la Pomme pendant sa conservation a pu être mise en évidence via une étude des temps de relaxation T2 (Winisdorffer, 2014) (Figure 12). De même, chez la tomate, une baisse des valeurs de T1 et de T2 de l'ordre de 25 % au cours de la maturation du fruit après récolte a été mise en évidence au niveau du placenta, de la columelle et du péricarpe, et corrélée à une perte de poids du fruit (Musse *et al.*, 2009b). Cette instrumentation permet donc également de segmenter les tissus selon leurs teneurs en eau libre. Ainsi, chez la tomate, les différents compartiments vacuolaires

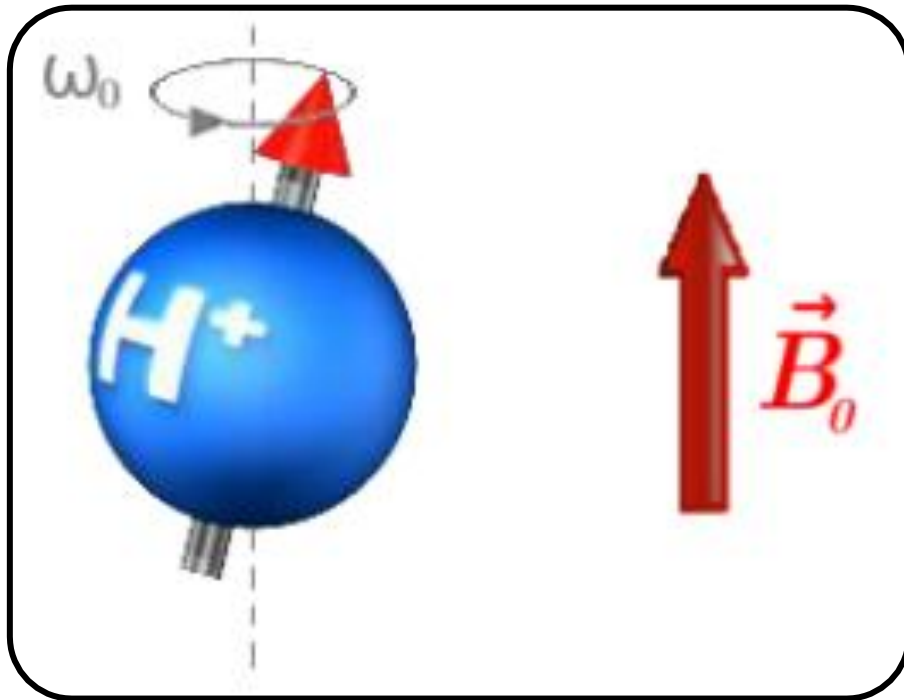


Figure 13 : Mouvement de précession du spin autour de l'axe d'orientation du champ B_0 (Source : www.imaios.com, modifié).

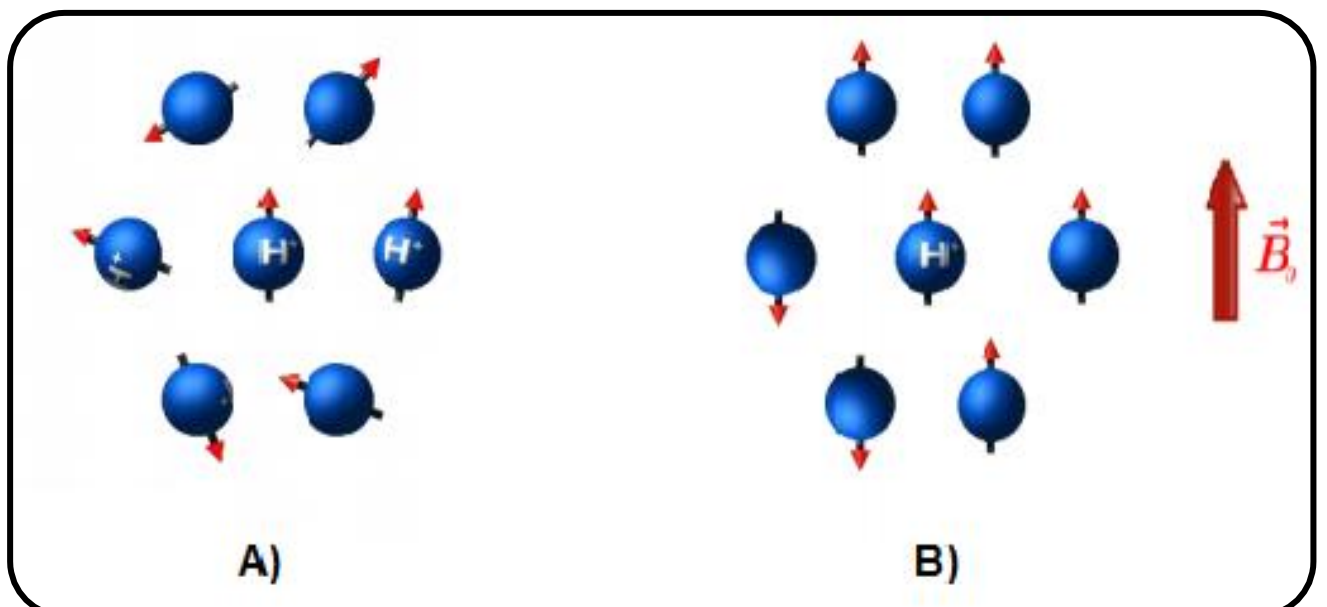


Figure 14 : Polarisation des spins sous B_0 . A) En absence d'application d'un champ magnétique statique B_0 , et B) Lors de l'application du champ B_0 (Source : www.imaios.com, modifié).

($T_2 \sim 1500$ ms), cytoplasmiques ($T_2 \sim 430$ ms) et pariétaux ($T_2 \sim 11$ ms) peuvent être différenciées selon leurs valeurs de temps de relaxation transversale (T_2) respectives (Duval, 2005, Musse *et al.*, 2009a) La technologie RMN est donc un support non invasif et non destructif appréciable pour mener des études qualitatives et quantitatives sur du matériel végétal.

2.2 Phénomène de Résonance Magnétique Nucléaire

2.2.1- Historique

La première mise en évidence du phénomène de RMN dans de la matière condensée a été réalisée en 1946 par deux groupes de physiciens, l'équipe du Professeur Bloch à Stanford et celle du professeur Purcell à Harvard, alors qu'ils cherchaient à mettre en évidence des transitions entre les états de spins nucléaires.. Auparavant, en 1939, l'équipe du Professeur Rabi avait réalisé les premières expériences de RMN sur des faisceaux moléculaires et Pauli avait lui proposé, en 1924, d'attribuer des propriétés magnétiques au noyau, concept qui est à la base de la RMN. Aujourd'hui, cette technique s'applique dans de nombreux champs scientifiques, dont la biologie végétale de façon assez récente (Van As, 2007).

2.2.2- Principe de la RMN

a- Notion de spin nucléaire

La RMN trouve son origine dans les propriétés magnétiques des noyaux. Pour qu'un noyau puisse être visualisé par la technique de RMN il doit posséder des propriétés électromagnétiques se caractérisant par l'existence d'un spin non nul. Le spin correspond à une propriété quantique de la particule. A chaque noyau atomique est associé un moment magnétique, lié à son nombre impair de nucléons, donné par la relation :

$$\mu = \gamma * S \quad (1)$$

où γ représente le rapport gyromagnétique caractéristique de chaque noyau et S le moment cinétique de rotation du noyau ou spin. L'hydrogène est de par son abondance sur Terre et dans les tissus l'atome le plus utilisé lors des expériences de RMN.

b- Origine du signal RMN

Le principe de la RMN consiste tout d'abord en l'application d'un champ magnétique B_0 statique et permanent selon l'axe (z). En l'absence de B_0 , les spins du noyau étudié sont déphasés. Ils précessent alors de façon aléatoire en décrivant un mouvement de révolution conique et la somme des moments magnétiques est nulle (Figure 13). L'induction du champ B_0 entraîne le phasage des spins qui précessent désormais autour de l'axe B_0 en étant orientés soit de façon parallèle à B_0 , en configuration 'up', ou alors dans le sens anti parallèle à B_0 , en configuration 'down' (Figure 14).

La rotation de l'aimantation résultante de la configuration du système de spins a une vitesse angulaire (ω) donnée par la relation :

$$\omega = \gamma * B_0 \quad (2)$$

et cette vitesse est reliée à la fréquence de rotation des spins, ou fréquence de Larmor selon

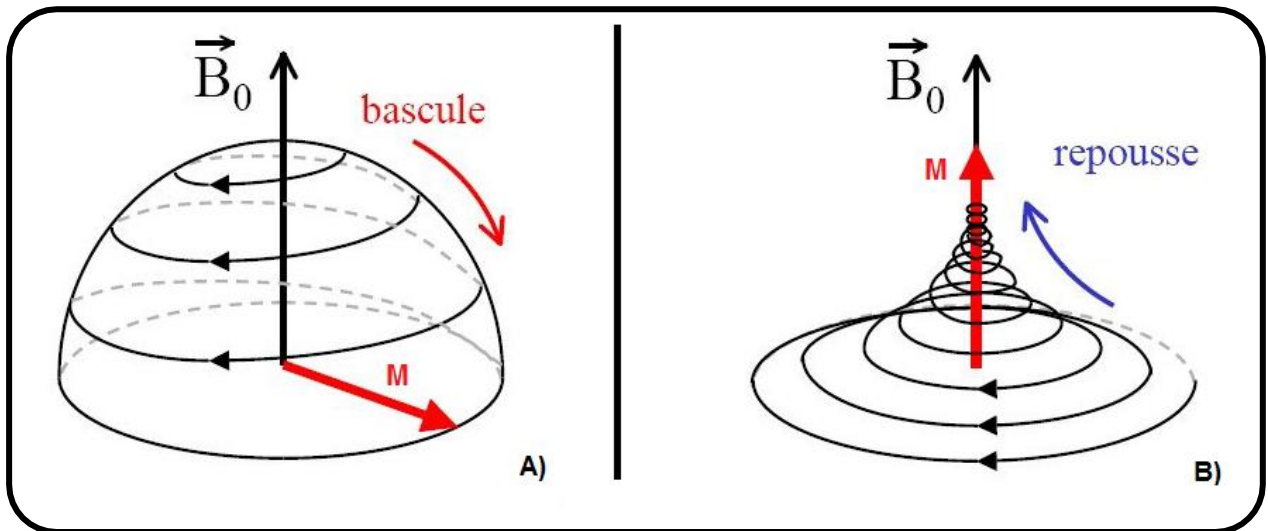


Figure 15 : Phénomène d'excitation et de relaxation à la suite d'un pulse RF. A) Bascule de l'aimantation à la suite du pulse RF fait disparaître M_z et apparaît $M_{x,y}$. B) Relaxation fait réapparaître M_z et disparaître $M_{x,y}$ (Source : <http://tpellm2012.jimdo.com/>).

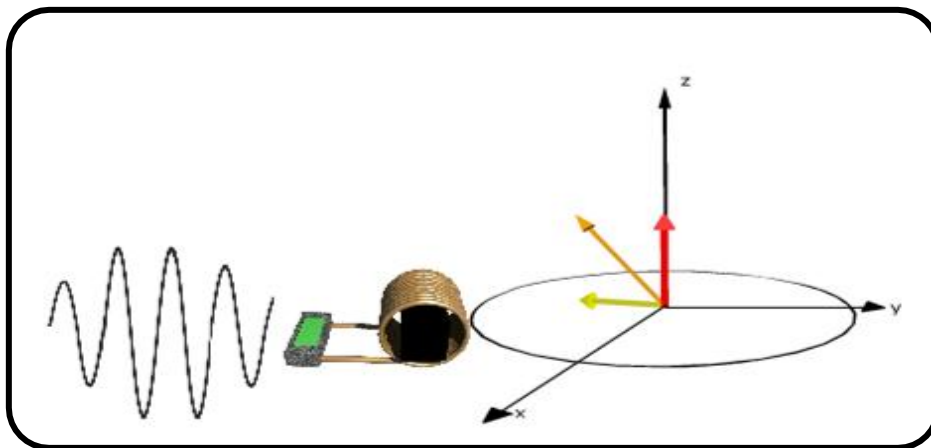


Figure 16 : Enregistrement du signal RMN au cours de la relaxation des spins (Source : www.imaio.com) La bobine peut être associée à une antenne RMN. La flèche rouge représente le vecteur d'aimantation macroscopique M_0 . La flèche jaune montre la composante transversale de la relaxation et la flèche orange la composante longitudinale de la relaxation.

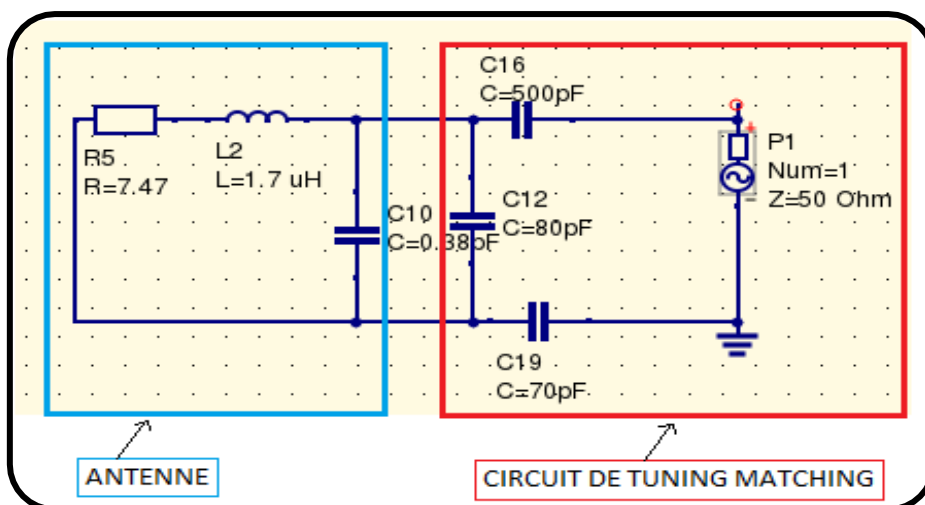


Figure 17 : Représentation électrique d'une antenne RMN. Modélisation réalisée sous le logiciel Qucs. R représente la résistance du circuit, L l'inductance de la bobine, C les condensateurs et Z l'impédance du circuit. Des condensateurs ajoutés en série et en dérivation permettent de réaliser le *tuning* et le *matching* de l'antenne.

l'équation qui suit :

$$f = \frac{\omega}{2\pi} \leftrightarrow f = \gamma * \frac{B_0}{2\pi} \quad (3)$$

Cette équation de Larmor est la relation fondamentale de la RMN et permet notamment de définir la fréquence de résonance de l'antenne utilisée en fonction du champ B_0 appliqué et du noyau étudié. Ainsi, pour un suivi de l'aimantation des noyaux hydrogènes au sein d'un échantillon placé dans un champ de 9,4 T, la fréquence de résonance de l'antenne sera égale à 400 Mhz.

La deuxième étape d'une expérimentation RMN consiste à exciter les spins en appliquant un second champ électromagnétique B_1 (Figure 15 A). Ce dernier est dynamique, perpendiculaire à B_0 et de radiofréquence (RF) égale à la fréquence de précession du noyau de l'atome étudié. Il y a alors induction d'un phénomène de résonance correspondant à un transfert d'énergie entre deux systèmes ayant la même fréquence, et qui se caractérise par la bascule du vecteur d'aimantation qui était jusqu'alors orienté selon l'axe de B_0 . Il y a ainsi disparition de composante longitudinale de l'aimantation, M_z et création d'une composante transversale de cette dernière, $M_{x,y}$, qui est maximale après la bascule de M . Au cours de cette excitation, les spins passent d'un état énergétique stable, en configuration parallèle à un état instable, en configuration anti parallèle.

La dernière étape d'une expérience RMN correspond à une phase de relaxation qui débute dès la fin de l'application du pulse RF (Figure 15 B). Les spins retrouvent alors progressivement leur statut énergétique initial en se réalignant le long de B_0 . La relaxation fait ainsi réapparaître M_z tout en faisant disparaître $M_{x,y}$ dû à un déphasage spin-spin.

2.2.3 Détection du signal

a- Principe

La relaxation s'accompagne de l'émission d'une onde électromagnétique dont la partie électrique sera détectée par une antenne, permettant ainsi d'obtenir le signal de RMN (Figure 16). Le retour à l'équilibre de l'aimantation induit ainsi une tension dans l'antenne en vertu de la loi de Faraday décrite comme suit : $e = -d\phi/dt$ (4)

Elle énonce que la force électromotrice induite dans un circuit fermé au sein d'un champ magnétique est proportionnelle à la variation dans le temps du flux du champ pénétrant dans le circuit. L'objectif est de faire coïncider la fréquence de résonance électrique de l'antenne avec la fréquence gyromagnétique de l'atome étudié pour obtenir un signal à forte résonance.

b- Représentation électrocinétique de l'antenne

La représentation électrocinétique d'une antenne peut être associée à un circuit RLC (Figure 17). Ce circuit comprend un générateur de tension induite (e) associé en série avec une résistance (R), une bobine d'inductance L , et un condensateur de capacité (C). Au sein de ce modèle, la tension induite correspond à la variation du champ magnétique suite au retour à l'équilibre des spins. La résistance électrique de l'antenne s'explique par le fait que le fil conducteur utilisé présente une résistance électrique propre qui varie en fonction du

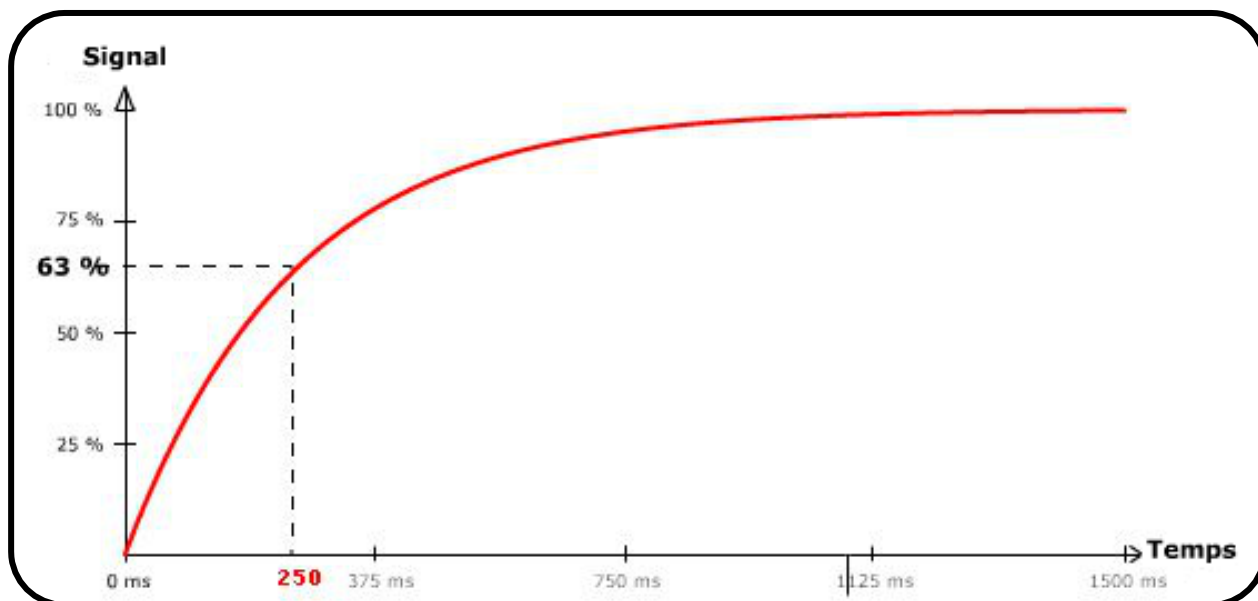


Figure 18 : Relaxation longitudinale (Source : www.imaios.com, modifié).

diamètre de celui-ci, de la nature du matériau utilisé mais également du nombre de spires que comprend le bobinage et du diamètre de l'antenne. Enfin, le fil conducteur est également caractérisé par une auto-induction modélisée par une inductance qui augmente avec le nombre de spires et le diamètre de l'antenne. Le design de l'antenne dépend de ses paramètres géométriques, tels que son diamètre ou la section du fil conducteur utilisé pour le bobinage, et doit être adaptée à la taille de l'échantillon à analyser. A ce circuit RLC peuvent être ajoutés différents condensateurs, permettant le *tuning -matching* du circuit, de sorte à optimiser le signal RMN obtenu. Le *matching* permet d'adapter l'impédance de l'antenne et d'optimiser la puissance transmise tout en limitant celle réfléchi. Le *tuning* permet lui d'ajuster la fréquence de résonance du circuit en minimisant le coefficient de réflexion de l'antenne ainsi qu'en maximisant sa puissance électrique de sorte à obtenir un signal RMN à plus forte résonance.

c- Rapport Signal sur Bruit

Différentes sources de bruit peuvent altérer la qualité du signal RMN. Le bruit dominant est le bruit dit thermique qui provient de la fluctuation des charges électriques dans les conducteurs de la bobine de réception. Le bruit provenant de l'échantillon biologique dû au mouvement des ions, métabolites ou électrolytes présents est une autre source de dégradation de la qualité du signal obtenu. La qualité de la transmission du signal électrique est défini par le Rapport Signal sur Bruit (SNR). Ce dernier est fonction du champ RF induit et de la puissance du bruit d'entrée (P) selon la formule suivante : $SNR = B1 \div \sqrt{P}$ (5)

Pour optimiser ce ratio, le design de l'antenne doit être adapté au diamètre de l'échantillon analysé. En effet, plus celui-ci est proche de l'antenne et meilleur sera le SNR.

2.2.4 Phénomène de relaxation

Une fois que l'application d'un champ B1 a provoqué un basculement du moment magnétique M le long de Bo, il se produit un phénomène de relaxation au cours duquel M revient dans le plan longitudinal et les spins effectuent un retour à leur statut énergétique initial.

a - Relaxation longitudinale ou spin réseau

Le retour des spins à leur état énergétique initial se fait via un échange d'énergie avec le système et la durée de ce retour est caractérisée par le temps de relaxation longitudinale, T1. Au cours de cette relaxation, la composante longitudinale de M_z augmente de façon exponentielle jusqu'à retrouver sa valeur M₀ d'origine (Figure 18). Le T1 correspond au temps pour lequel l'aimantation longitudinale M_z retourne à 63% de sa valeur finale.

