
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

2.1. Pourquoi considérer le fonctionnement hydraulique de l'arbre dans l'étude des mécanismes physiologiques internes face à une contrainte ?

L'arbre puise l'eau dans le sol et la transporte vers les feuilles dans les tissus transporteurs que forme le xylème. L'arbre peut alors transporter cette eau à plus de 100 m de hauteur, ce qui constitue une performance incroyable. La circulation de l'eau dans l'arbre est permise au moyen d'un différentiel de pression entre le système racinaire et les feuilles. L'eau circule dans le xylème sous tension et s'explique par une continuité hydraulique sur toute la plante, des racines jusqu'aux stomates maintenue par des forces de capillarité. Ce gradient de tension entre le compartiment racinaire et les feuilles permet de transporter des quantités d'eau importantes mais cet équilibre est instable car cette tension est inférieure à la pression de vapeur de l'eau (Cruiziat *et al.*, 2002). Lors d'une sécheresse, la tension dans la colonne d'eau augmente. Si la tension dans la colonne d'eau du xylème devient trop importante, il peut s'en résulter une ébullition locale de liquide en raison d'une baisse de pression statique, ce phénomène est appelé « cavitation » (Cruiziat *et al.*, 2002, **Figure II.1**).

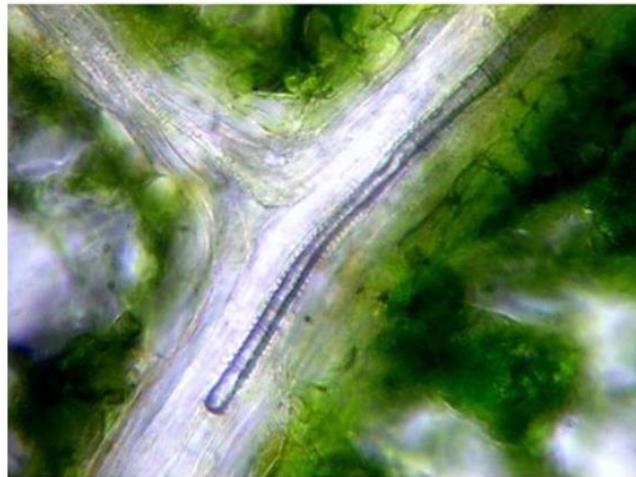


Figure II.1. Photographie d'un phénomène de cavitation dans un vaisseau conducteur.
Source : Cochard and Delzon, 2013.

Lors du phénomène de cavitation, une embolie peut se former, qui coupe partiellement la circulation de liquide des racines vers les feuilles. Aussi, si la proportion d'embolies dans les vaisseaux conducteurs de l'arbre est trop grande, l'arbre se retrouve dans l'impossibilité

d'assurer la transpiration du houppier et par conséquent son hydratation (**Figure II.2**) ; les feuilles risquent alors de se dessécher (Bréda *et al.*, 2006 ; McDowell *et al.*, 2008).