Le T1 est obtenu par le biais d'une séquence dite d'inversion - récupération ou via une séquence dite de saturation qui se différencient selon la valeur de l'angle à laquelle est réalisé la première impulsion ainsi que selon la durée de l'impulsion (τ). Selon la séquence utilisée, la formule caractérisant la valeur de la magnétisation longitudinale ne sera pas la même. Pour une séquence de saturation, utilisée dans le cadre du projet, la projection longitudinale M_z est nulle car dans le sens de B₀, et il est possible de déterminer le T1 grâce à l'équation suivante :

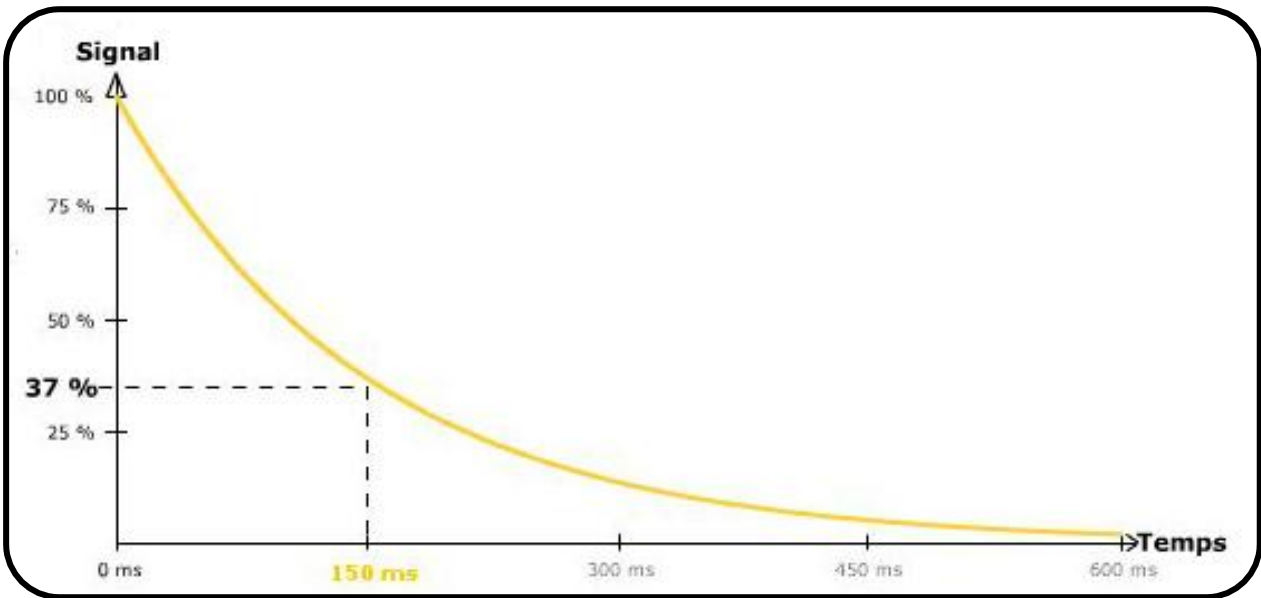


Figure 19 : Relaxation transversale (Source : www.imaios.com, modifié).

$$M_z = M_0(1 - \exp(-\frac{\tau}{T_1})) \quad (6)$$

b - Relaxation transversale ou spin-spin

Après excitation par induction d'un champ magnétique B_1 , les spins ne précessent pas tous à la même vitesse et se déphasent. Ainsi, la magnétisation $M_{x,y}$ décroît de façon exponentielle vers des valeurs nulles. La valeur de la relaxation transversale, ou T2 (Figure 19), détermine le temps nécessaire pour que cette magnétisation $M_{x,y}$ disparaisse et est obtenue par l'équation suivante :

$$M_{xy} = M_0 * \exp(-\frac{\tau}{T_2}) \quad (7)$$

Le T2 correspond au temps nécessaire pour que l'aimantation transversale revienne à 37 % de sa valeur initiale.

2.2.5 Imagerie par résonance magnétique nucléaire

Pour obtenir une image 2D de la zone à caractériser, il est nécessaire de coder et d'attribuer une position spatiale aux différents signaux obtenus pour chaque voxel. Le codage repose sur l'application à des temps distincts de trois gradients de champ magnétique étant orientés dans des positions différentes au sein de l'espace. Le premier d'entre eux est le gradient de sélection de coupe, appliqué de façon orthogonale à la zone d'intérêt et de façon simultanée à l'ensemble des ondes. Il est ensuite appliqué un gradient de codage de phase, selon une direction verticale, qui induit une modification des fréquences de précession des spins, de sorte à ce que lors de la récupération du signal, les « lignes » de protons auront un décalage de phase. La dernière étape repose sur l'application d'un gradient de codage de fréquence qui permet cette fois-ci de distinguer les « colonnes » de protons et de donner à chaque voxel des fréquences différentes.

Une fois le signal codé, il est stocké selon deux composantes, k_x et k_y , dans une matrice nommée espace K, ou plan de Fourier et, par la suite, l'application d'une double transformée de Fourier permet d'obtenir une image 2D. L'image obtenue est monochrome mais différentes nuances de gris voire de la couleur peuvent y être ajoutés pour améliorer la visualisation de l'échantillon observé.

2.3 Contexte et sujet de stage

Dans un contexte de changement climatique, de nombreuses menaces pèsent sur les cultures horticoles. Ainsi, les plantes vont être amenées à subir plus fréquemment des périodes de stress abiotiques menaçant par conséquent la productivité des cultures horticoles. De nombreux challenges sont ainsi soulevés pour faire face à cette modification de l'environnement des cultures et parmi eux, la gestion des statuts hydriques et carbonés de la plante est primordiale. En effet, les réponses des plantes aux stress abiotiques et leur adaptation à long terme passent par une optimisation des ressources en eau et en carbone. Le stress hydrique, bien qu'il puisse permettre d'optimiser la qualité du fruit récolté (Ripoll *et al.*, 2014), impacte négativement la croissance du fruit de tomate et la productivité à l'échelle de la

parcelle. De même, un stress carboné chez la tomate induit une augmentation de l'avortement des fruits et une diminution de la masse et de la qualité du produit récolté (Mamatha *et al.*, 2014). Pour étudier l'impact des stress abiotiques sur les statuts hydriques et carbonés de la plante, de nombreux modèles intégratifs ont été élaborés (Baldazzi *et al.*, 2013). Basés sur une approche multi échelle de la croissance du système plante, ils intègrent l'impact de modifications de l'environnement abiotique sur l'évolution des ressources et des flux hydrocarbonés au sein des tissus de la plante et du fruit. Toutefois, ces modèles se basent principalement sur des mesures indirectes des flux d'eau et de carbone et l'obtention de données *in vivo* à forte résolution spatiale et temporelle est essentielle pour progresser dans ce domaine. Ainsi, pour évaluer et valider le modèle, la nécessité de réaliser des mesures via une instrumentation ne perturbant pas les gradients de potentiels hydriques et osmotiques est primordiale. Avec l'apport des technologies RMN et IRM, il est désormais possible d'étudier les états et les flux hydriques et carbonés des plantes en gardant ces dernières intactes à différentes échelles. Ainsi, à travers cette technologie, des vitesses de flux xylémiens et phloémiens ont pu être déterminées (Van As, 2007). Il a été montré que le temps de relaxation T2 peut être un bon marqueur des flux phloémiens et xylémiens chez la Tomate (Windt, 2009) et que le temps de relaxation T1 est également un biomarqueur efficace du suivi du statut hydrique du fruit de Tomate (Musse *et al.*, 2009). Récemment, des expériences de relaxométrie ont été à même d'évaluer des variations de teneurs en eau, et ce à une fréquence B_0 de 25 MHz (Windt et Blümer, 2015). Toutefois, un manque de connaissances et de caractérisations d'éventuels biomarqueurs RMN des flux et du statut hydrocarboné de la plante à si bas champ, et en présence de stress abiotiques, est à souligner. Dans ce contexte, une recherche de biomarqueurs RMN des flux et des statuts hydriques et carbonés de la plante de tomate sera menée. Elle vise à identifier des dynamiques de teneurs en eau au cours du développement de la plante, ainsi qu'en présence de stress abiotiques, à bas champ. Ainsi, des biomarqueurs RMN de flux ou teneurs en eau des tissus au niveau de la tige au cours de cycles jours – nuits seront identifiés, à bas champ. Ce même type de mesure sera effectué au cours d'un dessèchement progressif du sol et après une défoliation de la plante. Les expériences de relaxométrie seront conduites au sein d'une enceinte climatique, construite spécialement pour le projet, permettant ainsi le contrôle de l'environnement de la plante et la mesure de l'impact du stress sur différents paramètres physiologiques de la croissance de cette dernière. Elles seront couplées à des expériences IRM pour tenter d'avoir une corrélation spatiale avec les éventuels biomarqueurs RMN révélés à bas champ. Au préalable des études de relaxométrie, il est nécessaire de définir la fréquence à laquelle seront faites les différentes expérimentations. Travailler à bas champs permet de différencier de meilleure façon les T1 et T2, mais s'accompagne d'une diminution du SNR. Un bon compromis devra être trouvé. Ensuite, une antenne adaptée à l'échantillon sera conçue et permettra d'aborder la caractérisation d'éventuels biomarqueurs RMN du statut hydrocarboné de la plante de tomate par relaxométrie.

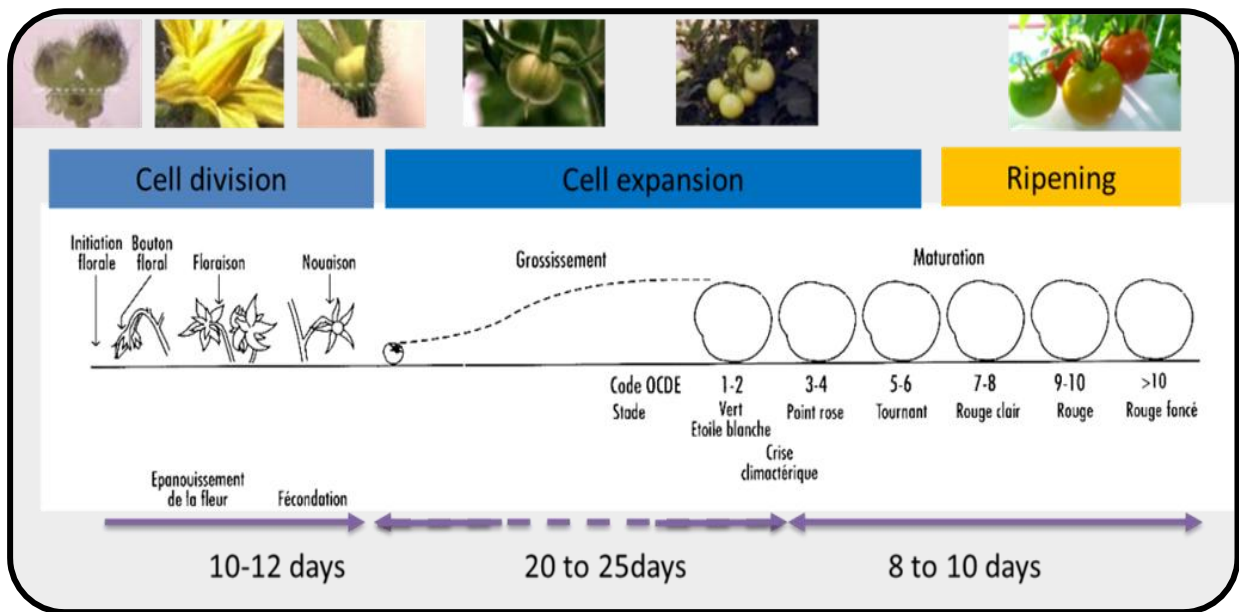


Figure 20 : Cycle de développement de la variété *Solanum lycopersicum* 'West virginia 106' (Source : Bertin, 2016).

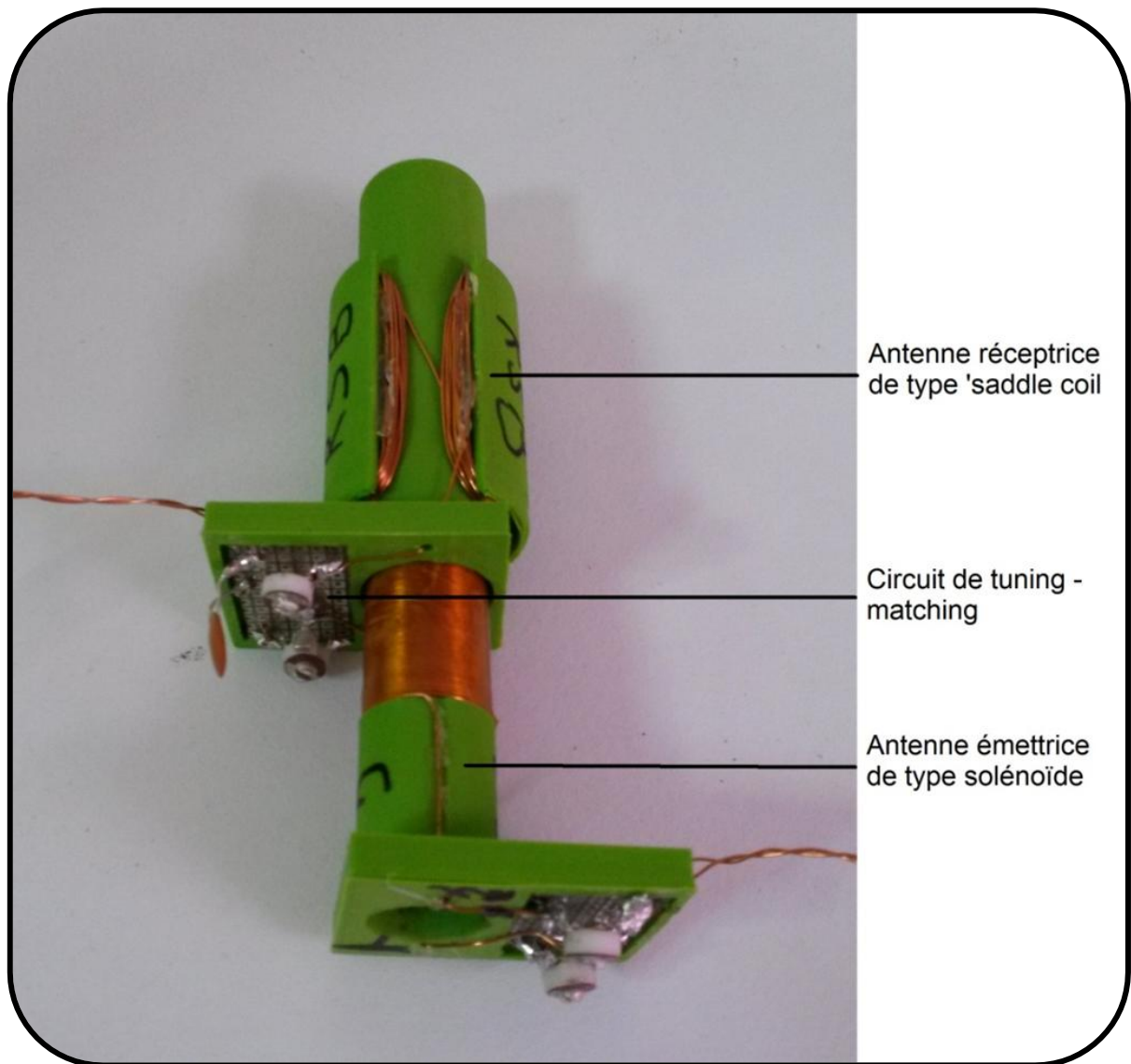


Figure 21 : Antenne RMN découplée permettant l'émission et la réception du champ électromagnétique.

II Matériel et méthodes

1. Evolution des temps de relaxation et du SNR selon la fréquence de résonance

L'objectif ici est d'étudier l'évolution des temps de relaxation transversale et du SNR, au sein d'une tige de tomate en fonction de la fréquence de résonance (f_0).

1.1 Matériel

1.1.1 Matériel végétal

a- Variété

La variété de Tomate West virginia 106 (Wva106) est le support biologique de la présente étude. Cette variété populaire de Tomate appartient au genre *Solanum* (*Solanum lycopersicum* 'West virginia 106') et se trouve être le support modèle de nombreux travaux de recherche car son cycle de développement est rapide et le stade Mature Green, ou Vert, est atteint entre 30 et 35 jours après anthèse (Figure 1). Le plant de tomate utilisé dans cette étude préliminaire présente une architecture de 24 entrenœuds (EN). Les nœuds 11 et 15 sont porteurs de fruits en phase d'expansion cellulaire. Le nœud 22 porte lui six fleurs.

b- Conditions de culture

Le semis des plants de variété Wva 106 est réalisé dans des plaques alvéolées qui sont ensuite placées au sein d'un phytotron dont les conditions sont régulées à 24°C, 80 % d'humidité et 14h de photopériode. Lorsque le stade première feuille est atteint, les plants sont repiqués dans des carrés de laine de roche de 10 cm x 10 cm et placés dans une serre où la photopériode est identique à celle de l'environnement extérieur. La température est régulée à 24 °C la journée et à 18°C au cours de la nuit. Le refroidissement est assuré par un système de 'cooling'. L'arrosage est effectué par fertirrigation, à partir d'une solution de concentration mère au trois millièmes, et dont la composition en oligoéléments est donnée en Annexe I. Avant la mise en place de l'expérimentation les plants sont transportés jusqu'à Montpellier (France) et placés dans une pièce où la température est contrôlée à 24 °C.

1.1.2 Instrumentation RMN

Plusieurs antennes radiofréquences (RF) pour chacune des fréquences de résonance des protons, à savoir 1, 2, 5 et 10 MHz ont été conçues au sein du laboratoire. Ces antennes sont découplées, les parties émission et réception du signal électromagnétique n'étant pas assurées par la même structure, et raccordées à un circuit de *tuning matching*. L'émission, permettant de créer le champ B_1 , est assurée par une antenne de type solénoïde (Figure 21), de diamètre 12 mm, et la partie réception par une antenne de type saddle coil, de diamètre 16 mm. Un électroaimant (Drusch 36 mm, 860 kg, 6mT-2T) permet quant à lui l'induction du champ magnétique B_0 par la suite retiré, de sorte à faire glisser l'antenne jusqu'à ce niveau.

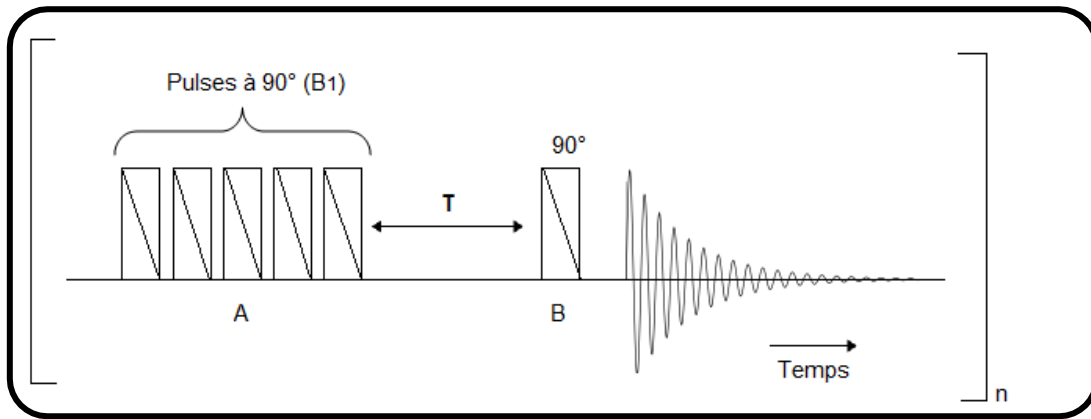


Figure 22 : Chronogramme de la séquence *saturation-récupération*. A la fin du train de pulses à 90° (A) l'aimantation se trouve dans le plan transversal et l'aimantation longitudinale est alors nulle. Ces trains sont appliqués afin de déphaser les spins dans le plan transversal et ainsi de détruire l'aimantation dans ce plan. Les spins sont alors prêts à relaxer selon B_0 et la lecture du signal se fait après différents délais τ et une impulsion de radiofréquence de 90° (B). Cette séquence peut être appliquée nombre de fois de sorte à améliorer le rapport signal sur bruit.

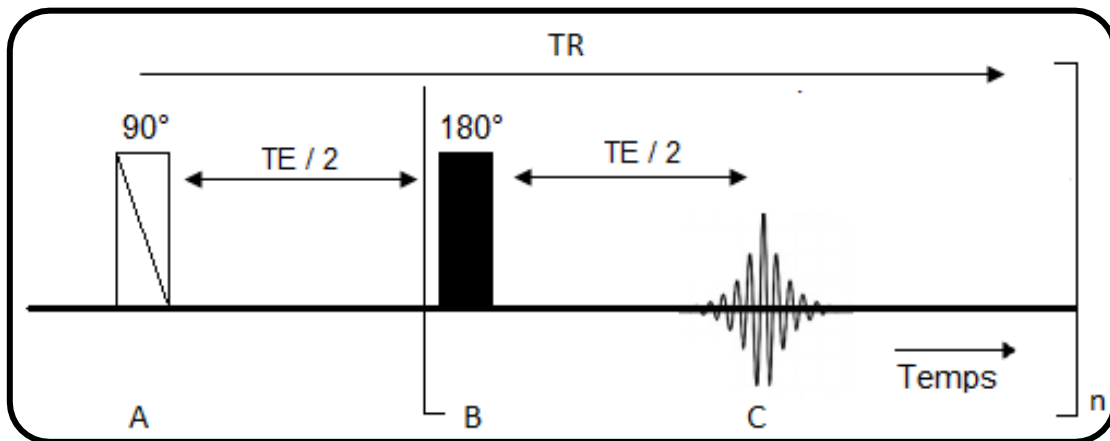


Figure 23 : Chronogramme de la séquence *écho de spin CPMG*. La première impulsion de 90° (A) induit le basculement des spins dans le plan transversal. Les spins se déphasent ensuite et une impulsion radiofréquence de 180° est alors appliquée (B). L'aimantation transversale est alors maximale (C). En répétant les impulsions de 180°, il est généré plusieurs échos et la lecture du signal se fait à chaque TE. L'ensemble de la séquence peut de nouveau être appliquée une fois le TR atteint dans le but d'améliorer le rapport signal sur bruit.

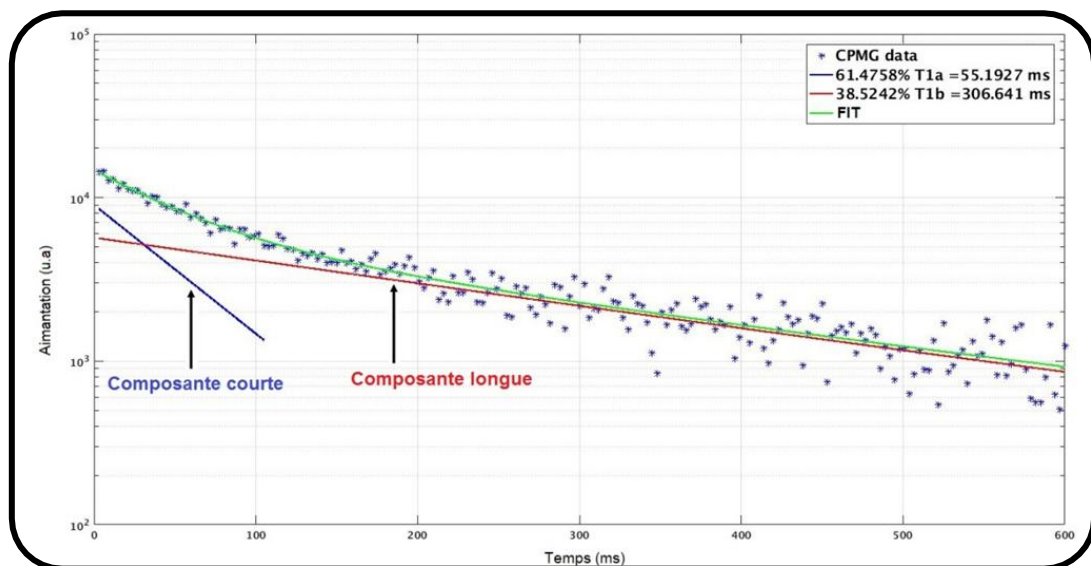


Figure 24 : Signal de relaxation transversale selon deux composantes. En bleu est représenté la composante courte et en rouge la composante longue. En vert est représentée la meilleure courbe de fit des points.

1.2 Méthodes

1.2.1 Mesure du T1

Les temps de relaxation T1 sont mesurés à l'aide d'une séquence *saturation-récupération* inscrite sur un spectromètre (tecmag) opérant à la fréquence de résonance des protons choisie. La figure 22 représente le chronogramme de cette séquence. Mesurer le T1 à travers cette séquence revient à basculer l'aimantation M0 dans le plan transversal, qui se retrouve alors hors de sa position d'équilibre le long de B₀, et à appliquer une nouvelle impulsion radiofréquence de 90°. Une séquence de lecture est ensuite appliquée, après un délai τ, et permet de déterminer la valeur de l'aimantation longitudinale M_z pour chaque délai. L'enregistrement de M_z donne des valeurs positives et accentuées lorsque τ s'allonge.

1.2.2 Mesure du T2

Les temps de relaxation T2 sont mesurés à travers une séquence *echo de spin* CPMG (Carr-Purcell Meiboom Gill) transcrite sur le spectromètre. Cette séquence, illustrée par la figure 23 est caractérisée par une première impulsion radiofréquence de 90° qui bascule l'aimantation dans le plan transversal et est ensuite suivie d'une ou plusieurs impulsions de 180° (constituant alors différents échos) destinées à rephaser les spins. La séquence de lecture du signal est appliquée pour chaque Temps d'Echo (TE) et l'ensemble de cet enchaînement peut être répété après chaque intervalle de Temps de Répétition (TR).

1.2.3 Mesure du SNR

Le SNR est déterminé en faisant le rapport du maxima de la valeur de magnitude du signal sur une valeur du bruit correspondant à une plage de fréquence hors résonance.

1.3 Analyse des résultats

Au regard des courbes de relaxation T1 et T2 obtenues qui présentaient un comportement bi-exponentiel (Figure 24), il a été décidé de les ajuster selon des fonctions mathématiques bi-exponentielles. Ainsi, l'équation (6) a été décomposée selon deux composantes ce qui donne :

$$M_z = M_0 a (1 - \exp(-\frac{\tau}{T_{1a}})) + M_0 b (1 - \exp(-\frac{\tau}{T_{1b}})) \quad (8) \text{ où } a \text{ et } b \text{ représentent les composantes}$$

courte et longue du signal. Il en a été de même pour l'équation (7) (Partie 2.2.4.b) qui une fois transformée permet d'obtenir une équation selon deux composantes :

$$M_z = M_0 a * \exp(-\frac{\tau}{T_{2a}}) + M_0 b * \exp(-\frac{\tau}{T_{2b}}) \quad (9).$$

Les valeurs de T1 et de T2 sont ensuite obtenues par implémentation des équations (7) et (8) dans le logiciel MATLAB (The MathWorks, Natick, MA) au sein d'un programme d'ajustement créé spécifiquement pour obtenir ces valeurs selon cette approche mathématique. En son sein, il est possible de modifier les paramètres initiaux des valeurs d'aimantation et des temps de relaxation. Ainsi, les ratios d'aimantation de chaque composante peuvent être fixés quant à leur participation au signal RMN et les temps de relaxation peuvent être encadrés selon une plage de valeurs dans le but de limiter les artefacts. Ici, tous les paramètres initiaux sont laissés libres.

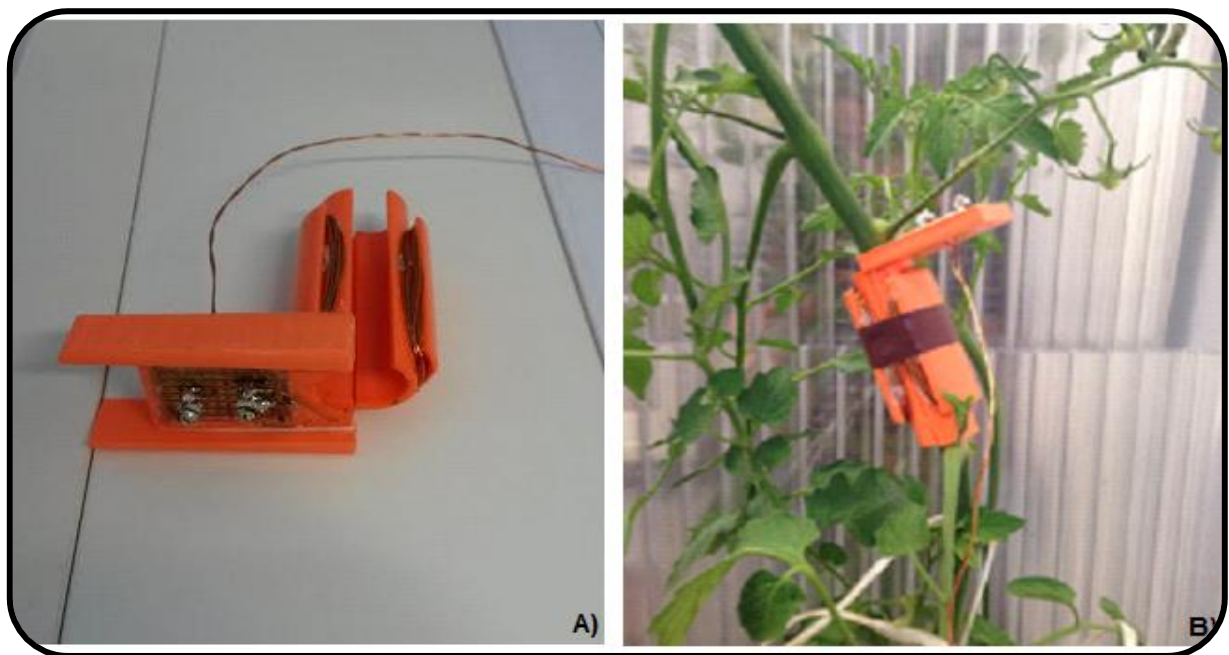


Figure 25 : Antenne clipsable résonnant à 5 MHz construite dans le cadre de l'étude. A) support de l'antenne et B) Antenne clipsée autour de la tige du pied de tomate.

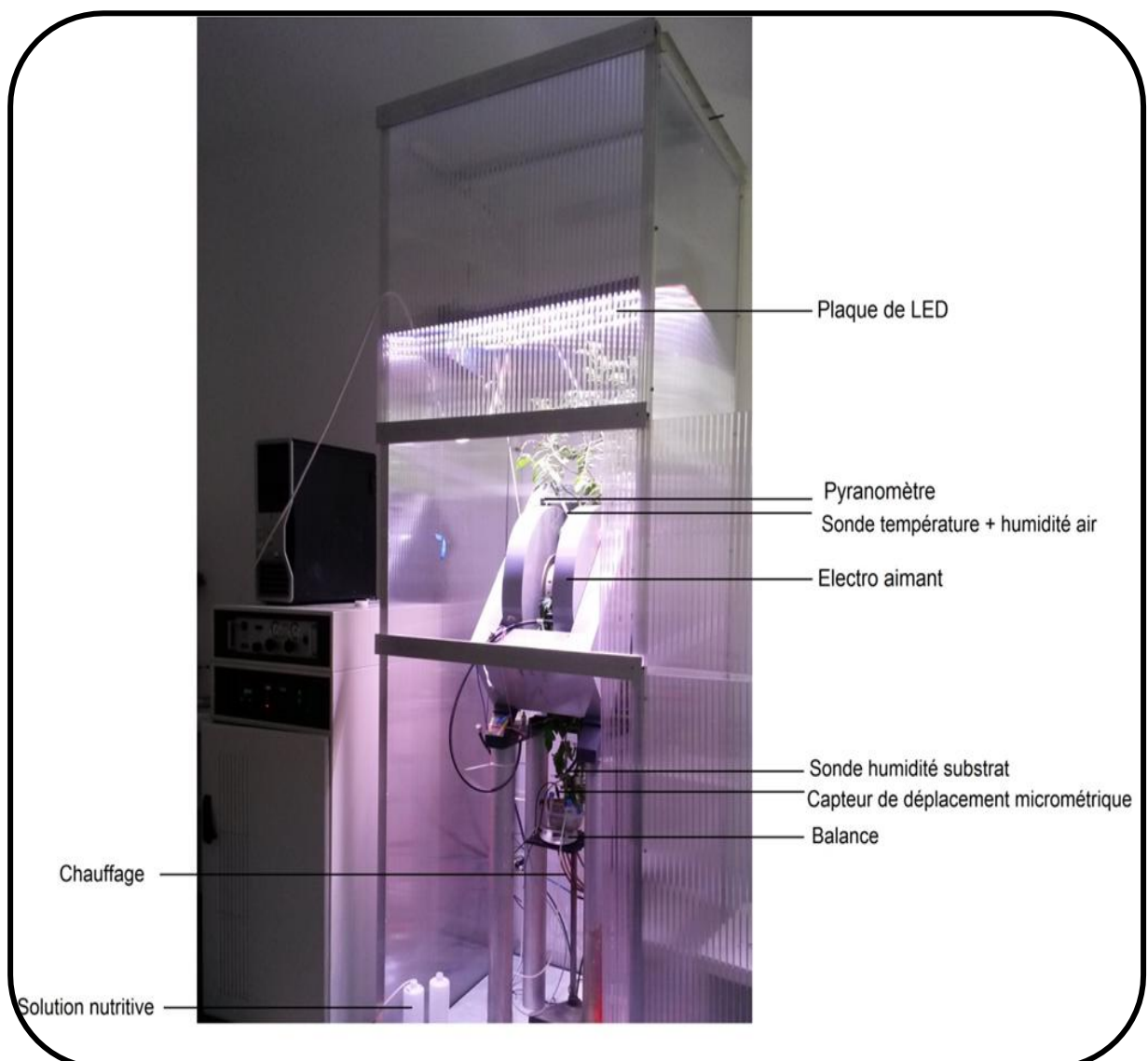


Figure 26 : Enceinte climatique construite dans le cadre de l'étude.

2. Recherche de biomarqueurs RMN des flux hydrocarbonés au cours du nycthémère puis au cours d'un stress hydrique

L'objectif ici est d'étudier si des biomarqueurs RMN des flux ou du statut hydrocarboné peuvent être mis en évidence chez la tomate au cours de l'application de cycles jours – nuits ainsi qu'après un arrêt de l'irrigation.

2.1 Matériel

2.1.1 Matériel végétal

Le plant de tomate support de cette étude préliminaire présente une architecture de 27 EN. Les nœuds 7,11 et 16 sont porteurs respectivement de trois, cinq et cinq fruits en phase d'expansion cellulaire. Ce dernier comporte également deux fruits ayant avorté. Le nœud 24 porte quatre fruits en phase d'expansion, deux au stade nouaison et trois fleurs. Les conditions de culture sont les mêmes que celles décrites dans l'étude précédente.

2.1.2 Instrumentation RMN

A la suite de l'étude préliminaire, une antenne clipsable caractérisée par une fréquence de résonance optimisée de 5 MHz a été construite (Figure 25). La construction de cette dernière était essentielle pour ne pas abimer la plante en la plaçant au niveau de la tige. L'antenne est de type *saddle coil* et assure à la fois la partie émission et réception du signal électromagnétique. Un pont de diode fonctionnant comme un interrupteur permet de différencier les deux types de signaux. Le diamètre intérieur de l'antenne est de 16 mm.

2.2 Méthodes

2.2.1 Dispositif expérimental

Dans le cadre de l'étude des flux hydrocarbonés chez la Tomate, une enceinte climatique (3 m x 1 m x 1,05 m) a été construite de sorte à pouvoir contrôler l'environnement dans lequel la plante se développe (Figure 26). L'enceinte, dont les parois sont en polycarbonate, est montée autour d'un électroaimant (Drusch 36 mm, 860 kg, 6 mT-2 T) qui a été surélevé de 1,50 m par rapport au niveau du sol. Au sein de l'enceinte climatique différents capteurs ont été installés dans le but de caractériser l'environnement de la plante ainsi que son développement. Ainsi, se trouvent disposés dans l'enceinte des capteurs de luminosité, de température, d'hygrométrie de l'air, d'hygrométrie du substrat dans lequel la plante se développe, ainsi qu'un capteur de déplacement micrométrique permettant de mesurer les variations de diamètre de la tige. Une balance a également été ajoutée ainsi qu'une pompe permettant d'ajuster les besoins hydriques de la plante en fonction des pertes de poids indiquées par la balance. Une plaque de LED, dont la hauteur dans l'enceinte peut être ajustée, permet l'éclairage de la plante et l'induction de cycles jours nuit et un système de chauffage à air pulsé permet d'augmenter la température de l'enceinte. Pour cette étude, l'antenne est placée au niveau de l'EN 19, qui présente à ce niveau un diamètre de 12 mm, est amenée au centre de l'aimant.

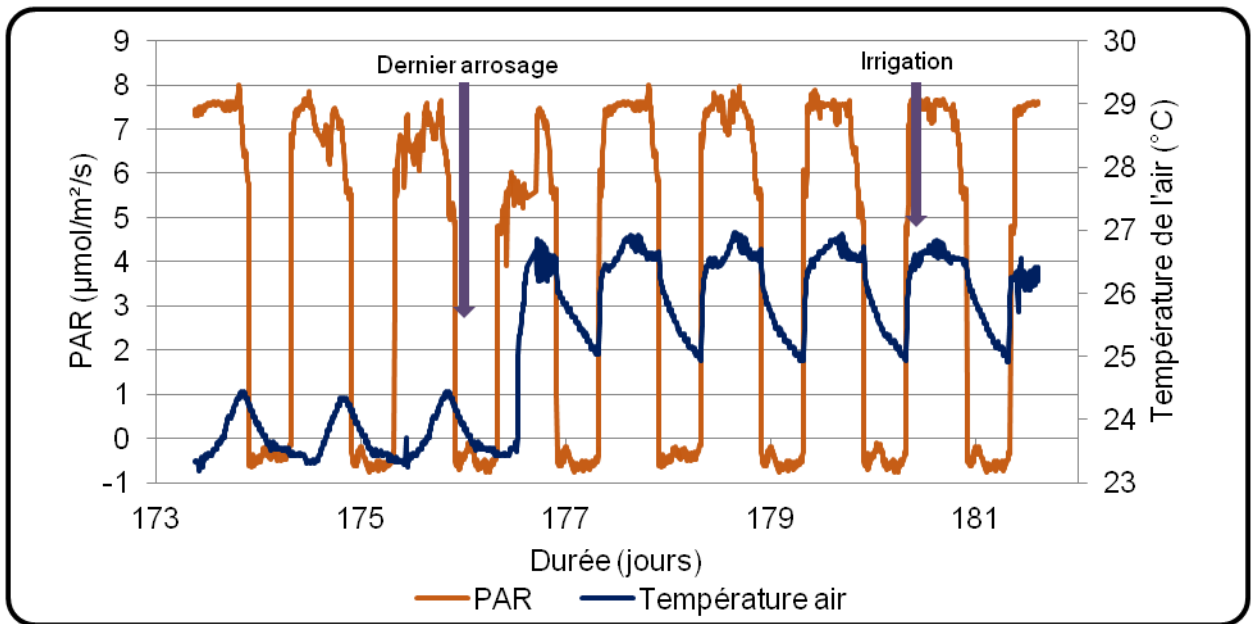


Figure 27 : Evolution de la PAR et de la température de l'air au sein de l'enceinte sur la durée de l'expérimentation.

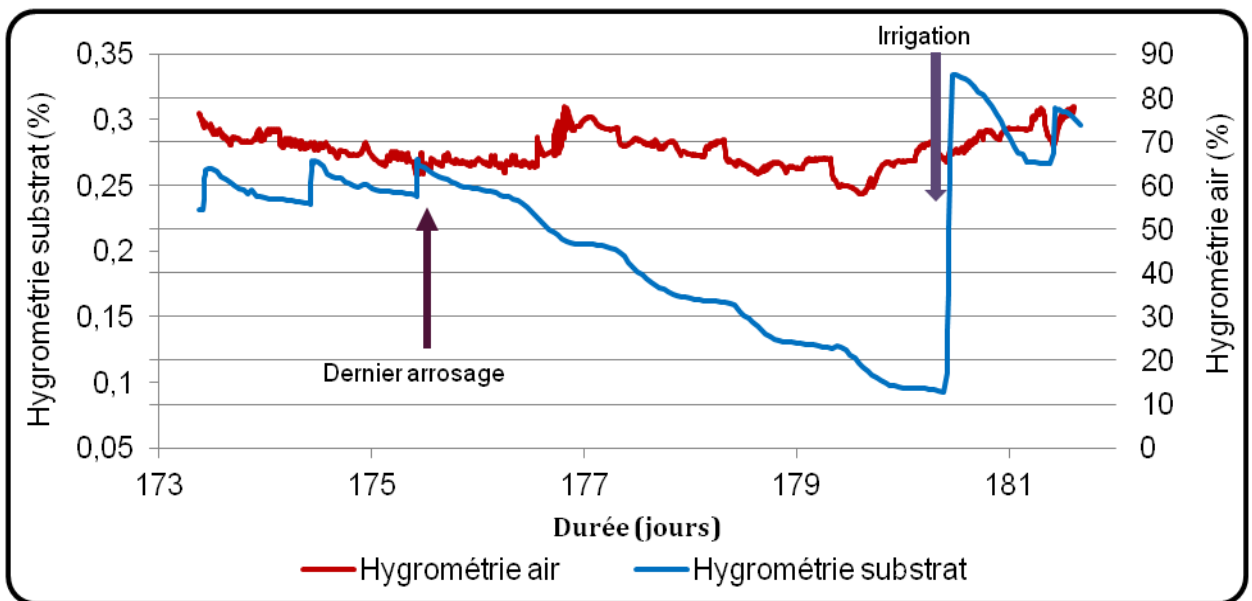


Figure 28 : Evolution de l'hygrométrie de l'air et du substrat au sein de l'enceinte climatique sur la durée de l'expérimentation. Au cours du stress l'hygrométrie du substrat diminue de 67 %.

2.2.2 Conduite de l'essai

Le plant de tomate a été placé durant neuf jours au sein de l'enceinte, à savoir de la journée calendaire 170 à la journée 181. Son développement a été optimal et les fleurs portées par le nœud ont atteint le stade nouaison et tous les fruits portés par la plante ont poursuivi leur croissance. La plante a été soumise à une photopériode de 14 h de jour, 10 h de nuit et sous une humidité relative moyenne de 70 %. La PAR mesurée au niveau des feuilles est de 8 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ (lorsque le capteur est placé juste en dessous de la plaque de LED, ce chiffre monte à 35 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$). A partir du jour 176, la température a été augmentée et est de 26,5 °C le jour et 25 °C la nuit ((Figure 27). 150 ml de solution nutritive sont apportés chaque jour et un arrêt de l'arrosage est appliqué à partir de la journée 176. La reprise de l'arrosage se fait le jour 180 (Figure 28). Les données climatiques disponibles n'ont été enregistrées qu'à partir du jour 173.

2.2.3 Mesures des différents biomarqueurs RMN

Les méthodes de mesures de T1 et T2 sont les mêmes que celles décrites en 1.2.2. Dans le cadre de cette expérimentation, il est également suivi l'évolution des valeurs du SNR. Le SNR correspond ici aux valeurs d'aimantation M_0 puisqu'il a été déterminé que le bruit est constant au cours de la durée de l'expérience. Ainsi, de par les équations (7) et (8), il est possible de déterminer les valeurs de M_0 et ce pour chaque composante.