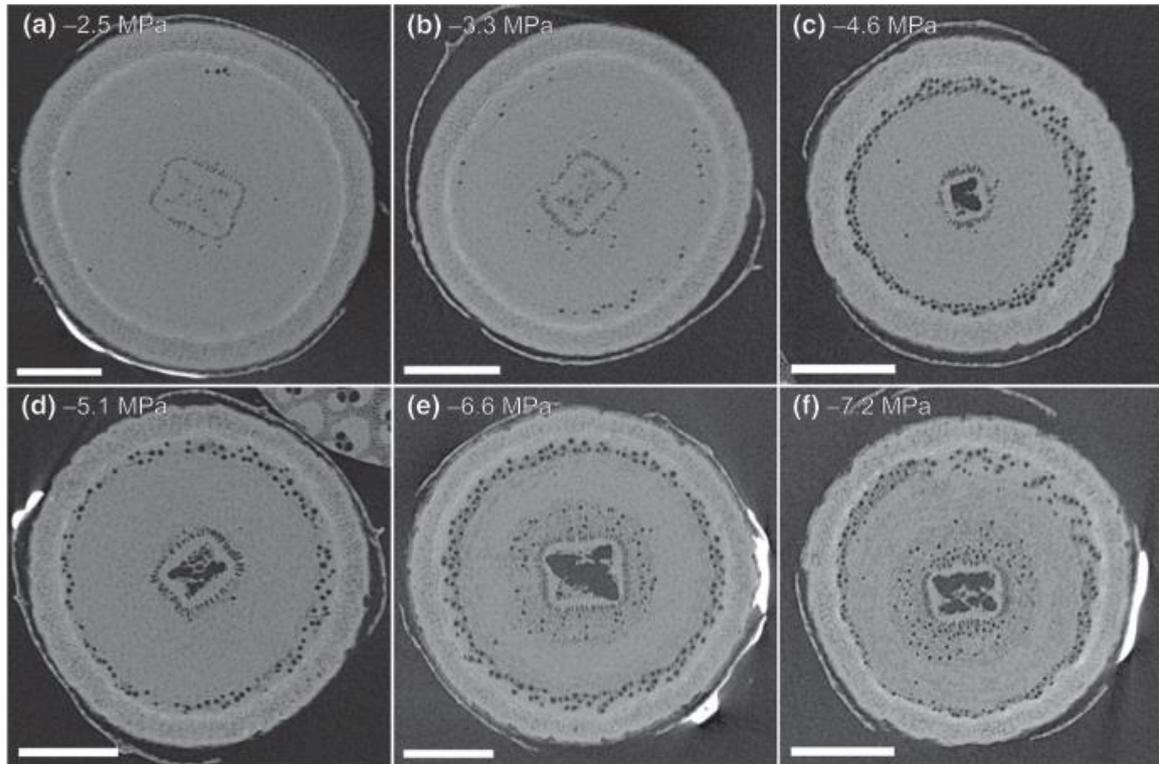


Figure II.2. Scans issus de microtomographie à rayons X de coupes transversales de tronc d'*Eucalyptus camaldulensis* sous différents potentiels hydriques négatifs illustrant la propagation des embolies (cercles noirs) lors d'une sécheresse. Source : Nolf *et al.* (2017).

En modulant l'ouverture stomatique, l'arbre peut mettre en place des stratégies d'évitement de la formation des embolies en diminuant la force de tension dans les conduits. Ceci peut être également obtenu en réduisant sa surface foliaire transpirante (Bréda *et al.*, 2006 ; Galvez *et al.*, 2011 ; Ryan, 2011 ; Sade *et al.*, 2017). Mais lorsque les niveaux de sécheresse dépassent les capacités d'évitement de l'arbre, des dysfonctionnements généralisés du système hydraulique peuvent intervenir et aboutir à la mort. En effet, des études ont montré qu'une relation existe entre le taux de survie aux sécheresses et la résistance du xylème à la cavitation aussi bien sur de jeunes plants (Pratt *et al.*, 2008 ; Brodrigg *et al.*, 2010 ; Barigah *et al.*, 2013, Venturas *et al.*, 2017) que sur des arbres matures (Cochard *et al.*, 2008 ; Urli *et al.*, 2013 ; Nardini *et al.*, 2013). Néanmoins, la réponse hydraulique peut être différente selon les espèces.

En effet, les espèces dites anisohydriques ajustent peu leur conductance stomatique lors d'un événement de sécheresse. Par conséquent, celles-ci présentent des sensibilités plus grandes à la cavitation, le métabolisme carboné étant peu affecté (McDowell *et al.*, 2008). A l'opposé, des espèces dites isohydriques ajustent rapidement leur conductance stomatique lorsqu'elles sont confrontées à un stress hydrique leur conférant une forte résistance à la cavitation mais en contre-partie la production de nouveaux assimilats carbonés est limitée. Le bénéfice d'une stratégie anisohydrique est une assimilation carbonée non interrompue lors d'un épisode de sécheresse modérée alors que les espèces isohydriques auront tendance à être plus rapidement dépendantes des composés carbonés mis en réserve (Mitchell *et al.*, 2013 ; Sevanto and Xu, 2016). Néanmoins, la distinction entre les espèces isohydriques et anisohydriques est sujet à débat aujourd'hui (Garcia-Forner *et al.*, 2015). En effet, la distinction entre les deux stratégies se base sur une observation de la réponse stomatique ou de la dynamique de potentiels hydriques sans tenir compte d'autres facteurs importants que peuvent être la résistance aux embolies (Linton *et al.*, 1998 ; Wilson *et al.*, 2008) ; le maintien de la turgescence des feuilles (Meinzer, 2016) ou encore le maintien du transport phloémien (Nikinmaa *et al.*, 2013 ; Sevanto *et al.*, 2014 ; Dannoura *et al.*, 2018). La théorie hydraulique ne peut donc pas, à elle seule, répondre à cette grande question de savoir comment un arbre meurt. Aussi, il est nécessaire d'avoir une approche plus intégrative pour aborder la réponse des arbres à une sécheresse et dans la prédiction des mécanismes de mortalité. La théorie hydraulique de mort des arbres n'est probablement pas exclusive et d'autres hypothèses ont été avancées.

2.2. Pourquoi considérer le métabolisme carboné de l'arbre dans l'étude des mécanismes physiologiques internes face à une contrainte ?

2.2.1. La photosynthèse, lieu de production des hydrates de carbone et leur transport

L'arbre fixe le CO₂ atmosphérique via la photosynthèse, un processus qui transforme l'énergie de la lumière solaire en énergie chimique pour produire des hydrates de carbone et autres métabolites organiques. Les hydrates de carbone issus de la photosynthèse peuvent être utilisés :

- i) Soit pour l'élaboration des structures notamment lors de périodes de croissance, on les appelle alors les hydrates de carbone structuraux qui formeront la lignine, la cellulose et les hémicelluloses (constituants des parois primaires et secondaires). Ce carbone fixé ne sera pas remobilisable pour une utilisation ultérieure car les arbres manquent d'enzymes spécialistes pour dégrader ces macromolécules (Hartmann *et al.*, 2016) [*nb: la possibilité de remobiliser l'hémicellulose lors d'épisodes de stress importants est sujet à débat aujourd'hui dans la communauté scientifique (Hoch et al., 2007)*];
- ii) Soit pour alimenter les besoins métaboliques de l'arbre: on les appelle les hydrates de carbone non structuraux (Non-Structural Carbohydrates ou NSC en anglais). Ils sont constitués de sucres simples ou monosaccharides (glucose, fructose, arabinose, xylose, ribose, galactose pour les plus importants), de disaccharides comme le saccharose, et d'amidon (polymère de glucose). Le saccharose représente généralement près de 75% de la fraction des sucres solubles, le glucose et le fructose environ 20% (Kramer et Kozlowski, 1979). Les sucres solubles sont impliqués dans de nombreuses fonctions métaboliques comme composés osmotiques jouant un rôle de protection contre la dessiccation cellulaire en cas de sécheresse par exemple mais aussi comme substrats pour la respiration ou la synthèse de nouvelles molécules. Ils peuvent jouer également un rôle comme composés de défense ou dans le transport des nutriments, de l'eau et du carbone ainsi que dans l'export et les échanges symbiotiques (Delaporte, 2015; Hartmann *et al.*, 2016 ; Preece *et al.*, 2018). De longues chaînes de

monosaccharide peuvent également former de l'amylopectine ou de l'amylose. Ces dernières sont les deux constituants de l'amidon. Contrairement aux sucres simples, l'amidon n'est pas soluble dans l'eau et est osmotiquement inactif permettant son stockage en grande quantité. L'amidon est le principal composé de réserve chez une grande partie des essences forestières notamment *Quercus Petraea* et *Fagus Sylvatica* L. (Sinnott, 1918). Cependant, chez certaines espèces ce sont des formes solubles qui sont majoritaires comme le saccharose chez *Pinus Strobus* L. (Jourdan, 1980), ou le stachyose chez *Fraxinus* (Webb et Burley, 1964).