2.2.4 Analyse des résultats

Au sein du programme mathématique décrit en 1.2.3, il a été modifié les paramètres initiaux des valeurs d'aimantation reliées au SNR dans le but d'améliorer la visualisation de l'évolution des valeurs de T1 et de T2. Ainsi, pour les équations (8) et (9), il a été fixé que les repousses longitudinale et transversale de la composante courte (S(T1a) et S(T2a)) participent à hauteur de 40 % du signal RMN et que celles de la composante longue (S(T1b) et S(T2b)) participent à hauteur de 60 % de ce signal. Les valeurs de T1 de la composante longue (T1b) sont laissées fluctuantes au dessus d'un seuil fixé à 300 ms et celle de la composante courte (T1a) sont laissées libres. Le seuil minimal des valeurs de T2 de la composante longue (T2b) est de 300 ms et celui de la composante courte (T2a), de 10 ms. Pour une meilleure visualisation des résultats, la représentation de l'évolution des différents biomarqueurs RMN au cours de l'expérience a été scindée en deux parties distinctes. Ainsi, dans un premier temps sera représentée l'évolution de ces biomarqueurs de la journée 170 à la journée 176, puis dans un second temps, l'évolution de ces mêmes biomarqueurs sera visualisée de la journée 173 à la journée 181, soit la période où le stress hydrique est appliqué.

3. Recherche de biomarqueurs RMN des flux hydrocarbonés après défoliation

Cette présente étude a pour but d'étudier si des biomarqueurs RMN des flux hydrocarbonés peuvent être mis en évidence chez la tomate après une défoliation partielle.

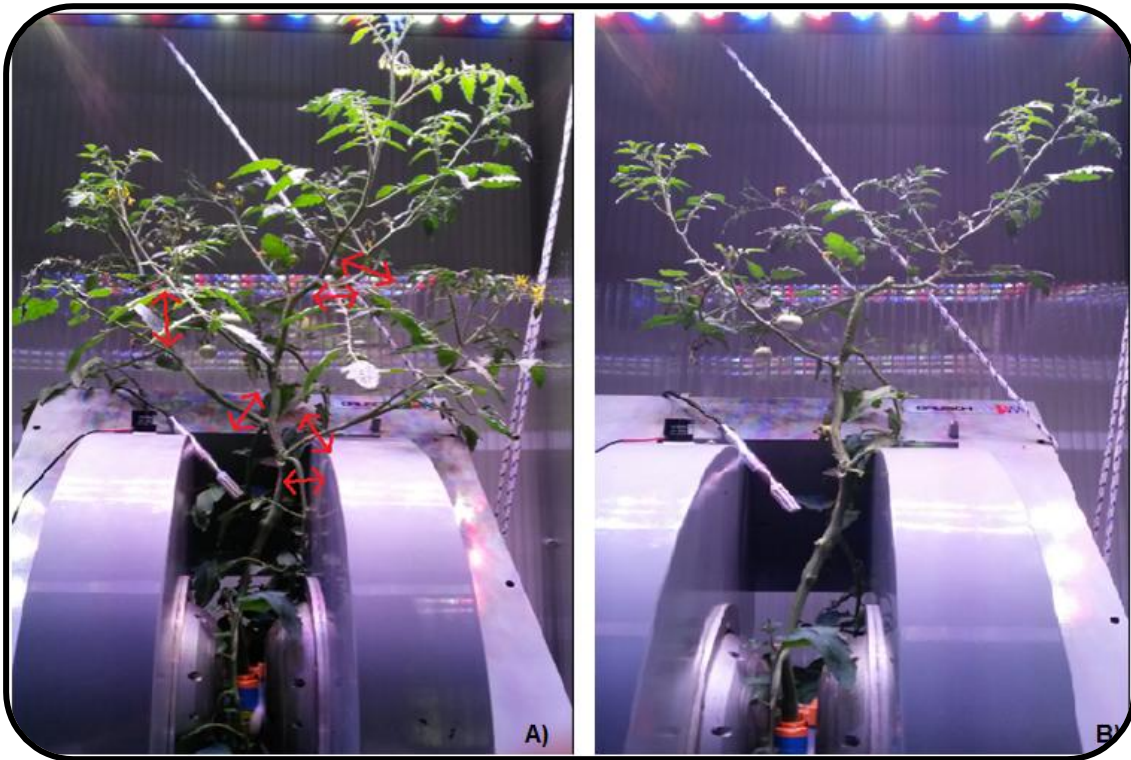


Figure 29 : Plant de tomate avant défoliation partielle (A) puis après la coupe des feuilles (B). Les flèches rouges symbolisent la section des différents nœuds.

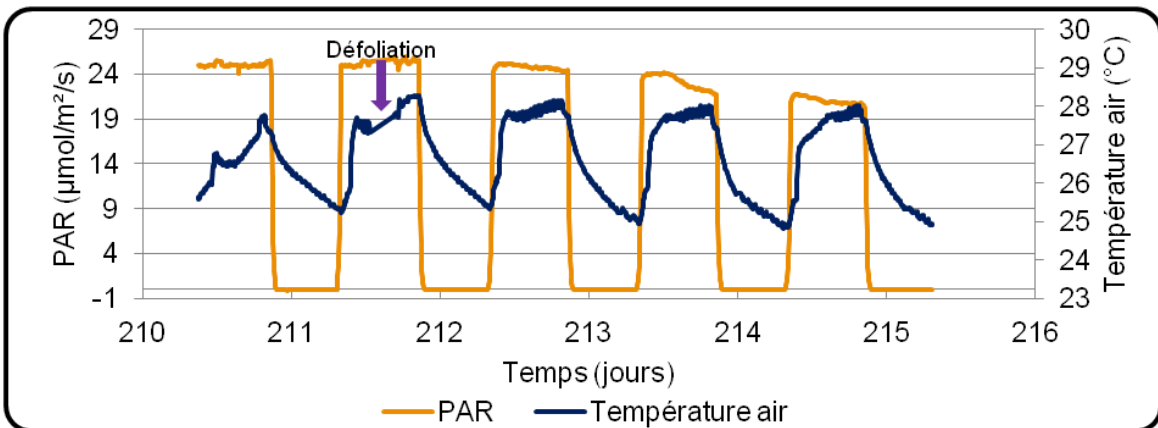


Figure 30 : Evolution de la PAR et de la température au sein de l'enceinte avant et après défoliation.

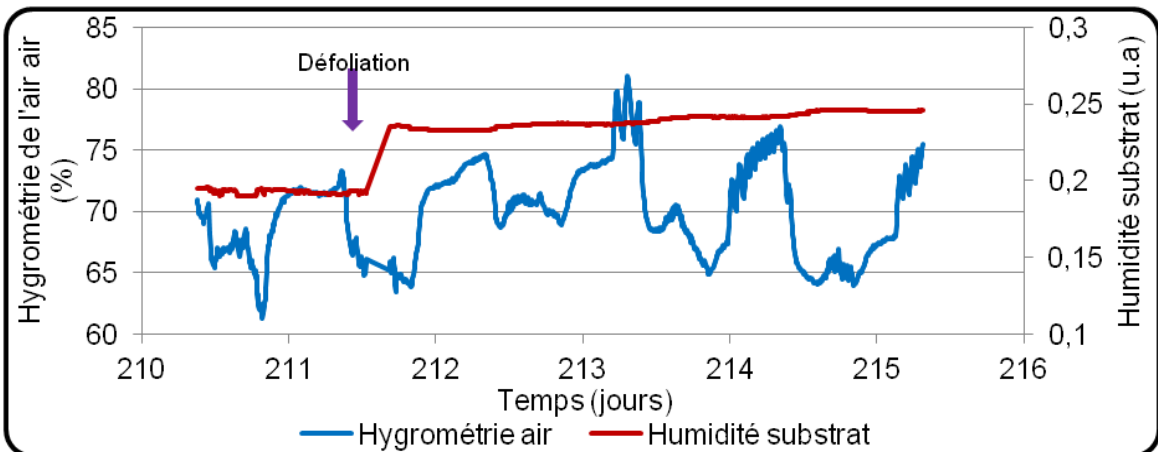


Figure 31 : Evolution de l'hygrométrie de l'air et du substrat de la plante au sein de l'enceinte avant et après défoliation.

3.1 Matériel

3.1.1 Matériel végétal

Le plant de tomate placé au sein de l'enceinte comporte vingt-trois EN. Le nœud 7 porte six fruits en phase d'expansion et au stade vert, et deux au stade nouaison. Le nœud 14 porte deux fruits au stade vert, le nœud 18 porte trois fleurs, deux fruits au stade expansion et deux au stade nouaison, le nœud 19 porte quatre fleurs et le nœud 22 en porte quant à lui trois.

3.2 Méthodes

3.2.1 Dispositif expérimental et conduite de l'essai

L'expérimentation a été menée au sein de l'enceinte climatique du jour calendaire 210 jusqu'au jour 215 mais la plante a été placée dans l'enceinte dès le jour 208 pour pouvoir s'y acclimater. L'antenne RF utilisée, la même que celle décrite en 2.1.2 est placée au niveau de l'EN 13, où le diamètre de la tige est de 13 mm, et amenée au centre de B_0 . Au cours de la journée 211, une défoliation partielle a été réalisée. Les nœuds 15, 16 et 17, 20 et 21 sont sectionnés et une portion du nœud 19 l'est également (Figure 29). La plante a été soumise à une photopériode de 14 h de jour, 10 h de nuit. La PAR mesurée au niveau des feuilles est de $25 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ (lorsque le capteur est placé juste en dessous de la plaque de LED, ce chiffre monte à $130 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$). La température est de 28°C le jour et 25°C la nuit (Figure 30) et l'humidité relative moyenne de 70 % (Figure 31). La balance présente au sein de l'enceinte est fonctionnelle et lorsque le poids de la plante passe en deçà d'un seuil fixé, le système d'irrigation grâce à la pompe se met en route. Le diamètre de la tige diminue jusqu'au moment de la défoliation puis augmente par la suite et enfin stagne à une valeur de 18 mm (Annexe II).

3.2.2 Mesures des différents biomarqueurs RMN

Dans le cadre de cette étude, seuls les paramètres relatifs à la relaxation transversale sont étudiés permettant ainsi l'obtention de données plus nombreuses à l'échelle journalière. Sont ainsi étudiées pour les deux composantes les évolutions des valeurs de T2, et du signal de repousse transversale.

3.2.3 Analyse des résultats

Les valeurs de T2 et de S(T2) sont obtenues à travers le programme mathématique implémenté dans le logiciel MATLAB et décrit en 1.2.3. A ce programme a été ajouté un traitement mathématique permettant de représenter, sous forme d'histogramme, les proportions des valeurs de T2 selon l'intensité du signal.

4. Etude de l'évolution du T2 par suivi IRM

L'objectif de cette étude est d'étudier, par suivi IRM, la répartition spatiale des T2 au sein d'une tige de tomate au cours de cycles jours-nuits à travers la réalisation d'une cartographie.

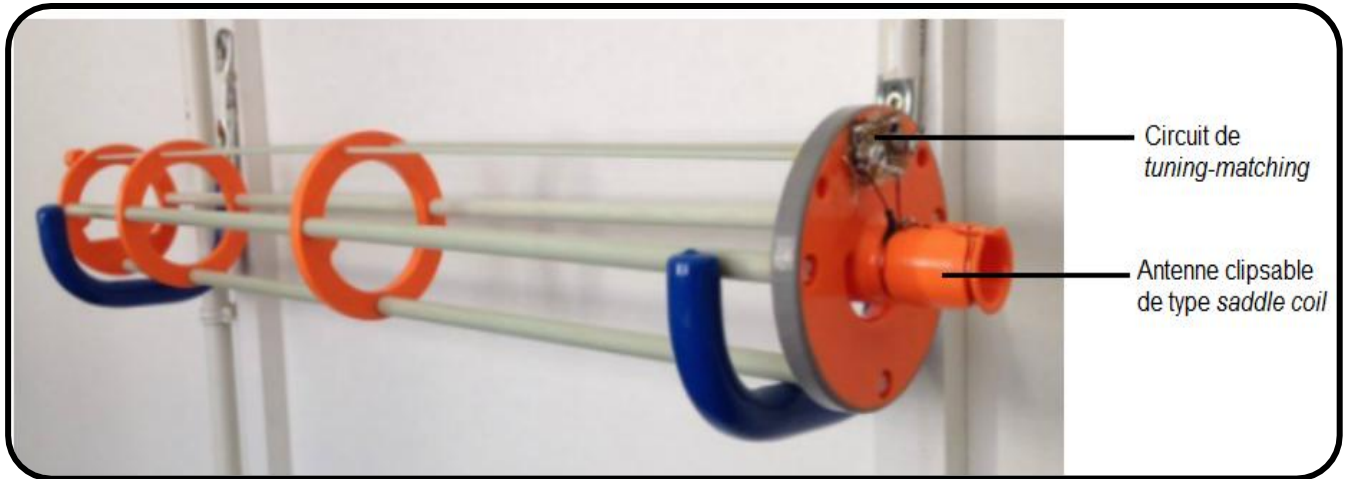


Figure 32 : Antenne *saddle-coil* clipsable et son support.



Figure 33 : Ajustement du support de l'antenne (A) et de l'antenne *saddle coil* clipsable (B) autour de la tige de tomate.

4.1 Matériel

4.1.1 Matériel végétal

Le plant de tomate placé au sein de l'IRM présente une architecture de vingt-et-un EN. Le nœud 8 porte cinq fruits verts, le nœud 12 quatre fruits en phase d'expansion et deux au stade nouaison et le nœud 15 six fleurs. Les nœuds 17 et 20 portent respectivement cinq et six fleurs.

4.1.2 Instrumentation RMN

Pour cette étude, une antenne clipsable de diamètre 14 mm et résonant à 400 MHz a été construite au sein du laboratoire (Figure 32).

4.2 Méthodes

4.2.1 Dispositif expérimental et conduite de l'essai

L'expérimentation prend place au sein de l'IRM VARIAN 9.4 T. L'antenne RF a été placée au niveau de l'EN 14 et la plante est amenée en position horizontale au sein de l'aimant de sorte à ce que l'antenne se trouve au centre de ce dernier (Figure 33). Pour faire pénétrer la plante en son sein, les parties foliaires au-delà de l'EN 14 ont été passées dans un tube plastique de 10 cm de diamètre. A l'extrémité de l'aimant, la plaque de LED utilisée lors de l'expérience décrite en 2.2.3 est apposée de sorte induire des cycles de cinq heures de jours et cinq heures de nuit.

4.2.2 Mesure du T2

Le T2 est mesuré à l'aide de la séquence écho de spin (Figure 4) à laquelle a été ajoutée l'application de gradients de sélection de coupe, de phase et de fréquence (Annexe III). Les caractéristiques de la séquence sont les suivantes : TR = 2s, TE = 15,94 ms, nombre d'échos = 8, nombre de coupes = 5. Pour chaque coupe, huit images sont obtenues correspondant aux huit échos.

4.2.3 Analyse des résultats

Une fois les images obtenues, la visualisation de la répartition tissulaire des T2 au sein de la tige de tomate est obtenue grâce à une cartographie de T2. Cette dernière est obtenue à travers différentes opérations mathématiques implémentées dans un programme créé au sein du logiciel MATLAB. Ces dernières peuvent être résumées selon l'équation suivante : $Carte\ T2 = TE / \ln \left(\frac{S(TE1)}{S(TE2)} \right)$ (9) et où TE est le temps d'écho, S(TE1) est le signal obtenu pour l'image écho 1 et S(TE2) le signal obtenu pour l'image écho 2. Une coloration 'Rouge, Vert, Bleu' est ensuite appliquée à l'image pour ainsi obtenir une meilleure visualisation de la répartition des valeurs de T2 au sein de la coupe de tige de tomate. Il est ainsi possible d'étudier les variations des valeurs de T2 au cours des phases nocturnes et diurnes.

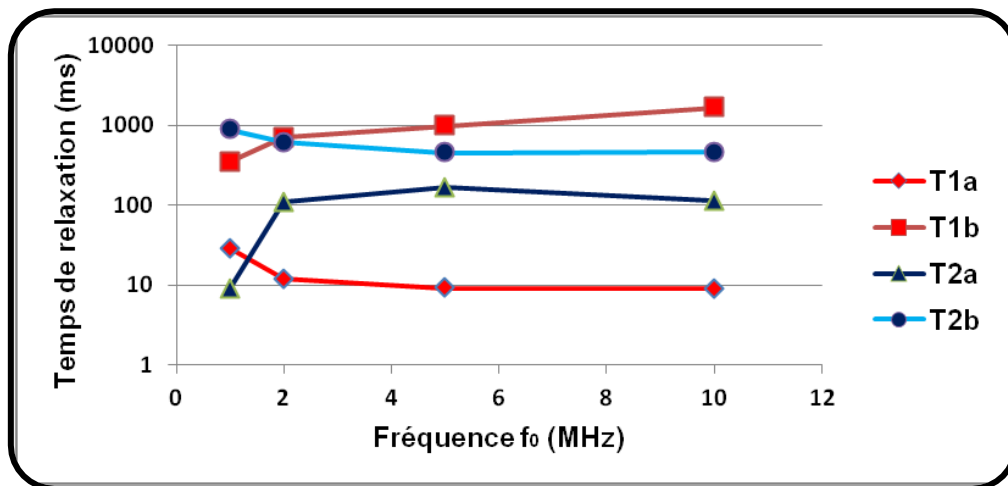


Figure 34 : Evolution des valeurs de T1 et T2 selon la fréquence f_0 au niveau de l'EN 21 d'une tige de tomate. Les valeurs sont représentées selon une échelle logarithmique.

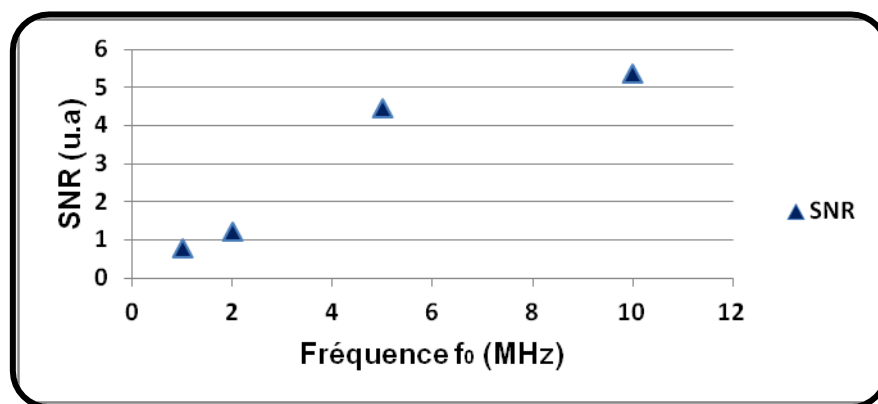


Figure 35 : Evolution du SNR selon la fréquence f_0 au niveau de l'EN 21 d'une tige de tomate.

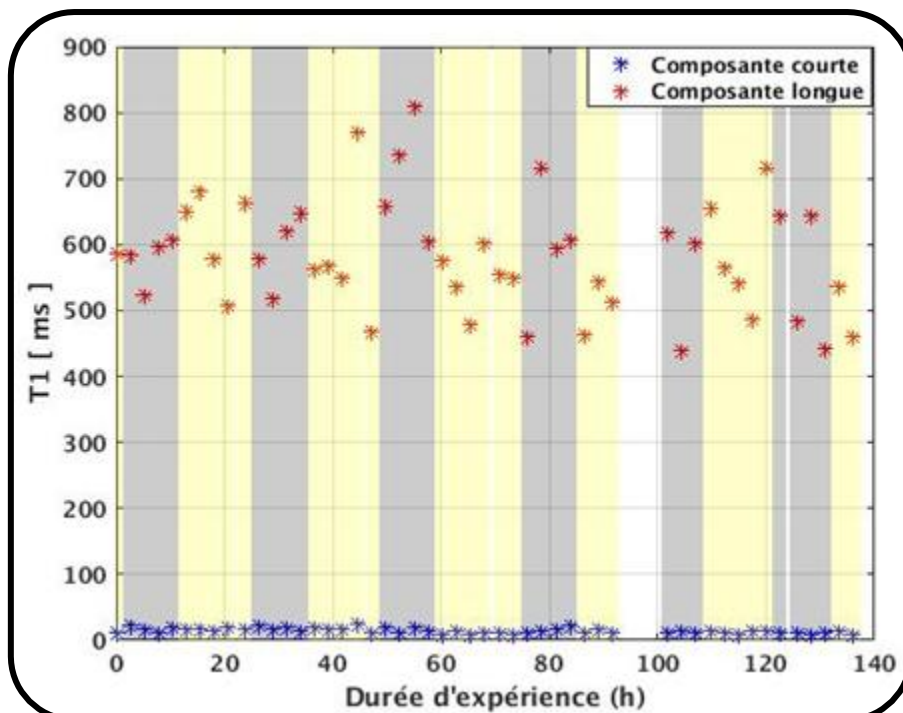


Figure 36 : Evolution de T1 au sein d'une tige de tomate au cours du nyctémère. La lumière est d'intensité maximale. Les bandes jaunes représentent la phase diurne et les bandes grises la phase nocturne.

III Résultats

1. Evolution des T1, T2 et du SNR selon f_0 au sein d'une tige de tomate

1.1 Evolution des temps de relaxation selon f_0 au sein d'une tige de tomate

Concernant l'évolution du temps de relaxation T1 dans la tige, les deux composantes montrent des variations différentes (Figure 34). En effet, le T1a passe d'une valeur de 28 à 9 ms lorsque la fréquence f_0 passe de 1 à 10 MHz, soit une diminution de 68 %. Concernant le T1b, les valeurs de temps de relaxation se raccourcissent lorsque la fréquence f_0 diminue et passent ainsi d'une valeur de 1650 ms pour une fréquence de 10 MHz à 351 ms pour une fréquence de 1 MHz, soit une diminution de 78 % de sa valeur.

En ce qui concerne l'évolution du temps de relaxation transversale, la valeur de T2a augmente de 9,04 ms à 166 ms lorsque la fréquence f_0 augmente de 1 à 5 MHz, puis diminue jusqu'à une fréquence f_0 de 10 MHz, où T2a est égal à 113 ms (Figure 34). Les valeurs de T2b, quant à elles, diminuent dans un premier d'une valeur de 880 ms pour une f_0 de 1 MHz à une valeur de 450 ms pour une fréquence f_0 égale à 5 MHz. Par la suite, la valeur du T2b cesse de décroître et stagne jusqu'à une f_0 égale à 10 MHz où sa valeur est de 463 ms.

1.2 Evolution du SNR selon f_0 au sein d'une tige de tomate

Le SNR augmente lorsque la fréquence f_0 du champ magnétique augmente (Figure 35). Ainsi, lorsque f_0 passe de 1 MHz à 10 MHz, le SNR est amélioré d'un facteur 7. Cette hausse se décompose de la façon suivante : lorsque la fréquence f_0 passe de 1 à 2 MHz, le SNR est augmenté d'un facteur 1,5, puis d'un facteur 3,62 lorsque f_0 passe de 2 à 5 MHz et enfin d'un facteur 2 lorsque cette dernière passe de 5 à 10 MHz.

2. Recherche de biomarqueurs RMN des flux hydrocarbonés au cours du nycthémère chez la tomate

2.1 Impact de cycles jours nuits sur la repousse longitudinale

2.1.1 Evolution du temps de relaxation T1

Au cours de la durée de l'expérience, les valeurs de T1b au sein de la tige sont plus élevées que les valeurs de T1a (Figure 36). En conséquence du choix de représentation des données, il est difficile de visualiser les variations des valeurs de T1a. En revanche, il est observé que les valeurs de T1b varient entre 431 et 814 ms au cours de la durée de l'expérience. Au cours de cycles jours – nuits, les valeurs de T1b ont tendance à décroître le jour et à augmenter au cours de la nuit. Sur une période de vingt-quatre heures ces dernières sont en effet minimales en fin de journée et maximales en fin de nuit. Ainsi, au cours de la deuxième journée d'expérience, un T1b maximal de 682 ms est obtenu en fin de nuit (36h), puis une décroissance des valeurs est amorcée et une valeur de 467 ms est atteinte en fin de journée (47 h). Au cours de la nuit suivante, les valeurs de T1b augmentent à nouveau jusqu'à 814 ms (55 h). En ce qui concerne les variations de T1a, il n'est point visualisé de variations nycthémerales.

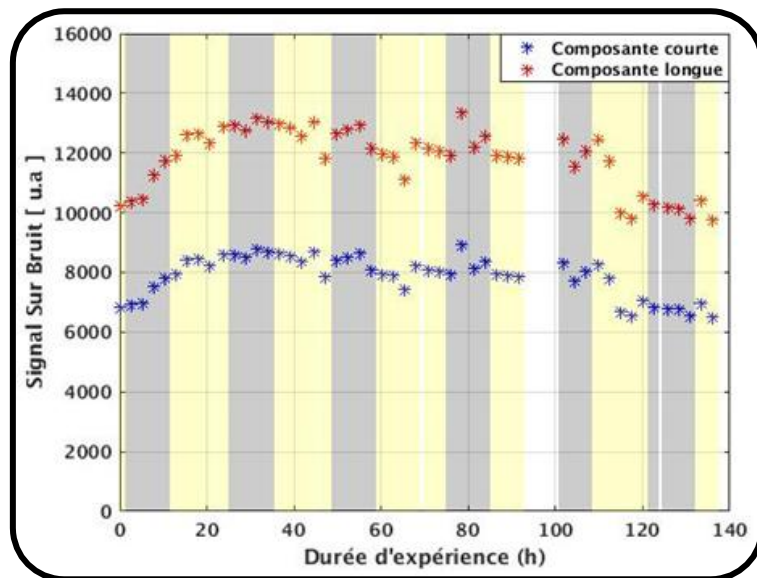


Figure 37 : Evolution de S(T1) au sein d'une tige de tomate au cours du nyctémère.

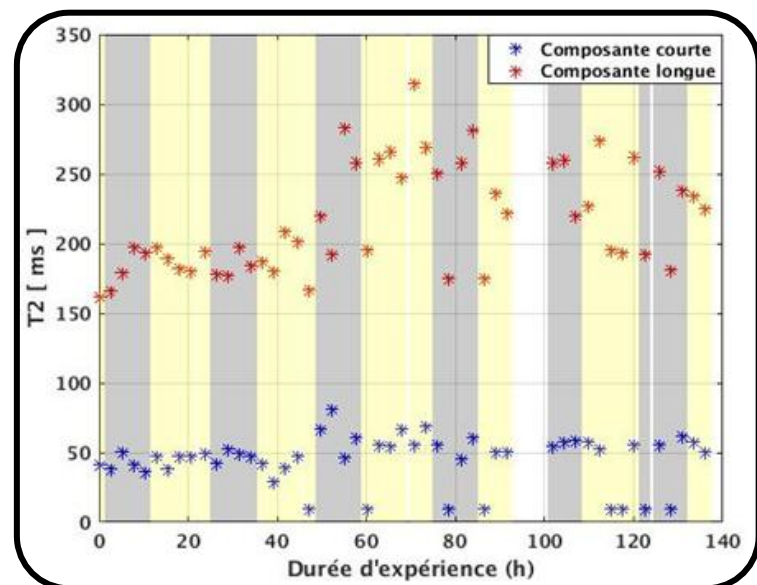


Figure 38 : Evolution de T2 au sein d'une tige de tomate au cours du nyctémère.

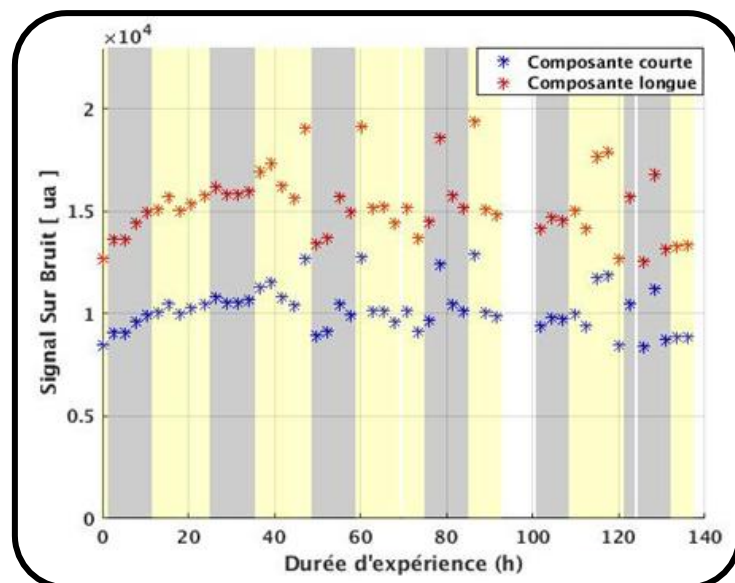


Figure 39 : Evolution de S(T2) au sein d'une tige de tomate au cours du nyctémère.

2.1.2 Etude de l'évolution des valeurs de SNR d'après une expérience de saturation

Tout au long des cycles jours-nuits appliqués au sein de l'enceinte climatique, les valeurs de S(T1a) oscillent entre $6,4 \times 10^4$ et $8,8 \times 10^4$ u.a sur la durée de l'expérience et celles obtenues pour S(T1b) varient entre $9,7 \times 10^4$ et $13,2 \times 10^4$ u.a. Après une augmentation continue des valeurs de SNR pour les deux composantes lors des trente-trois premières heures de l'expérience, de légères variations au cours du nycthémère peuvent être visualisées par la suite (Figure 37). En effet, les valeurs de S(T1a) et de S(T1b) décroissent au cours de la journée et remontent au cours de la période nocturne.

2.2 Impact de cycles jours nuits sur la repousse transversale

2.2.1 Etude de l'évolution du temps de relaxation T2

Au cours de la durée de l'expérience, les valeurs de T2a sont supérieures à celles obtenues pour le T2b (Figure 38). Durant la première partie de l'expérience, jusqu'à la fin de la troisième nuit (59 h) les valeurs de T2b sont principalement comprises entre 160 et 200 ms et, passée cette date, une hausse des valeurs est observée et elles fluctuent désormais autour de 250 ms. Il est difficile de dégager une dynamique de variation jour – nuit concernant les valeurs de T2a et de T2b. Toutefois, il est à noter que les premières sont relativement constantes au cours de la durée de l'expérience, excepté durant la deuxième journée où une forte hausse des valeurs est observée. Les valeurs de T2b semblent quant à elles plus oscillantes sans qu'il ne soit toutefois possible de déterminer si les maxima ou minima sont obtenus à des périodes répétées et caractéristiques d'un moment de la journée.

2.2.2 Etude de l'évolution des valeurs de SNR d'après une expérience CPMG

Au sein de la tige, les valeurs de S(T2b) sont supérieures à celles acquises pour S(T2a) (Figure 39). Ainsi, au cours de la durée de l'expérience, les valeurs minimales et maximales de S(T2a) sont de $8,1 \times 10^3$ u.a (124 h) et 11764 ua (39 h) contre $1,21 \times 10^4$ u.a (124 h) et $1,75 \times 10^4$ u.a (39 h) pour S(T2b). L'évolution des valeurs de SNR est similaire pour chaque courbe, un maxima de S(T2a) correspondant à un maxima de S(T2b) et une dynamique jour – nuit peut être observée. Ainsi, à partir de la trente-sixième heure d'expérimentation, les valeurs de SNR diminuent le jour et augmentent la nuit, et ce pour les deux composantes.

3. Recherche de biomarqueurs RMN des flux hydrocarbonés au cours d'un stress hydrique chez la tomate

3.1 Impact d'un stress hydrique sur la repousse longitudinale et ses composants

3.1.1 Evolution du temps de relaxation T1

Avant l'application du stress, les valeurs de T1b sont majoritairement comprises entre 500 et 600 ms, et oscillent entre 300 et 400 ms deux jours après l'application de la restriction en eau, soit une réduction de 40 % de leurs valeurs. Aussi bien avant, qu'au cours du stress hydrique, les valeurs de T1b sont largement supérieures aux valeurs de T1a dont la distribution ne

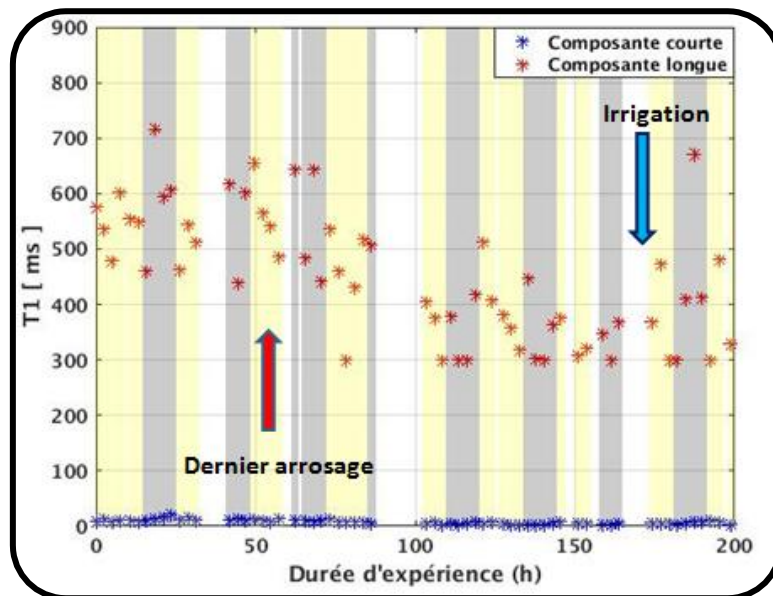


Figure 40 : Evolution de T1 au sein d'une tige de tomate au cours d'un stress hydrique.

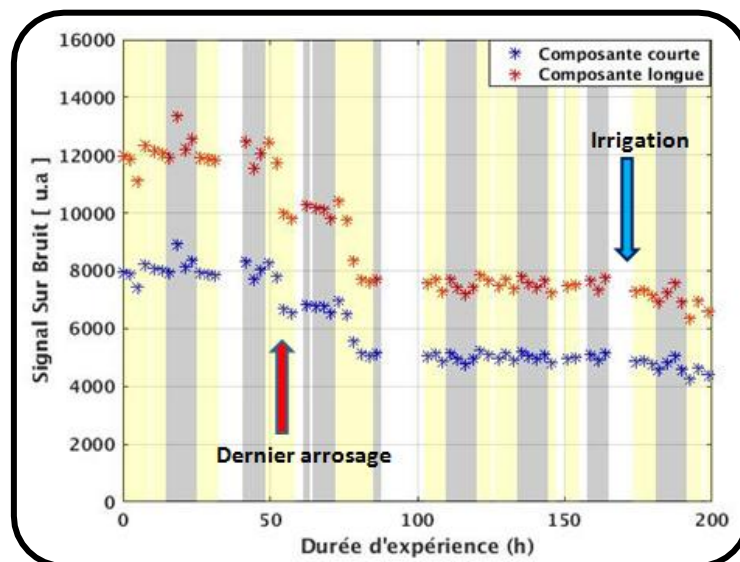


Figure 41 : Evolution de S(T1) au sein d'une tige de tomate au cours d'un stress hydrique.

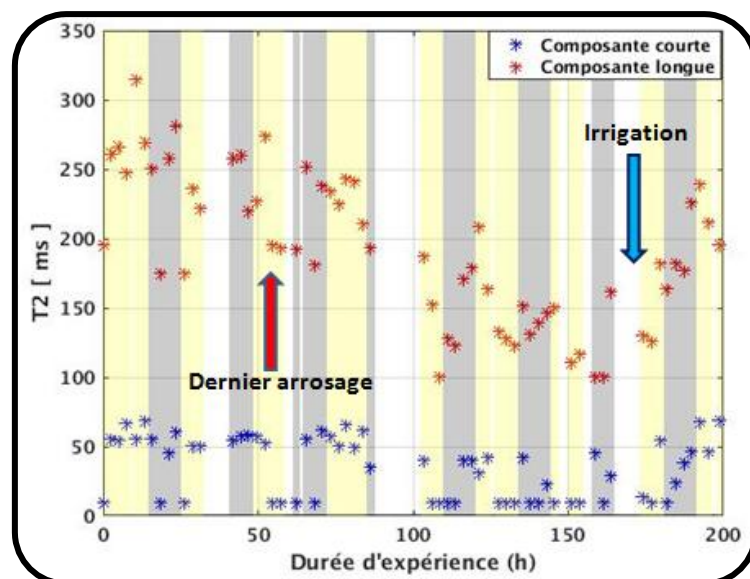


Figure 42 : Evolution de T2 au sein d'une tige de tomate au cours d'un stress hydrique.

permet pas de voir l'impact du stress. Lors de la reprise de l'irrigation, il n'est pas visualisé d'évolution des valeurs de T1b et il est difficile de mettre en exergue une dynamique nycthémérale de l'évolution de ces dernières (Figure 40).

3.1.2 Etude de l'évolution des valeurs de SNR d'après une expérience de saturation

La restriction de l'hydratation du substrat du plant de tomate induit une baisse des valeurs de signal mesuré, et ce pour les deux composantes (Figure 41). En effet, le jour suivant le dernier arrosage, une baisse des valeurs de 19 % est observée pour le S(T1b) et de 32 %, pour le S(T1a), au cours de la phase diurne. Toutefois, le jour correspondant au dernier arrosage (52h), une première chute des valeurs de SNR a été observée. En effet, une diminution de 27 % des valeurs de S(T1a) et de 16 % des valeurs de S(T1b) est visualisable. Par la suite, au cours du reste de la durée de l'expérience, les valeurs de SNR restent relativement stables. La reprise de l'irrigation n'impacte pas les valeurs observées, et ceci vaut pour les deux composantes.

3.2 Impact d'un stress hydrique sur la repousse transversale et ses composants

3.2.1 Etude de l'évolution du temps de relaxation T2

Au cours de la durée de l'expérimentation, les valeurs de T2b sont plus élevées que celles retrouvées au niveau de T2a et l'application du stress hydrique tend à atténuer ce caractère différentiel (Figure 42). Ainsi, le jour du dernier arrosage (52 h), la valeur minimale du T2b, obtenue en fin de journée est égale à 193 ms (59 h). Le jour suivant, une valeur du même ordre de grandeur est observée, toujours en fin de journée (84 h) mais par la suite, une diminution de T2b est à noter. En effet, les valeurs de minimas de ce dernier passent alors de 194 ms (84 h) à 152 ms (107 h), puis à 121 ms (129 h) et à 116 ms (152 h). Lorsque l'arrosage du plant est effectué après la période de stress, la valeur de T2b passe de 132 ms (175 h) à 226 ms en fin de nuit suivant l'irrigation, soit une hausse de 71 % de sa valeur. Concernant les valeurs de T2a, elles sont relativement stables autour de 50 ms avant l'application du stress et ce dernier entraîne une diminution des valeurs qui se stabilisent alors autour de 40 ms. Toutefois, il est difficile de dégager une tendance car de nombreux artefacts liés à des valeurs de T2a en deçà du seuil minimal fixé gênent la lisibilité. La réhydratation du substrat quant à elle entraîne une hausse des valeurs de T2a mais il est difficile de quantifier cette augmentation. Au cours du stress, la dynamique de variations jours – nuits de T2b est plus facilement visualisable qu'avant l'application du stress. Ainsi ces dernières diminuent en phase diurne et augmentent durant la nuit. En revanche, aucune dynamique de ce type n'est observée pour les valeurs de T2a.

3.2.2 Etude de l'évolution des valeurs de SNR d'après une expérience CPMG

Le lendemain du dernier arrosage, une chute des valeurs du signal est observée, et ce pour les deux composantes étudiées. Concernant le S(T2b), sa valeur passe de $1,29 \times 10^4$ u.a en début de première journée sans arrosage (72 h) à $0,44 \times 10^4$ u.a en toute fin de journée (84 h), soit une chute de 66 % de sa valeur. Le même comportement est observé sur les valeurs de S(T2a), qui comme avant le début du stress augmentent légèrement la nuit puis décroissent très fortement

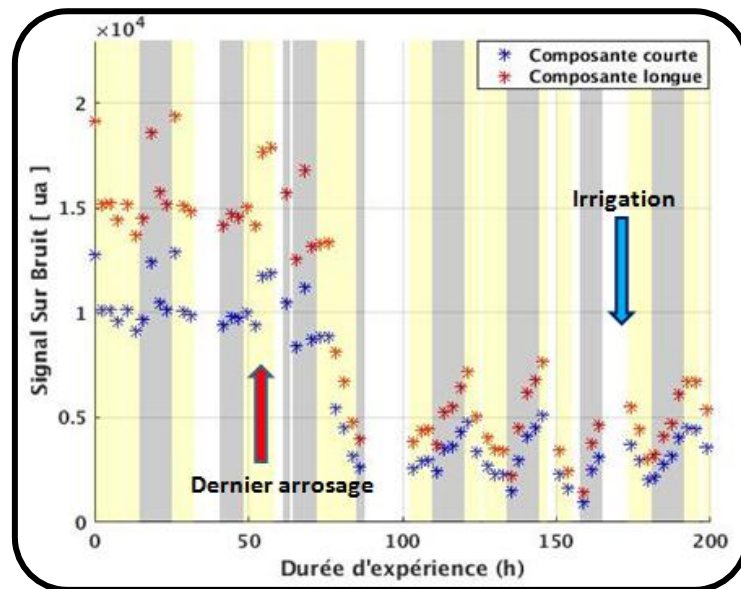


Figure 43 : Evolution de S(T2) au sein d'une tige de tomate au cours d'un stress hydrique.

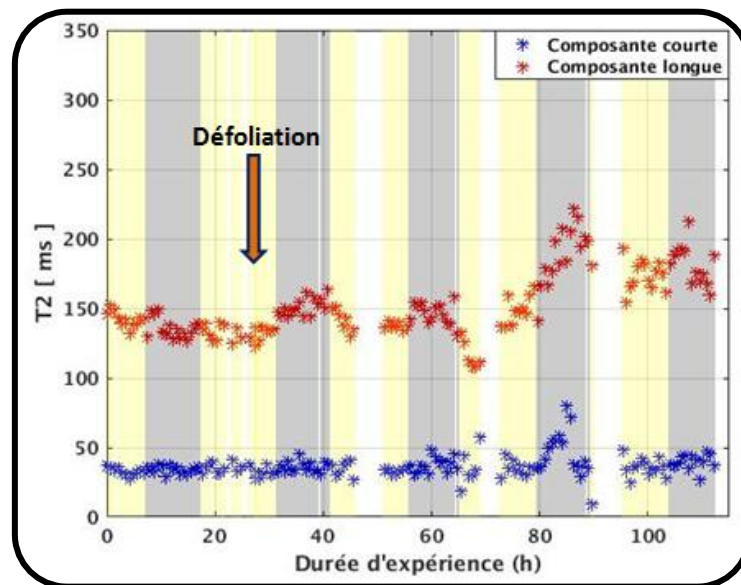


Figure 44 : Evolution de T2 au sein d'une tige de tomate avant et après défoliation.

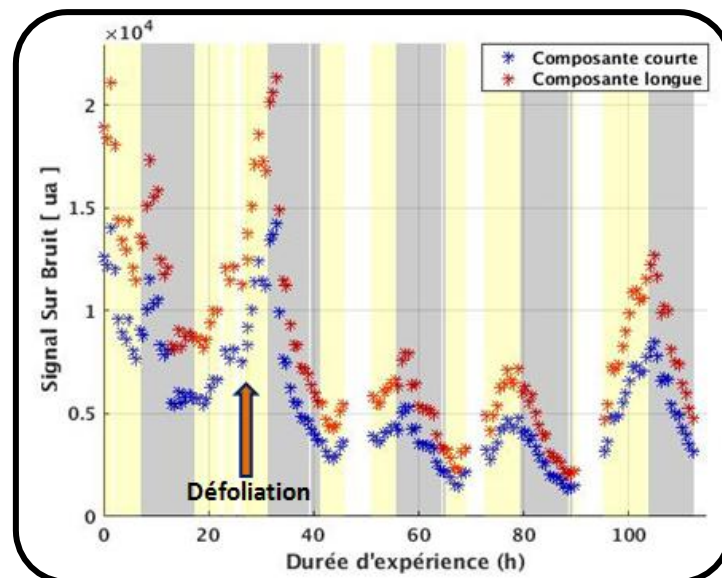


Figure 45 : Evolution de S(T2) au sein d'une tige de tomate avant et après défoliation.

au cours de la journée. Ainsi les valeurs de ce dernier passent de $0,84 \times 10^4$ u.a (72 h) à $0,27 \times 10^4$ u.a en fin de journée (84 h), soit une chute de 67 % de la valeur du signal. Au cours du stress, les valeurs de minima du SNR, obtenues en chaque fin de journée, continuent de chuter et ce pour chaque composante (Figure 43). Ainsi, celles relatives à S(T2b) passent de $0,41 \times 10^4$ u.a (108 h) à $0,36 \times 10^4$ u.a (133 h) puis à $0,17 \times 10^4$ u.a (156 h) au cours de la période d'application du stress, soit une baisse totale de 58 %. Concernant les valeurs de S(T2a), elles diminuent en moyenne de 67 % au cours des journées où le stress est appliqué et augmentent en moyenne de 96 % au cours des périodes nocturnes.