La journée, l'amidon va être stocké dans les feuilles et sa remobilisation, puis son exportation sous forme de saccharose, va permettre d'apporter les substrats carbonés nécessaires à la croissance et la respiration de nuit (Smith et Stitt, 2007). Les nouveaux produits issus de la photosynthèse (glucose, fructose, saccharose) peuvent être incorporés aux tissus foliaires en quelques minutes mais peuvent aussi pour la plupart être exportés hors des feuilles (sous forme de saccharose) et être utilisés pour différentes fonctions dans l'arbre moins d'un jour après leur assimilation (McLaughlin *et al.*, 1980).

La distance entre la source de production des hydrates de carbone (la feuille) et son puits (zone d'utilisation) peut être très importante dans un arbre adulte. En effet, une partie des sucres produits par la photosynthèse peut être transportée jusqu'aux racines et relâchée dans la rhizosphère dans un processus appelé rhizodéposition (Lynch et Whipps, 1990 ; Delaporte, 2015).

La dynamique du cycle carboné de la feuille (source et exportatrice de carbone) vers les compartiments importateurs (utilisateurs ou puits de carbone) peut varier en fonction de la phénologie (Hoch *et al.*, 2003 ; Epron *et al.*, 2012 ; Mei *et al.*, 2015). Ainsi, les temps de résidence des hydrates de carbone peuvent varier de l'heure ou la journée dans les feuilles et les branches les plus jeunes jusqu'à plusieurs semaines voire années dans le tronc et les racines (Carbone *et al.*, 2007 ; Högberg *et al.*, 2008 ; Warren *et al.*, 2012 ; Desalme *et al.*, 2016). Néanmoins, des facteurs comme la taille de l'arbre, le diamètre de tronc, la viscosité du phloème, la pression de turgescence ainsi que la température peuvent faire varier ces durées (Ruehr *et al.*, 2009 ; Dannoura *et al.*, 2011).

2.2.2. La gestion de ces hydrates de carbone selon un rythme saisonnier

Chez les espèces à feuilles caduques en climat tempéré, les feuilles rentrent en sénescence à l'automne et finissent par tomber laissant l'arbre sans source de carbone d'origine photosynthétique ; l'arbre entre alors en repos hivernal ou dormance. La dormance est un processus du cycle végétatif de l'arbre qui lui permet d'éviter des conditions environnementales défavorables, en l'occurrence l'évitement des températures froides de l'hiver, la baisse de la quantité de lumière disponible par jour et la diminution de la disponibilité en nutriments (Chapin *et al.*, 1990).

Néanmoins, diverses fonctions métaboliques sont encore actives durant cette période, comme la respiration de maintenance. L'arbre devra alors mobiliser et gérer ses ressources internes en carbone afin d'alimenter ses puits de carbone et survivre pendant la période hivernale, mais également pour pouvoir sortir de sa dormance et former un nouveau compartiment foliaire au printemps. Ces feuilles nouvellement formées deviendront alors la principale source de carbone à la saison de végétation suivante. Ce système de gestion des ressources qui permet à l'arbre de survivre durant plusieurs décennies, dont près de la moitié sans feuille, est appelée la fonction de mise en réserve.

Plusieurs définitions de la mise en réserve existent chez les espèces forestières dans la littérature. Ainsi, trois types sont différenciés (Chapin *et al.*, 1990) :

- (1) une accumulation, un excès d'apport par rapport aux besoins de l'arbre pour sa croissance, son entretien et sa reproduction,
- (2) une mise en réserve, qui est régulée et entre en compétition avec d'autres puits de carbone comme la croissance ou la défense
- (3) le recyclage qui correspond à la réutilisation de composés ayant déjà servis et pouvant être utilisés ultérieurement.

Ces trois types de stockage confrontent donc 2 visions antagonistes des processus de stockage avec i) une vision simple de stockage d'un surplus de carbone et donc agissant de manière passive (accumulation) et ii) une vision d'un processus plus complexe, régulé et entrant en compétition avec d'autres puits de carbone (mise en réserve). En effet, Dietze *et al.* (2014) ont défini le caractère actif de la mise en réserve par la sur-régulation de celle-ci aux dépens de la

croissance même sous conditions non contraignantes. La classification de stockage du carbone comme un phénomène actif et/ou passif est sujet à de nombreux débats dans la littérature scientifique (Sala *et al.*, 2012 ; Wiley et Helliker, 2012).