En ce qui concerne la réhydratation du substrat, s'il est regardé les valeurs de maxima, il est noté que la valeur de S(T2a) passe de $0,29 \times 10^4$ en fin de nuit avant arrosage (167 h) à $0,46 \times 10^4$ u.a la nuit suivant reprise de l'irrigation (190 h), soit une hausse de 58 % de sa valeur qui reste toutefois bien loin des valeurs de SNR observées avant l'application du stress. Au regard des dynamiques de variation jours – nuits du SNR, il est observé que l'application du stress entraîne une amplification de ces dernières. Ainsi, les valeurs de S(T2b) augmentent en moyenne de 74 % au cours de la nuit et diminuent en moyenne de 61 % au cours du jour alors qu'avant stress il est difficile de dégager un pourcentage de variation, mais il semble bien inférieur à ceux présentés ici.

4. Recherche de biomarqueurs RMN des flux hydrocarbonés après défoliation

4.1 Etude de l'évolution du temps de relaxation T2

Au cours de l'expérience, et ce, aussi bien avant qu'après défoliation, les valeurs de T2b sont supérieures à celles retrouvées pour le T2a (Figure 44). Ainsi, avant coupe des feuilles, ces dernières ont été comprises entre 27 (11 h) et 41 ms (24 h) et celles de T2b sont comprises entre 124 (23 h) et 149 ms (9 h). La défoliation n'impacte pas les valeurs de T2a excepté au cours de la troisième nuit après défoliation où une hausse des valeurs de 94 % est observée jusqu'en milieu de nuit et où la valeur de T2a passe ainsi de 38 (79 h) à 74 ms (84 h). Cette hausse est immédiatement suivie d'une chute des valeurs qui retrouvent leur niveau basal d'avant nuit, à 37 ms (89 h). Concernant le T2b, la défoliation est immédiatement suivie d'une forte hausse des valeurs qui passent ainsi de 137 (27h) à 159 ms (36 h). Ensuite les valeurs reviennent à leur valeur basale début de matinée, à 135 ms (46 h) et le même phénomène est observé la nuit suivante. A partir de la soixante-huitième heure d'expérience, une forte hausse des valeurs de T2b est visualisée et se prolonge jusqu'à la quatre-vingt-neuvième heure. Les valeurs passent ainsi de 128 ms (66 h) à 202 ms (89 h) soit une hausse de 57, 8%. Au cours de la durée de l'expérience, les valeurs de T2b ont tendance à augmenter le jour et à diminuer la nuit. En revanche, aucune dynamique de ce type n'est visualisée pour les valeurs de T2a.

4.2 Etude de l'évolution du SNR d'après une expérience CPMG

Au regard de la figure 45 il est noté que la coupe des feuilles induit une forte baisse des valeurs de maxima et de minima de S(T1a) et S(T1b) et que la distribution de ces derniers évolue de

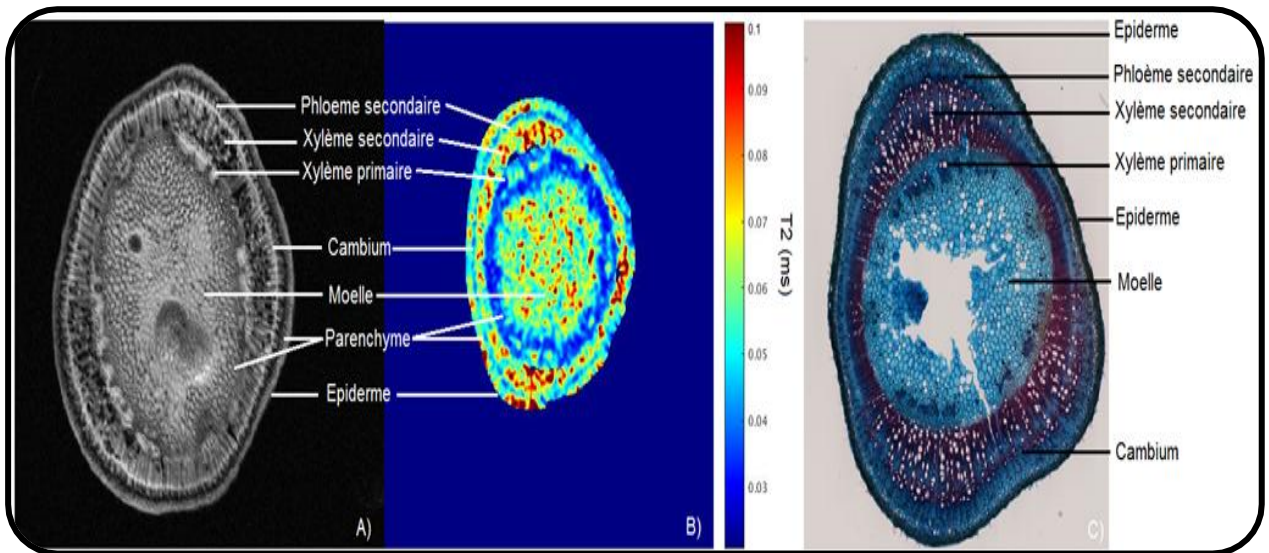


Figure 46 : Cartographie des T2 au sein d'une tige de tomate (B) et comparaison avec l'image de base (A) et une coupe histologique (C). Les caractéristiques d'acquisition de l'image A) sont les suivantes : TR = 2000 ms ; TE = 15,94 ms ; Nombre d'échos = 8 ; Résolution = 256 x 256. L'image B a été obtenue grâce à une coloration Fasga (Safranine + Bleu de Toluidine) (x5).

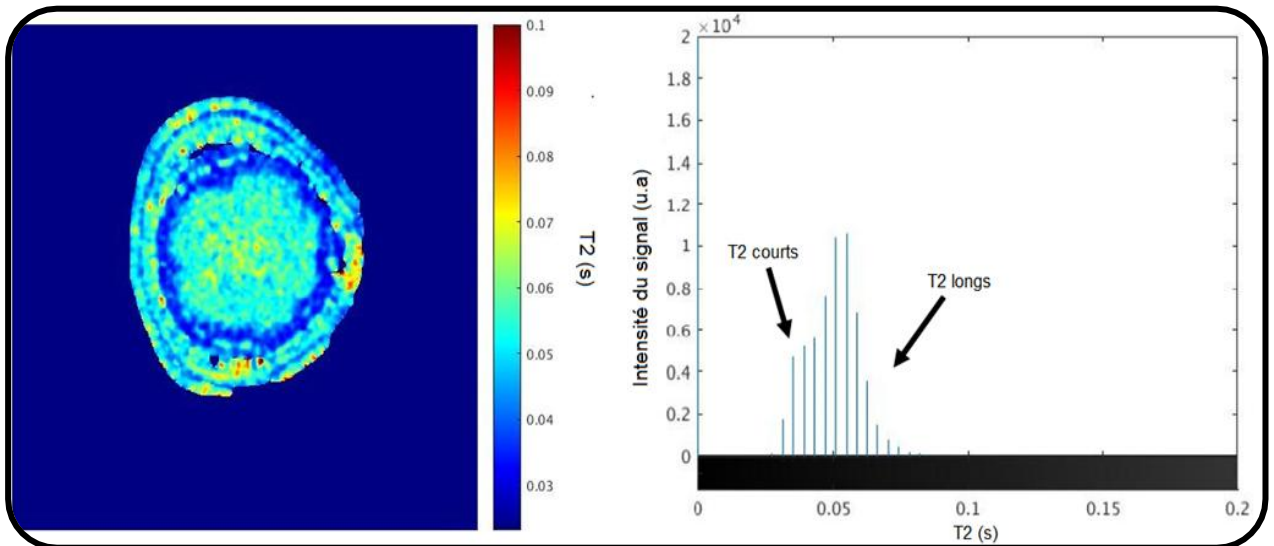


Figure 47 : Cartographie et distribution des T2 au sein d'une tige de tomate en période diurne.

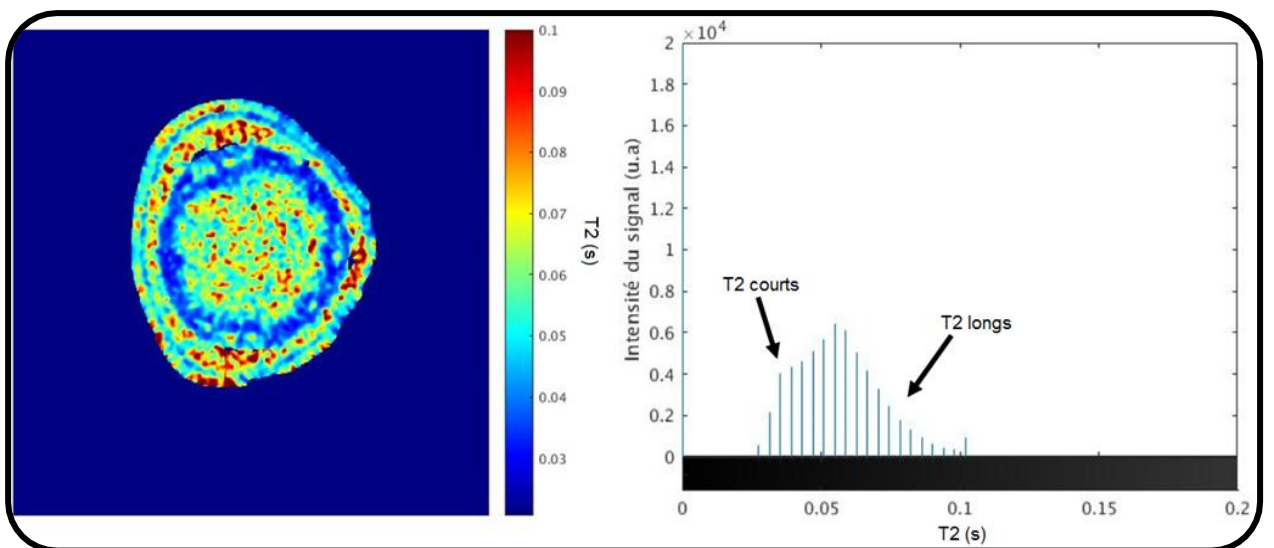


Figure 48 : Cartographie et distribution des T2 au sein d'une tige de tomate en période nocturne.

façon conjointe entre les deux composantes. Il est visualisé que les valeurs de SNR des deux composantes augmentent en cours de journée, et où un point de valeur maximale est obtenu en tout début de nuit, et diminuent en cours de nuit. La coupe des feuilles entraîne une baisse des valeurs de SNR, et ce pour les deux composantes. Ainsi, après la coupe des feuilles la valeur de minima de S(T2a), observée en fin de nuit est de $0,32 \times 10^4$ u.a (41 h) alors qu'elle était égale à $0,54 \times 10^4$ u.a en fin de nuit précédente (16 h) et cette chute se poursuit la journée suivante où les valeurs de S(T2a) passent alors à $0,19 \times 10^4$ u.a (65 h) puis à $0,16 \times 10^4$ u.a (88 h). Ainsi, les minima de S(T2a) auront chuté de 70,3 % à la suite de la défoliation. Concernant le S(T2b), une chute identique des valeurs est retrouvée. Au cours de la dernière journée d'expérience, il est noté une forte hausse des valeurs de maxima observés en fin de journée, et ce pour les deux composantes. Ainsi, la valeur de maxima de S(T1b) passe de $0,69 \times 10^4$ u.a (78 h) à $1,34 \times 10^4$ u.a (103 h), soit une hausse de 94, 2% de sa valeur, qui reste toutefois inférieure de 41 % par rapport à la valeur obtenue juste avant la coupe des feuilles.

5. Etude de l'évolution du T2 par suivi IRM

5.1 Répartition tissulaire des T2

Sur la Figure 27, sont visualisées les valeurs de T2 selon les différents tissus de la tige de tomate. Les valeurs de T2 les plus longues sont principalement retrouvées au sein de la moelle, du xylème secondaire. Ainsi, au sein de ces tissus, les valeurs de T2 sont majoritairement comprises entre 70 et 100 ms. Le parenchyme cortical présente lui aussi des zones où les valeurs de T2 sont similaires aux tissus cités précédemment mais cette distribution n'est pas continue sur l'ensemble de la section de tige. Ainsi, par endroits, il présente des valeurs de T2 plus faibles, comprises entre 30 et 50 ms, soit des valeurs du même ordre de grandeur que celles retrouvées au niveau du cambium. Le parenchyme à petites cellules, à proximité de la moelle, est la zone tissulaire qui présente les T2 les plus faibles. Ils ainsi caractérisés par des valeurs comprises entre 20 et 30 ms. Concernant le phloème secondaire, il est difficilement discernable et semble être caractérisé par des valeurs de T2 similaires à celles retrouvées au niveau du cambium.

5.2 Evolution des T2 au cours du nyctémère

Lorsqu'il est regardé l'évolution des valeurs de T2 au cours du nyctémère, il est visualisé, au sein de la tige, que ces dernières diminuent au cours de la journée et augmentent durant la phase nocturne (Annexe IV). Ainsi, sur les diagrammes de répartition des T2, il est noté que la proportion des T2 longs est plus importante au cours de la nuit qu'elle ne l'est en période diurne (Figure 46 et 47). Cet allongement des valeurs de T2 semble se faire selon des régions tissulaires distinctes. En effet, c'est au sein de la moelle, du parenchyme cortical et du xylème secondaire que les variations de T2 au cours du nyctémère sont les plus amples, et ceci est particulièrement vrai pour les deux dernières régions citées. Ainsi, au cours de la journée les valeurs de T2 de ces deux régions sont majoritairement comprises entre 40 et 60 ms, alors

qu'elles sont de l'ordre de 70 à 100 ms durant la phase nocturne. En revanche, pour les autres régions tissulaires de la tige de tomate, aucune évolution visuelle des valeurs de T2 n'est mise en évidence.

IV Discussion

1 Evolution des T1, T2 et du SNR selon f_0 au sein d'une tige de tomate

A travers l'évolution des valeurs de temps de relaxation T1 et T2 selon la fréquence f_0 du champ magnétique statique et permanent, il est mis en évidence un comportement différent entre les composantes courtes et longues du signal. En effet, alors que T1a diminue avec une hausse de la fréquence, T1b augmente. Les comportements inverses sont observés pour le T2 puisque T2a augmente et T2 b diminue lorsque f_0 augmente. Les évolutions de T1b et de T2a sont concordantes aux attentes puisqu'en effet il pouvait être attendu une augmentation des valeurs de T1 et de T2 lorsque que la fréquence augmente (Korb et Bryant, 2002 ; Held *et al.*, 1973). Concernant celles de T2a et T1b, le résultat est plus surprenant mais reste reproductible puisqu'une autre série de mesures a été réalisée, cette fois-ci sur des morceaux de tige ex-vivo, et les résultats obtenus allaient dans le sens de ceux présentés ici.

Concernant l'évolution du SNR, les résultats obtenus sont en accord avec ce qui était attendu. En effet, d'après l'équation (5), le SNR augmente lorsque l'intensité du champ RF appliqué augmente. Il est ainsi cohérent de visualiser une chute de la qualité du signal transmis lorsque la fréquence f_0 diminue. Après obtention de ces résultats, il a ainsi été décidé de construire une antenne à une fréquence de résonance de 5 MHz car le SNR n'est pas fortement dégradé par rapport à une fréquence de 10 MHz et cela permet de mieux discerner les T1.

L'observation de deux composantes au sein du signal RMN met en évidence deux 'types' d'eaux présents au sein de la tige de tomate, à savoir une eau libre, peu visqueuse et une eau liée, à la viscosité plus élevée. En effet, il est reconnu que plus la viscosité d'un fluide est élevée et plus son temps de corrélation (temps moyen séparant deux collisions successives des molécules) sera faible. Ce dernier étant directement proportionnel aux valeurs de T1 et T2, il est ainsi distinguable que plus la viscosité d'un fluide sera élevée et plus les valeurs de T1 et de T2 seront faibles.

2 .Recherche de biomarqueurs RMN des flux hydrocarbonés au cours du nycthémère et au cours d'un stress hydrique chez la tomate

2.1 Suivi des temps de relaxation T1 et T2

L'évolution des temps de relaxation, en présence ou non de stress, permet de renseigner sur l'état de l'eau au sein des différents compartiments tissulaires ; à travers leur évolution il est possible de déterminer l'impact éventuel d'un stress abiotique. Aussi bien avant qu'après restriction hydrique, les valeurs de T1b et T2b ont tendance à diminuer le jour et augmenter la

nuit ; cette évolution est en accord avec les résultats obtenus à travers les travaux d'imagerie qui confirment qu'au cours de la période nocturne, les valeurs de T2 s'allongent.

Différentes hypothèses peuvent alors être formulées pour expliciter cette évolution et la première d'entre elles est relative à la concentration en solutés au sein de la tige. La journée, la transpiration foliaire est maximale, induisant ainsi une hausse de la concentration en ion au sein des feuilles et de la tige (Nardini *et al.*, 2011b). Or plus une solution est concentrée et plus les temps de relaxation la caractérisant sont courts (Chang *et al.*, 2016). Les ions étant transportés par le xylème, caractérisé via imagerie par des T2 plus longs, il est cohérent d'observer une baisse des valeurs de T2b et T1b la journée, due à une diminution de la turgescence cellulaire et donc à une hausse de la pression osmotique (O'Neill, 1983). La seconde hypothèse posée repose sur des tensions et pressions au sein de la colonne d'eau plus forte en cours de journée (Lovisolo et Schubert, 1998). Ainsi, lorsque la plante transpire, la diffusion ne permet plus de remplacer les molécules d'eau selon la théorie de la cohésion-tension. La colonne d'eau se rétracte alors, ce qui augmente la tension et la pression au sein des vaisseaux et entraîne la diminution de T1b et T2b.

Sous stress hydrique, il est observé de plus fortes oscillations nycthémérales de T2b. Ceci peut venir du fait que les concentrations en solutés varient d'autant plus en cas de restriction hydrique du fait d'une augmentation des variations journalières du diamètre de la tige relative aux pertes en eau (Perämäki *et al.*, 2001; Sevanto *et al.*, 2005a). Le stress entraîne également une chute des valeurs de T2b qui peut s'expliquer par le fait qu'en cas de restriction hydrique, la plante réalise un ajustement osmotique reposant sur l'accumulation d'osmorégulateurs favorisant ainsi l'entrée d'eau dans les cellules (Hsiao *et al.*, 1976). Bien que la turgescence augmente, la teneur en eau chute chaque jour et l'eau est ainsi plus riche en solutés, et les T2b se raccourcissent.

Concernant l'évolution de T2a, qui à travers les travaux d'imagerie semble corrélé en partie aux tissus phloémiens, le stress hydrique tend à diminuer ses valeurs. En réponse au stress, la plante ferme ses stomates (Romero-Aranda *et al.*, 2001), ce qui tend à réduire l'activité photosynthétique au niveau des feuilles (Romero-Aranda et Syvertsen, 1996). Ainsi, alors qu'avant stress le chargement des assimilats au niveau des tubes criblés entraînait une diminution de son potentiel osmotique et un influx d'eau xylémien en sa direction (Turgeon et Medville, 1998), cet échange xylème-phloème est ici nettement réduit. De ce fait, la viscosité phloémienne augmente (Sevanto, 2014) et induit une diminution des valeurs de T2a. Toutefois, cette chute est lente à se mettre en place et peu visuelle. Cela peut venir du fait d'un comportement anisohydrique de la plante qui met du temps à fermer ses stomates, mais il se peut également que le T2a ne soit pas représentatif d'une eau phloémienne mais d'une eau beaucoup plus liée, présente par exemple au niveau des parois cellulaires. Ainsi il se peut que les protons de la sève phloémienne ne soient pas discernables des protons de la sève xylémienne au travers d'un fit à deux composantes.

Ainsi au travers des valeurs de T2b seraient suivies à la fois les évolutions de l'eau xylémienne et phloémienne. Il se peut également que la surface tissulaire phloémienne est trop faible comparée aux autres tissus caractérisés par des valeurs de T2 courtes. Pour confirmer cette hypothèse, un girdling au niveau de la tige peut être effectué de sorte à visualiser si cette pratique culturale impacte les valeurs de T2a ou de T2b. Ainsi, la chute des valeurs de T2b sous stress, intégrerait de ce fait la hausse de la viscosité phloémienne due à la baisse des échanges xylème-phloème.

La reprise de l'irrigation n'étant visible qu'à travers le suivi de T2b, cela met en avant que c'est un biomarqueur plus à même de décrire le statut hydrocarboné de la plante. La hausse des valeurs de T2b est due à une réhydratation des tissus induisant une hausse de la teneur en eau, et donc une dilution des osmolytes entraînant une baisse de leur concentration au sein de la tige, mais également à une hausse des échanges xylème-phloème induisant une baisse de la viscosité de ce dernier.

2.2 Suivi du SNR

Le SNR, qui à travers la façon dont il a été représenté correspond à l'aimantation macroscopique M, est relatif à la population de spins au sein de la tige de tomate et donc à la teneur en eau de cette dernière. Du fait qu'il ait été décidé de fixer les composantes courtes et longues à un seuil précis et ce pour chaque temps de relaxation, il n'est pas possible d'identifier les variations de teneur en eau libre et liée mais seulement celles de la teneur en eau relative globale. Cette dernière est directement corrélée au potentiel hydrique (Mullan & Pietragalla, 2012), qui se trouve lui même être la somme des potentiels osmotique, de turgescence et matriciel (Hsiao, 1973). Ainsi, au travers des évolutions des teneurs en eau, peut être suivie l'évolution de ces différentes composantes.

Les valeurs de S(T1) et S(T2) diminuent le jour et augmentent la nuit et ces oscillations sont amplifiées en présence d'un stress hydrique, mais uniquement au regard de S(T2) montrant ainsi que ce dernier est plus à même de mettre en évidence la présence de ce type de stress sur un plant de tomate que S(T1). Ceci s'explique par le fait qu'en cours de journée, les stomates sont ouverts et l'évapotranspiration au niveau des feuilles est maximale (Tardieu et Simonneau, 1998). Ainsi, les pertes en eau sont ainsi maximales la journée et minimales la nuit et corrélées aux variations de diamètre de la tige (Gallardo *et al.*, 2006 ; Perämäki *et al.*, 2001). Le suivi des valeurs de S(T2) est ainsi à même de mettre en valeur ces observations.