Ainsi, la quantité de NSC présente dans l'arbre fluctue au cours de la saison de végétation. Chez le hêtre, le débourrement et l'expansion foliaire sont connus pour être les puits de carbone les plus forts en début de saison de végétation (Barbaroux et Bréda, 2002) menant à une diminution des quantités de NSC disponibles. Par la suite, la dépendance des feuilles jeunes vis-à-vis du stock de carbone remobilisé diminue avec la mise en place d'un appareil photosynthétique efficient, puis les feuilles matures deviennent autotrophes et source de carbone pour les compartiments puits de l'arbre (Hoch *et al.*, 2003 ; Keel et Schadel, 2010). Pour être transporté des organes sources vers les organes puits, le saccharose est transporté principalement par les tissus conducteurs du phloème (Hollta *et al.*, 2009). Mais d'autres puits de carbone coexistent dans l'arbre. Si les puits de carbone sont forts au début de la saison de végétation (croissance primaire, déploiement des feuilles, croissance secondaire ...), ceux-ci diminuent par la suite (arrêt de croissance secondaire durant l'été). Par conséquent, après avoir atteint un minimum après le débourrement, la quantité de composés de réserve augmente progressivement dans l'arbre pour atteindre un maximum durant l'automne à la fin de la période de sénescence (Nelson et Dickson, 1981 ; Dickson, 1989 ; Barbaroux et Bréda, 2002 ; El Zein, 2011 ; Bazot *et al.*, 2013).

Lors de la sénescence et bien qu'une feuille de hêtre soit composée majoritairement de carbone (environ 45%), celui-ci est immobilisé dans les structures et reste donc dans la feuille (Sade *et al.*, 2017). A la fin du processus de sénescence foliaire en automne les feuilles mortes iront former la litière de l'année qui sera alors décomposée par la biomasse microbienne du sol et enrichira à terme le sol en carbone. Chez les ligneux décidus, le stockage des composés de réserve se fait dans les organes pérennes que sont les branches, le tronc et les racines (Barbaroux *et al.*, 2003 ; Bazot *et al.*, 2016) principalement sous forme d'amidon. Néanmoins, lors des températures basses de l'hiver, en plus de leur fonction comme seule source de substrats carbonés disponibles pour assurer l'entretien des tissus (Chapin *et al.*, 1990), la tolérance au froid des cellules dans les parois nécessite des sucres solubles (Ögren, 2000) qui auront comme conséquence l'abaissement du point de congélation des tissus (Penning de Vries, 1975 ; Sakai et Larcher, 1987 ; Wanner et Junttila, 1999 ; Uemura *et al.*, 2003). Les sucres solubles sont aussi impliqués dans la résorption des embolies hivernales. En effet, par l'hydrolyse de l'amidon contenu dans les parenchymes en sucres solubles, ceux-ci permettent de générer une

pression dans les conduits du xylème qui remplit d'eau les vaisseaux embolisés (Ewers *et al.*, 2001). Les sucres solubles sont donc très importants dans le maintien d'un taux de vaisseaux fonctionnels durant la période hivernale (Améglio et Cruziat, 1992 ; Améglio *et al.*, 2001, 2002, 2004).

Aussi, la quantité de NSC présent dans l'arbre fluctue au cours des saisons, notamment chez les arbres à feuilles caduques en fonction de l'évolution des relations source-puits entre compartiments de l'arbre (**Figure II.3** ; Barbaroux *et al.*, 2003 ; Hoch *et al.*, 2003 ; Spann *et al.*, 2008 ; Schadel *et al.*, 2009 ; Millard et Grelet, 2010 ; El Zein *et al.*, 2011a ; Bazot *et al.*, 2013).