La forte chute des valeurs de S(T1) et S(T2) en début de stress hydrique témoigne d'une diminution de la teneur en eau au sein de la tige de tomate mais semble être trop importante sur une période aussi réduite pour être uniquement d'ordre physiologique. En effet, une expérience complémentaire a montré qu'en de conditions similaires, une perte de poids du plant de 29 % était enregistrée, soit un taux plus faible que celui visualisé à travers les mesures RMN. Ce différentiel pourrait s'expliquer de par une perte de sensibilité de l'antenne. Ainsi, le phénomène de résonance se produit en intensité à la pulsation $\omega = 1/\sqrt{LC}$ (10). Le *tuning* de

l'antenne revient à modifier C, alors que L est relatif à l'échantillon. Le *tuning* est réalisé pour une teneur en eau et un état physiologique de la plante précis et la modification de cet état à travers le stress induit une variation de L, et donc de C et une perte de *tuning* de l'antenne. Par conséquent, une visualisation faussée de la baisse de la teneur en eau est observée.

Cette dernière, bien qu'amplifiée, témoigne d'un comportement anisohydrique de la plante, qui, en début de stress, garde ses stomates ouverts. L'évapotranspiration foliaire reste maximale et le potentiel hydrique de la tige tend vers des valeurs plus négatives (Tardieu et Dreyer, 1997 ; Turner, 1986). La hausse de la température induite au sein de l'enceinte a, de plus, probablement amplifié la chute de la teneur en eau au sein de la tige, puisqu'une hausse de la chaleur induit une diminution de la teneur en eau au niveau des feuilles (Yamasaki et Dillenburg, 1999). Les plus faibles diminutions de la teneur en eau au sein de la tige durant le reste de la période d'application du stress hydrique mettent en exergue une réponse de la plante à ce stress qui induit une fermeture de ses stomates limitant ainsi la transpiration et permettant le maintien de la teneur en eau globale (Najla, 2009) et le maintien du développement de la plante (Jones, 1997). A travers cette teneur en eau relative peuvent être visualisées des variations de potentiel hydrique. Ainsi, lorsque la teneur en eau chute fortement dans la plante, le potentiel hydrique tend vers des valeurs plus négatives de sorte à maintenir des flux hydriques en direction des parties aériennes (Turner, 1986) et, lorsque les stomates se ferment, la chute du potentiel hydrique est ralentie (Hsiao, 1973). De même peuvent être observées des variations de potentiel de turgescence au niveau du phloème. Ainsi, la limitation des influx xylémiens vers le phloème diminue de ce fait la pression de turgescence et le potentiel hydrique (Turgeon et Medville, 1998). La hausse de la concentration en assimilats au sein des tubes criblés participe également à la chute de ce dernier puisqu'elle entraîne une chute du potentiel osmotique.

Lors de la réhydratation du substrat, la hausse de la teneur en eau globale attendue au sein de la tige n'est visualisée qu'au travers de S(T2) qui ne retrouve toutefois pas sa valeur basale d'avant stress. Cela peut être dû au fait que l'expérience de par sa durée n'a pas permis aux tissus de la tige de se réhydrater de façon complète et de retrouver leur teneur en eau globale qui les caractérisaient avant stress.

3 Recherche de biomarqueurs RMN des flux hydrocarbonés après défoliation

3.1 Suivi du temps de relaxation T2

L'objectif à travers la défoliation partielle du plant de tomate était de visualiser si des biomarqueurs RMN des flux ou du statut hydrocarboné au sein de la tige pouvaient être mis en évidence. Au regard du suivi de l'évolution des valeurs de T2b, il peut être mis en exergue que des changements physiologiques ont lieu dans la tige et que l'état de l'eau en son sein est modifié après la coupe des feuilles. En effet, dès l'application de cet acte cultural, les oscillations de T2b sont amplifiées, et ces dernières tendent, à long terme, à augmenter. Une

explication à la hausse des valeurs de T2 peut venir du fait que la coupe des feuilles réduit la concentration en carbohydrates solubles au sein de la tige (Cruz-Castillo et al., 2010). En effet, les feuilles étant coupées, le transport phloémien vers les puits situés en deca de l'antenne est caractérisé par une eau moins riche en sucres solubles et donc moins visqueuse ce qui augmente les temps de corrélation et donc de relaxation. La coupe de la majorité des nœuds situés au dessus de la section de tige où a été placée l'antenne peut ainsi avoir avorté la capacité photosynthétique des feuilles présentes dans les parties aériennes. De ce fait, la concentration en assimilats à ce niveau a été fortement réduite, n'étant plus assurée que par les feuilles situées sur les nœuds non sectionnées. Ainsi, cette chute de la concentration en sucres solubles entraîne une diminution de la viscosité phloémienne (Sevanto, 2014) et donc une augmentation des valeurs de T2b.

Du fait de l'architecture de la plante, une autre hypothèse peut être formulée pour expliciter la hausse des valeurs de T2b. En effet, certains nœuds coupés étaient porteurs de fruits et de fleurs, et agissaient donc comme puits d'assimilats (Lemoine et al., 2013). Leur coupe réduit de ce fait la force de puits. Ainsi, selon un processus d'adaptation, l'activité source située au niveau des feuilles en deçà de l'antenne peut être diminuée de par un rétrocontrôle négatif sur l'activité photosynthétique (Myers, 1998). Le chargement phloémien au niveau des sources se réduit alors et la sève phloémienne présente une teneur en sucres solubles plus faible. De ce fait sa viscosité diminue et par conséquent les valeurs de T2b augmentent. La baisse de l'activité au niveau de la source peut ainsi être observée sous stress hydrique (Sevanto, 2014). La défoliation lorsqu'elle est appliquée, peut également entraîner une hausse de la conductance stomatique conduisant ainsi à une transpiration plus forte et à des pertes en eau accentuées (Gieger et Thomas, 2001). Ainsi, la concentration en osmolytes augmente au sein de la sève xylémienne et au niveau cellulaire. Toutefois, si ce phénomène se produisait ici, il aurait été observé une baisse des temps de corrélation et donc une baisse des temps de relaxation. Les variations de diamètre de tige suivies au cours de l'expérience ne semblent de plus ne pas être en adéquation avec ces observations puisqu'il n'est pas mis en avant de dynamique journalière. Les données relatives à cette variation physiologique sont donc difficilement exploitables.

3.2 Suivi du SNR

Au travers de l'expérience, il est visualisé que les valeurs de S(T2) diminuent le jour et chutent la nuit, soit une évolution contraire à la précédente expérimentation. Du fait que la teneur en eau de la tige diminue en cours de journée, lorsque l'évapotranspiration et la contraction de cette dernière sont maximales (Gallardo et al., 2006 ; Perämäki et al., 2001), il semble que l'évolution visualisée ne reflète pas le statut hydrique de la plante. Une perte de *tuning* de l'antenne en fin de première journée pourrait expliquer ces variations car en effet au cours de la première journée les valeurs de S(T2) sont décroissantes. Ainsi, la teneur en eau au sein de la plante et son état, à savoir liée ou libre, plus ou moins concentrée ou sous tension, impacte les valeurs d'inductance de l'antenne et modifient les valeurs de sa conductance et donc son

tuning. Au cours de la journée, les variations ont pu être trop fortes induisant une perte de *tuning* de l'antenne. Il aurait fallu à ce stade re-tuner l'antenne dans le but de continuer à observer une baisse des valeurs de S(T2) la journée.

La défoliation entraîne une baisse de la teneur en eau au niveau de la tige et cette observation visible à travers le suivi de S(T2) est en accord avec le fait que cet acte cultural entraîne une diminution du diamètre de la tige (Jetton et Robison, 2014 ; Pinkard *et al.*, 2007). Après la coupe des feuilles, il est également observé une plus faible amplitude des valeurs de S(T2) qui peuvent s'expliquer par une diminution de l'intensité transpiratoire et une baisse du potentiel hydrique. En effet, la coupe des feuilles entraîne une diminution des pertes totales en eau par transpiration le jour et de ce fait le différentiel jour-nuit en termes de teneur en eau globale de la plante est moins marqué et la croissance de la plante est réduite (Ho, 1996a). La coupe des feuilles entraîne également une baisse de la teneur en sucres solubles puisque la surface foliaire est affectée et donc une baisse de l'influx xylémien vers le phloème. La teneur en eau phloémienne diminue donc également, tout comme le potentiel hydrostatique vecteur du flux phloémien, et elle peut être visualisée à travers la baisse des valeurs de S(T2).

La hausse de la teneur en eau au sein de la tige trois jours après défoliation, visible à travers une hausse des valeurs de S(T2), peut être caractérisée comme une reprise de la croissance de la plante et le développement de jeunes pousses. Ainsi la force de puits à ce niveau augmente et les influx xylémiens et phloémiens aussi, ce qui entraîne une hausse de la teneur en eau, notamment du au fait d'une hausse du débit phloémien.

4 Caractérisation des flux hydrocarbonés

Au travers du suivi des valeurs de S(T2), il est ainsi observé l'évolution des statuts hydriques et carbonés au sein de la tige, sous différentes conditions abiotiques. Le suivi des biomarqueurs RMN ne permet donc pas une mise en évidence directe des flux hydrocarbonés circulant au niveau de la tige. Toutefois, une caractérisation indirecte de l'évolution de ces derniers peut être menée au travers du suivi de l'évolution des potentiels hydriques et osmotiques intégrés au sein des modèles de plante virtuelle (Baldazzi *et al.*, 2013) mais également selon la viscosité et la concentration en osmolytes de la sève au sein des tubes criblés et des vaisseaux lignifiés. Ainsi, lorsque la teneur en eau en eau globale est minimale en fin de journée, les potentiels hydriques sont minimaux tout comme le diamètre de la tige, et les volumes et vitesses de flux xylémiens sont quant à eux maximum (Sevanto *et al.*, 2008, De Schepper et Steppe, 2010). En revanche, d'après la littérature, les volumes et flux xylémiens au sein de la tige de tomate augmentent fortement en début de journée puis sont constant durant la période diurne et chutent en début de soirée. Les résultats obtenus à travers cette expérience ne permettent pas de visualiser le même type d'évolution des flux. Cela peut être du au fait qu'à travers les valeurs de signal sont représentés les flux de sève globaux, à savoir xylémiens et phloémiens. Toutefois ces derniers ne montrent pas de différences significatives en termes de variation de volume de flux entre le jour et la nuit (Windt *et al.*, 2009).

Lorsqu'un stress hydrique est appliqué, la plante induit la fermeture de ses stomates augmentant ainsi les valeurs de potentiel hydrique vers des valeurs moins négatives, ce qui a pour effet de diminuer la conductivité xylémienne et donc le flux xylémien (Brodribb et Hill, 2000). Cette diminution du flux peut ainsi être visualisée à travers le suivi de S(T2). Lors de la réhydratation du substrat, la plante ouvre ses stomates, les potentiels hydriques tendent vers des valeurs plus négatives et les flux xylémiens deviennent plus importants. Durant le stress hydrique, le potentiel hydrostatique phloémien chute du fait de sa moindre turgescence et de la limitation de l'activité photosynthétique et de ce fait, à travers le suivi des valeurs de S(T2), il peut être déduit une diminution des flux phloémiens (Baldazzi *et al.*, 2013).

Concernant la défoliation, les teneurs en eau chutent et les valeurs de potentiel hydriques tendent vers des valeurs moins négatives d'après le suivi de S(T2). Ainsi, les flux xylémiens sont également réduits lors de la coupe des feuilles. Cette baisse de S(T2) pouvant également être associée à une baisse du potentiel hydrostatique phloémien, il peut ainsi être déduit que les flux phloémiens sont réduits après la coupe des feuilles.

V Conclusions et perspectives

Le projet d'étude des flux hydrocarbonés par RMN et IRM qui débutait dans le cadre de ce stage a pour objectif une meilleure compréhension et quantification des flux d'eau et de carbone circulant au sein de la plante, dans le but de calibrer un modèle de prédiction de l'impact de stress abiotiques sur la physiologie de la plante et sur sa productivité. L'approche RMN de par son caractère non invasif et non destructif est dans ce cadre idéale pour y parvenir avec une bonne résolution temporelle. A travers cette présente étude, il a pu être mis en évidence que les biomarqueurs relatifs à la repousse transversale, à savoir T2 et S(T2) sont plus à même de mettre en évidence les changements physiologiques se déroulant au sein du plant de tomate, au cours du nyctémère et en présence d'un stress abiotique. Ces conclusions permettront ainsi, à l'avenir, de ne caractériser l'état hydrocarboné de la plante qu'au travers la repousse transversale et ainsi d'obtenir un gain de temps non négligeable dans le but d'améliorer la résolution temporelle du suivi de la physiologie de la plante. Au travers de l'évolution de ces biomarqueurs RMN, il est possible de déterminer si la plante est en état de stress ou non puisqu'en effet une chute du signal de S(T2) est observée à la fois en présence d'un stress hydrique et carboné. De plus, la variation d'amplitude des oscillations, par rapport à la période avant stress permet de savoir de quel type est ce dernier. De même, à travers le suivi des valeurs de T2, le stress carboné est discernable du stress hydrique puisque le premier induit une hausse des valeurs alors que le second les fait chuter.

De par le suivi de ces biomarqueurs il n'est pas permis le suivi direct des flux hydrocarbonés circulant au sein de la tige de tomate mais ces derniers peuvent être déduits de façon indirecte via l'intégration des variations de potentiel hydrique et osmotique ou hydrostatique, obtenues par le biais de la RMN, au sein des modèles de plante virtuelle. Ces derniers manquant de

données sur l'évolution des flux en présence de stress abiotiques, il a été mis en lumière que la technologie RMN à bas champ permettra à terme d'obtenir une meilleure caractérisation de ceux-ci. Toutefois, ces résultats demandent à être confirmés et des expériences similaires seront menées dans cet objectif. Pour obtenir un suivi direct des flux et déterminer des vitesses de conduction, une antenne RMN intégrant des gradients des B_0 pourra également être construite. Dans l'avenir, l'objectif est également de parvenir à décomposer le signal RMN selon un nombre de composantes plus élevé permettant ainsi de distinguer le xylème du phloème. Pour y parvenir, des expériences de girdling seront menées pour caractériser la composante du signal RMN relative au phloème au sein de la tige et ces travaux seront couplés à l'imagerie RMN mais également à de l'histologie pour mesurer des variations de surface de conduction, et ce sous différentes conditions abiotiques.

Le choix de travailler à basse fréquence permet ainsi d'optimiser le compromis entre distinction des temps de relaxation et maintien d'un SNR optimal et est de plus en accord avec l'une des thématiques de recherche de la plateforme qui travaille sur la création et le développement d'une RMN portable très bas champ (0,360 kHz). Cette dernière sera transportable directement au sein des cultures horticoles et permettra ainsi la caractérisation du statut hydrocarboné des plantes cultivées. Effectuer les travaux de recherche à une fréquence de 5 MHz permettrait ainsi de ne pas trop s'éloigner de la fréquence de résonance de cette RMN portable et de pouvoir extrapoler les résultats obtenus au cours de cette étude.

A bas champ, il a également pu être visualisé le signal de résonance d'un échantillon d'eau saline, ouvrant ainsi la voie à la caractérisation d'un stress salin dans l'environnement de la plante. Dans la même idée, travailler à la fréquence de résonance du carbone pourra permettre de visualiser l'évolution du statut carboné de la plante. De plus, de par le fait qu'il ait été visualisé que les variations de teneur en eau au sein de la tige entraînaient des modifications d'inductance de l'antenne, il peut être imaginé un suivi du statut hydrique de la plante uniquement grâce à l'aide d'un fil de cuivre enroulé autour de la tige.

Au cours du projet, il a également été développé un protocole permettant de déterminer des vitesses des flux xylémiens et phloémiens au sein d'une tige de tomate in vivo. Celui-ci nécessite encore quelques approfondissements mais les résultats obtenus sur l'écoulement d'un fluide au sein d'un tuyau prouvent que la méthode est fiable et qu'elle permettra à terme d'étudier les vitesses de flux sous différentes conditions abiotiques. Il a également été observé, au cours du projet, à travers des coupes histologiques, que la lignification de la zone d'abscission était non homogène avant et après cette zone. De plus des questions se posent dans la littérature sur l'influx d'eau vers le fruit et le développement d'une antenne adaptée à cette zone permettra d'éclaircir ces interrogations. A terme, la meilleure connaissance des flux au sein de la plante à travers la technologie RMN pourra permettre de concevoir de nouveaux idéotypes culturels, des variétés plus adaptées aux stress aussi bien biotiques qu'abiotiques et de valider et calibrer de façon plus pointue les modèles de plantes virtuelles existants.

Bibliographie

Baldazzi V., Pinet A., Vercambre G., Bénard C., Biais B. and Génard M. (2013) In-silico analysis of water and carbon relations under stress conditions. A multi-scale perspective centered on fruit. *Frontiers in plant science*. 4: 495

Braun P. and Schmidt J. (1999) Sap flow measurements in grapevines (*Vitis vinifera* L.) 2. Granier measurements. *Plant and Soil*. 215(1):47-55.

Brodribb T.J. and Hill R.S. (2000) Increases in Water Potential Gradient Reduce Xylem Conductivity in Whole Plants. Evidence from a Low-Pressure Conductivity Method. *Plant Physiology*. 123(3) : 1021-1028.

Brüggemann N., Gessler A., Kayler Z., Kell S.G., Badeck M., Barthel M., Boeckx P., Buchmann N., Brugnoli E., Esperschütz J., Gravichkova O., Ghashghaie J., Gomez-Casanovas N., Keitel C., Knohl A, Kuptz D., Palacio S., Salmon Y., Uchida Y. and Bahn M. (2011) Carbon allocation and carbon isotope fluxes in the plant-soil atmosphere continuum: a review. *Biogeosciences*. 8:3457-3489.

De Schepper V. and Steppe K. (2010) Development and verification of the water and sugar transport model using measured stem diameter variations. *Journal of Experimental Botany*. 61(8):2083-2099.

Deluche C. (2015) Endoréplication, division et expansion cellulaire : mécanismes acteurs de la croissance du fruit. Science de Vie et de la Santé, Université de Bordeaux, Bordeaux, 276p.

Dixon H.H and Joly J. (1894) On the Ascent of Sap. *Proceedings of the Royal Society of London*. 57:3-5.

Duval F.P., Cambert M. and Mariette F. (2004) NMR study of tomato pericarp tissue by spin-spin relaxation and water self-diffusion. *Applied Magnetic Resonance*. 28-29.

Gallardo M., Thompson R.B., Valdez L.C. and Fernandez M.D. (2006) Use of stem diameter variations to detect plant water stress in tomato. *Irrigation Science* 24(4):241-255

Génard M., Gibert C., Bruchou C. and Lescourbet F. (2009) An intelligent virtual fruit model focusing on quality attributes. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*. 157-163.

Granier A. (1985) Une nouvelle méthode pour la mesure du flux de sève brute dans le tronc des arbres. *Annals of Forest Science*. 42(2) :193-200.

Guichard S. and Barbero Marcel (1999) Flux hydriques, croissance et qualité du fruit de tomate (*Lycopersicon Esculentum* Miller) en conditions estivales sous serre. Science de Vie et de la Santé, Université d'Aix-Marseille 3, Aix-en-Provence, 118p.

Guichard S., Gary C., Leonardi C. and Bertin Nadia (2005) Analysis of growth and water relations of tomato fruits in relation to air vapor pressure deficit and plant fruit load. *Journal of Plant Growth Regulation*. 24:1-13.

Gould N., Thorpe M., Koroleva O. Minchin P.E. (2005) Phloem hydrostatic pressure relates to solute loading rate : a direct test of the Münch hypothesis. *Functional Plant Biology*. 32:1019-1026.

Gourieroux A. Holzappel B., Scollary G., McCully M., Canny M., Rogiers S. (2016) The amino acid distribution in rachis xylem sap and phloem exudates of *Vitis vinifera* 'Cabernet Sauvignon' bunches. *Plant Physiology and Biochemistry*.105:45-54.

- Ho L., Grange R. and Picken A. (1987) An analysis of the accumulation of water and dry matter in tomato fruit. *Plant, Cell & Environment*. 10(2):157-162.
- Hölttä T., Vesala T., Sevanto S., Perämäki M. and Nikinmaa E. (2006) Modeling xylem and phloem water flows in tree according to cohesion theory and Münch hypothesis. *Trees*. 20(1):67-78.
- Hossain M. and Nonami H. (2012) Effect of salt stress on physiological response of tomato fruit grown in hydroponic culture system. *Horticultural Science*. 39(1):26-32.
- Hsiao, T.C. (1973). Plant responses to water stress. *Annu. Rev. Plant Physiol*. 24: 519-570.
- Hsiao, T.C., E. Acevedo, E. Fereres, and D.W. Henderson. 1976. Stress metabolism: Water stress, growth and osmotic adjustment. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*. 273:479-500.
- Ito Y. and Nakano T. (2015) Development and regulation of pedicel abscission in tomato. *Frontiers in Plant Sciences*. 6:442-452.
- Jensen K., Lee J., Bohr T., Bruus H., Holbrook N. and Zwieniecki M. (2011) Optimality of the Münch mechanism for translocation of sugars in plants. *Journal of the Royal Society Interface*. 8:1155-1165.
- Johnson R., Dixon M. and Lee D. (1992) Water relations of the tomato during fruit growth. *Plant, Cell & Environment*. 15(8):947-953.
- Kehr J. and Buhtz A. (2007) Long distance transport and movement of RNA through the phloem. *Journal of Experimental Botany*. 59(1):85-92.
- Jetton R.M. and Robison D.J. (2014) Effects of artificial defoliation on growth and biomass accumulation in short-rotation sweetgum (*Liquidambar styraciflua*) in North Carolina. *Insect Sci*. 14 :107-121.
- Jones H.G. (1997) Stomatal control of photosynthesis and transpiration. *Journal of Experimental Botany*. Vol. 49, Special Issue, pp. 387–398.
- Jones M.M, Osmond C.B, and Turner N.c. (1980) Accumulation of solutes in leaves of Sorghum and Sunflower in response to water deficits. *Functional Plant Biology*. 7(2):193-205.
- Kitano M., Yokomakura F. and Eguchi H. (1996) Interactive dynamics of fruit and stem growth in tomato plants as affected by root water condition II. Relation with sucrose translocation. *Biotronics*. 25:77-84.
- Köckenberger W., Pope J.M., Xia Y., Jeffrey K.R., Komor E. and Callaghan P.T. (1997) A non-invasive measurement of phloem and xylem water flow in castor bean seedlings by nuclear magnetic resonance microimaging. *Planta*. 201(1):53-63.
- Lalonde S., Tegeder M., Throne-Holst M., Frommer W. and Patrick J. (2003) Phloem loading and unloading of sugars and amino acids. *Plant, Cell and Environment*. 26:37-56.
- Lang A. (1990) Xylem, Phloem and Transpiration Flows in Developing Apple Fruits. *Journal of Experimental Botany*. 41(6):645-651.
- Lacaze X., (2006). Développer des plantes résistantes à la sécheresse. Exemple des recherches sur les céréales menées à l'Institut de L'Évolution. Science et technique. 16p.

- Le Bec G. (2007) Détection et traitement de signaux RMN en champ inhomogène. Traitement du signal et de l'image. Université Joseph-Fourier, Grenoble I. 127 p.
- Lemoine R., La Camera S., Atanassova R., Dédaldéchamp F., Allario T., Pourtau N., Bonnemain J.L., Laloi M., Coutos-Thévenot P., Maurousset L., Faucher M., Girousse C.,
- Lemonnier J.P., and Durant. M (2013) Source-to-sink transport of sugar and regulation by environmental factors. *Front Plant Sci.* 4: 272.
- Lui H., Génard M., Guichard S. and Bertin N. (2007) Model-assisted analysis of tomato fruit growth in relation to carbon and water fluxes. *Journal of Experimental Botany.* 58(13):3567-3580.
- Lovisol C. and Schubert A. (1998) Effects of water stress on vessel size and xylem hydraulic conductivity in *Vitis vinifera* L. *Journal of Experimental Botany* 49, 693–700.
- Malone M. and Andrews J. (2001) The distribution of xylem hydraulic resistance in the fruiting truss of tomato. *Plant, Cell and Environment.* 24(5):565-570.
- Mamatha H., Srinivasa Rao N., Laxman R., Shivashankara K., Bhatt R. and Pavithra K. (2014) Impact of elevated CO₂ on growth, physiology, yield, and quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) cv. Arka Ashish. *Phytosynthtica.* 52(4):519-528.
- Musse M., Quellec S., Devaux M.F., Cambert M., Lahaye M. and Mariette F. (2009) An investigation of the structural aspects of the tomato fruit by means of quantitative nuclear magnetic resonance imaging. *Magnetic Resonance Imaging.* 27:709-719.
- Musse M., Quellec S., Devaux M.F., Cambert M., Lahaye M. and Mariette F. (2009) Monitoring the postharvest ripening of tomato fruit using quantitative MRI and NMR relaxometry. *Postharvest Biology and Technology.* 53:22-35.
- Myburg A. and Sederoff R. (2001) Xylem Structure and Function. *Encyclopedia of life sciences.* 1:1-9.
- Myers D.A., Thomas R.B. and Delucia E.H. (1998) Photosynthetic responses of loblolly pine (*Pinus taeda*) needles to experimental reduction in sink demand. *Tree Physiology,* 19 : 235-242.
- Nabors M. (2008). Biologie végétale. Structures, fonctionnement, écologie et biotechnologies. Pearson Education. Université du Mississippi, Oxford, 650 p.
- Nadler A. (2008) Substituting Stem's Water Content by Electrical Conductivity for Monitoring Water Status Changes.
- Najla S. (2009) Analyse et modélisation de la croissance de la plante et du fruit de tomate Application à des niveaux de salinité et de disponibilité hydrique variables. Thèse, Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse. 177 p.
- O'Neill S.D. (1983) Osmotic adjustment and the development of freezing resistance in *E. virginiana*. *Plant Physiology* 72, 938-944.
- Osakabe Y., Osakabe K., Shinozaki K. and Tran L. (2014) Response of plants to water stress. *Frontiers in Plant Science. Plant Physiology.* 5:1-8.
- Perämäki M., Nikinmaa E., Sevanto S., Ilvesniemi H., Siivola E., Hari P. and Vesala T. (2001) Tree stem diameter variations and transpiration in Scots pine : an analysis using a dynamic sap flow model. *Tree physiology.* 21(12):889-897.

- Peuke A., Rokitta M., Zimmermann U., Schreiber L. and Haase A. (2001) Simultaneous measurement of water flow velocity and solute transport in xylem and phloem of adults plants of *Ricinus communis* over a daily time course by nuclear magnetic resonance spectrometry. *Plant, Cell and Environment*. 24:491-503.
- Peuke A., Windt C. and Van As H. (2006) Effects of cold-girdling on flows in the transport phloem in *Ricinus communis*: is mass flow inhibited ?. *Plant, Cell and Environment*. 29:15-25.
- Pinkard E.A., Battaglia M. and Mohammed C.L. (2007) Defoliation and nitrogen effects on photosynthesis and growth of *Eucalyptus globulus*. *Tree Physiology*, 27 : 1053-1063.
- Plaut Z., Grava A., Yehezkel C. and Matan E. (2004) How do salinity and water stress affect transport of water, assimilates and ions to tomato fruits? *Physiologia Plantarum*. 122:429-442.
- Pfautsch S., Renard J., Tjoelker M. and Salih A. (2015) Phloem as Capacitor : Radial Transfer of Water into Xylem of Tree Stems Occurs via Symplastic Transport in Ray Parenchyma. *Plant Physiology*. 167:963-971.
- Ripoll J., Brunel B., L'Hôtel J.C., Garcia G., Bertin N. and Urban L. (2014) Impact of water deficit on tomato fruit growth and quality depending on the fruit developmental stage. In: International Horticultural Congress on Horticulture: Sustaining Lives, Livelihoods and Landscapes. Brisbane, Australia. pp. 355.
- Ripoll J., Urban L., Brunel B. and Bertin N. (2016) Water deficit effects on tomato quality depend on fruit developmental stage and genotype. *Journal of Plant Physiology*. 190:26-35.
- Romero-Aranda M.R., and Syvertsen J.P. (1996) The influence of foliar-applied urea nitrogen and saline solutions on net gas exchange of citrus leaves. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 121: 501–506.
- Romero-Aranda M.R., Soria T., Cuartero J. (2001) Tomato plant-water uptake and plantwater relationships under saline growth conditions. *Plant Science* 160: 265–272.
- Schepper V. and Steppe K. (2010) Development and verification of a water and sugar transport model using measured stem diameter variations. *Journal of Experimental Botany*. 61(8):2083-2099.
- Sevanto S., Hölttä T., Hirsikko A., Vesala T. & Nikinmaa E. (2005a) Determination of thermal expansion of green wood and the accuracy of tree stem diameter variation measurements. *Boreal Environment Research* 10, 437–445.
- Sevanto S. (2014) Phloem transport and drought. *Journal of Experimental Botany*. 65: 1751-1759.
- Tardieu F. and Simonneau T. (1998) Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand . modeling isohydric and anisohydric behaviours. *Journal of Experimental Botany*. 49:419-432.
- Tardieu F. and Dreyer, E. 1997, Régulation des échanges gazeux par les plantes soumises à la sécheresse. L'eau dans l'espace rural. Production végétale et qualité de l'eau. *INRA-Éditions*. Institut National de Recherche Agronomique. pp. 41-59.
- Tixier A. (2013) Physique et biologie moléculaire de la vulnérabilité du xylème à la cavitation. Thèse Sciences agricole. Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand. 312 p.

Turgeon R. and Medville R. (1998) The absence of phloem loading in willow leaves. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95 (20): 12055–12060.

Turner N.C., 1986. Adaptation to water deficits: A changing perspective. *Australian Journal of Plant Physiology* 13, 175-190.

Van As (2007) Intact plant MRI for the study of cell water relations, membrane permeability, cell-to-cell and long-distance water transport. *Journal of Experimental Botany*. 58(4):743-756

Van As H., Scheenen T. and Vergeldt F. (2009) MRI of intact plants. *Photosynthesis Research*. 102:213-222.

Van Bel (2003) The phloem, a miracle of ingenuity. *Plant, Cell and Environment*. 26:125-149.

Windt C. (2009) Nuclear Magnetic Resonance imaging of sap flow in plants. Thèse, Wageningen University. Wageningen, 180 p.

Windt C., Vergeldt F., De Jager P. and Van As H. (2006) MRI of long-distance water transport : a comparison of the phloem and xylem flow characteristics and dynamics in poplar, castor bean, tomato and tobacco. *Plant, Cell and Environment*. 29:1715-1729.

Windt C. and Blümler P. (2015) A portable NMR sensor to measure dynamic changes in the amount of water in living stems or fruit and its potential to measure sap flow. *Tree Physiology*. 1-10.

Winisdorffer G. (2014) Caractérisation de la microstructure spatiale de la pomme en lien avec ses propriétés mécaniques par des méthodes quantitatives d'IRM. Thèse, Université de Nantes, faculté des Sciences et des Techniques. 190 p.

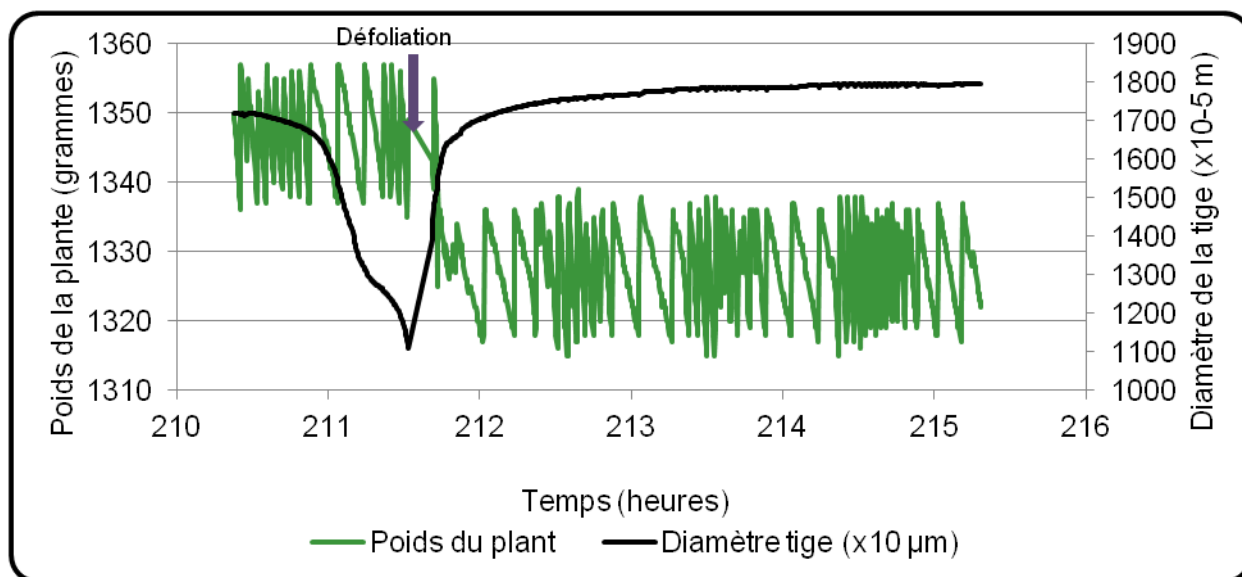
Yamasaki S. and Dillenburg L.R. (1999) Measurements of leaf relative water content in *Araucaria angustifolia*. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 11(2):69-75, 1999.

Annexes

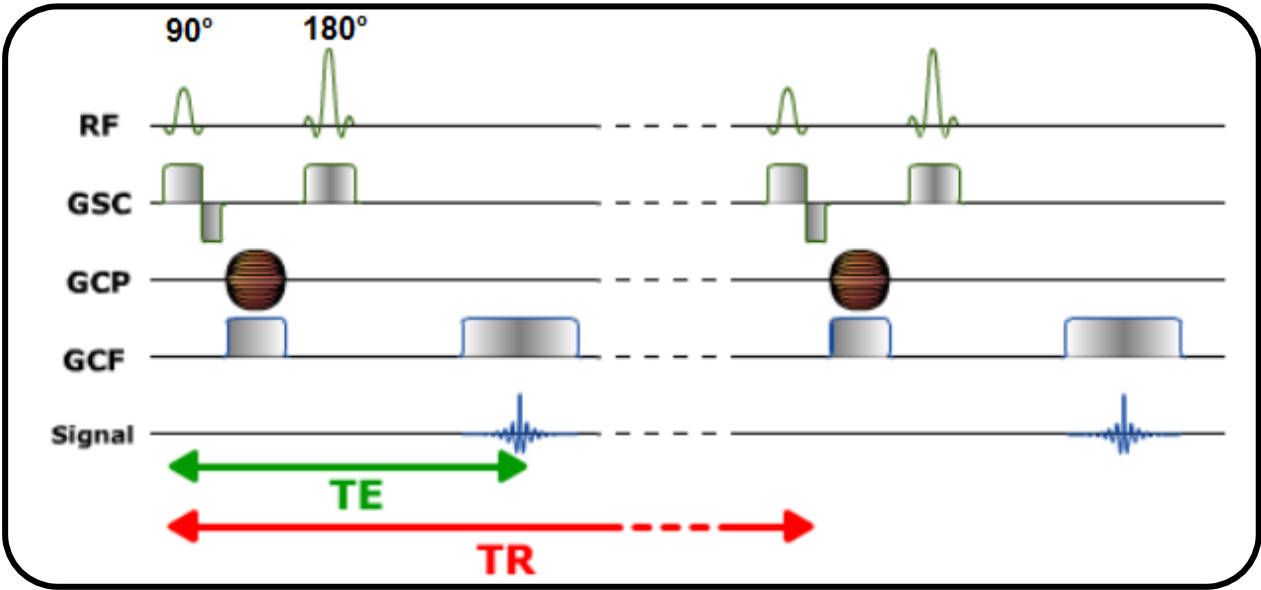
ANNEXE I Composition de la solution nutritive utilisée pour irriguer les plants de tomate.

Éléments majeurs	Azote (N)	Anhydride Phosphorique (P₂O₅)	Oxyde de Potassium (K₂O)	Oxyde de Magnésium (MgO)		
Teneur (P/V)	4 %	2,1 %	6,5 %	1,1 %		
Oligo-éléments	Bore (B)	Cuivre (Cu)	Fer (Fe)	Manganèse (Mn)	Molybdène (Mo)	Zinc (Zn)
Teneur (P/V)	0,005 %	0,0013 %	0,025 %	0,027 %	0,0005 %	0,0070 %

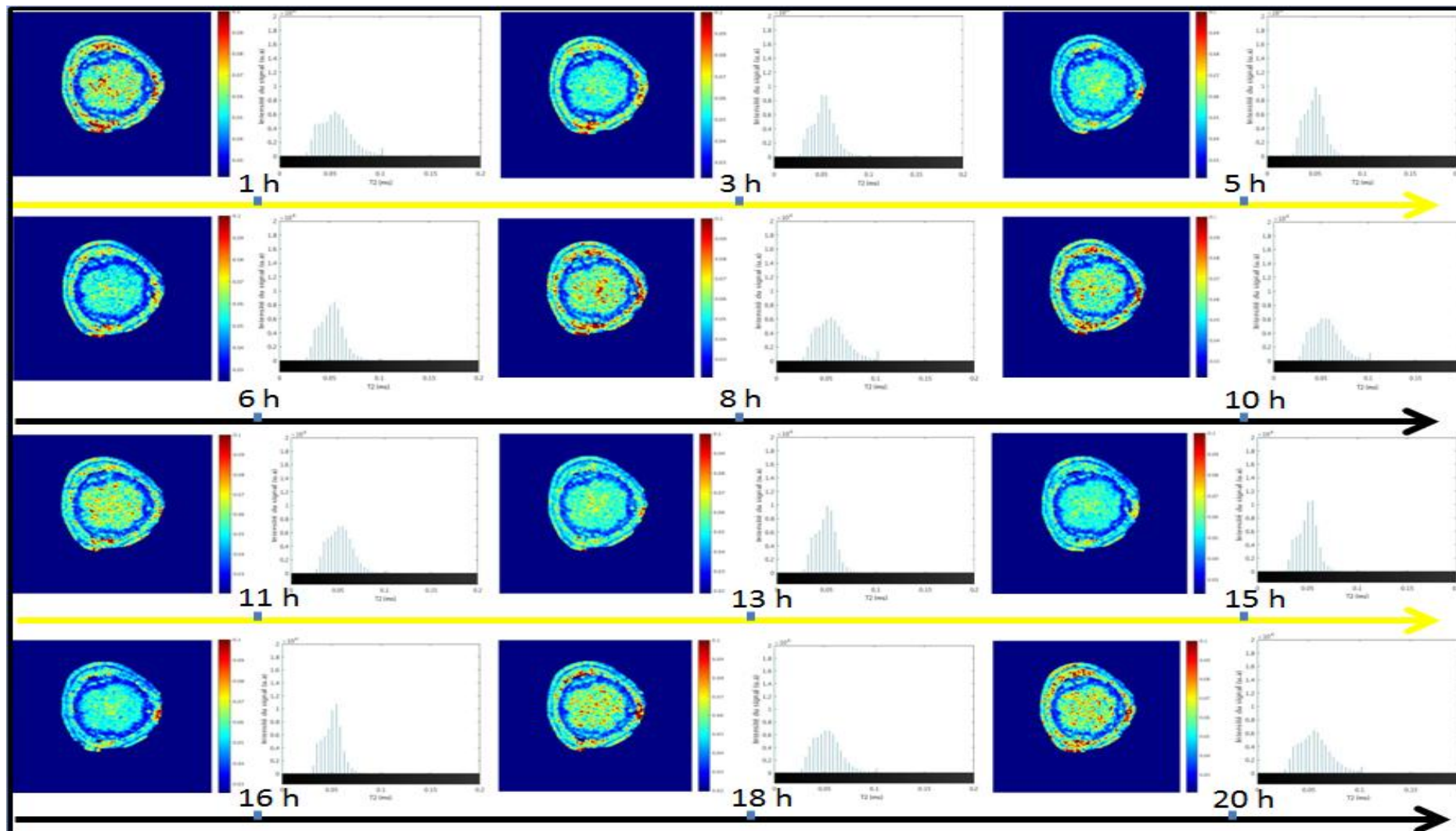
ANNEXE II : Evolution du poids et du diamètre de la tige du plant de tomate avant et après défoliation.



ANNEXE III : Chronogramme de la séquence *écho de spin*. La séquence est constituée d'un enchainement : impulsion de 90°-impulsion de 180°. La lecture du signal est réalisé à TE. Le Gradient de Sélection de Coupe (GSC), le Gradient de Sélection de Phase (GSP) et le Gradient de Sélection de Fréquence (GSF) sont appliqués simultanément (source : IMAIOS 2016).



ANNEXE IV : Evolution de la distribution des T2 au sein des différents tissus de la tige de tomate au cours de cycles jours – nuits. La flèche noire représente la période nocturne et la flèche jaune la période diurne.



	Diplôme / Mention : Master 2 Sciences Technologie Santé/ Mention Biologie et Technologie du Végétal Spécialité : Production et Technologie du Végétal (ProTeV) Parcours : I Productions Végétales Spécialisées Option : Filières de l'Horticulture et Végétal Urbain
Auteur(s) : YZEBE Olivier Date de naissance : 02/06/1992	Organismes d'accueil : •INRA UR Plantes et Systèmes de Cultures Horticoles Site Agroparc 84914 Avignon
Nb pages : 39 Annexe(s) : 4	
Année de soutenance : 2016	•Plateforme BioNanoNMRI Bâtiment 50 – Campus Triolet 34095 Montpellier
Titre : Etude des Flux Hydrocarbonés chez la Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>) par Résonance Magnétique Nucléaire et Imagerie par Résonance Magnétique.	
Title : Study of water and carbon fluxes in tomato plant (<i>Solanum lycopersicum</i>) through Nuclear Magnetic Resonance and Magnetic Resonance Imaging methods.	
Résumé: Le transport de l'eau et du carbone sont des composantes clés de la réponse des plantes aux stress environnementaux. Afin de mieux comprendre et quantifier ces flux au sein de la plante de tomate, des modèles de plante virtuelle ont été développés mais l'acquisition des données les gouvernant se fait majoritairement au travers de techniques destructives ou invasives. A travers une approche basée sur les technologies RMN et IRM, non invasives et non destructives, des biomarqueurs RMN des données gouvernant les modèles, tels que les potentiels hydriques et osmotiques ou les teneurs en eau, peuvent être mis en évidence sous différentes conditions abiotiques. Les expériences menées sur plant de tomate, au sein d'une enceinte climatique, ont mis en évidence que les composantes liées à la repousse transversale étaient plus à même de caractériser la présence d'un stress abiotique dans l'environnement de la plante. A travers le suivi du temps de relaxation transversale et du signal de repousse transversale, des changements physiologiques au sein de la plante peuvent être caractérisés. Ainsi le stress hydrique et la défoliation induisent tous deux une chute du signal RMN. Le stress hydrique fait chuter les valeurs de temps de relaxation transversale alors que la défoliation les augmente. Les flux hydrocarbonés peuvent être déduits à travers l'intégration de l'évolution des biomarqueurs au sein des modèles de plante virtuelle.	
Abstract: Water and carbon transports are key components of environmental stresses plant responses. In order to have a better understanding and quantify those fluxes within the tomato plant, virtual plant models have been developed but the governing data acquisition is mainly done through invasive and destructive methods. Thanks to an NMR and MRI methods, which are non invasive and non destructive, NMR biomarkers of governing data, such as water and osmotic potentials and relative water content, can be highlighted under different abiotic conditions. The trials carried out on tomato plant have shown that the components related to the transversal relaxation were most likely to characterize an abiotic stress in the plant environment. Through the tracking of the transversal relaxation time and the signal of this transversal relaxation, physiological changes within the plant are characterized. Thus, water stress and defoliation both lead to a decrease of transversal relaxation signal. Water stress also decreases the relaxation time values whereas defoliation increases them. Water and carbon fluxes can be derived from the biomarker evolution integration within virtual plant models.	
Mots-clés : IRM, Plante virtuelle, RMN, Flux hydrocarbonés. Key Words: MRI, Virtual plant, NMR, Water and carbon fluxes.	