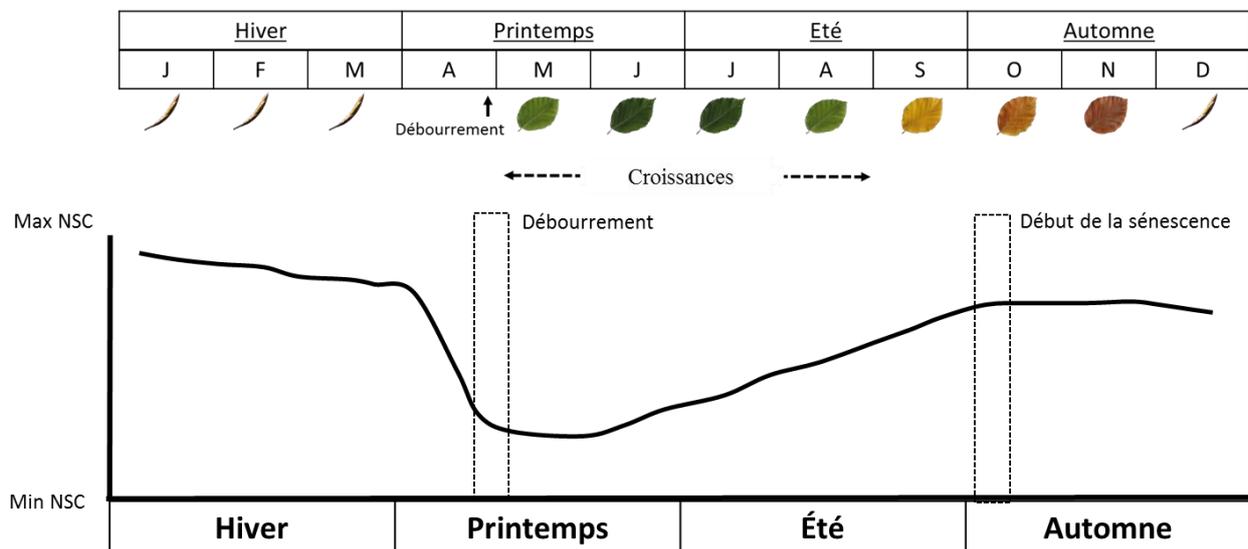


Figure II.3. Schéma représentant l'évolution saisonnière de la mise en réserve carbonée (NSC ; composés carbonés non structuraux). La 1^{ère} phase correspond à la chute de la quantité de NSC mise en réserve lors du débourrement pour répondre à la demande de substrat C au printemps pour la croissance des branches et du compartiment foliaire (Barbaroux *et al.*, 2003 ; Hoch *et al.*, 2003 ; El Zein *et al.*, 2011a ; Bazot *et al.*, 2013 ; Gilson *et al.*, 2014). La seconde phase correspond à l'accumulation de la quantité de NSC dans l'arbre durant la saison de végétation : processus de mise en réserve (Barbaroux *et al.*, 2003 ; Hoch *et al.*, 2003 ; Bazot *et al.*, 2013). A la fin de la troisième phase, la quantité de réserves carbonées dans l'arbre augmente lors de la fin de saison de végétation pour atteindre un maximum en octobre (Barbaroux et Bréda, 2002). La dernière phase se trouve durant la période hivernale où la quantité de réserves carbonées décroît légèrement afin d'alimenter

la maintenance hivernale (Barbaroux *et al.*, 2003; Hoch *et al.*, 2003; El Zein *et al.*, 2011b; Bazot *et al.*, 2013).

2.2.3. Une gestion primordiale lors d'une situation de limitation de production de nouveaux composés carbonés

Malgré ces fluctuations saisonnières, les arbres ne souffrent pas d'un manque de NSC durant la saison de végétation sous des conditions non contraignantes (Barbaroux et Bréda, 2002 ; Hoch *et al.*, 2003 ; Bazot *et al.*, 2013). Si les arbres ne présentent pas de déficit de NSC lors de différentes saisons de végétation sans contraintes, il est possible qu'il n'en soit pas de même lorsqu'un arbre se trouve dans une situation de limitation de la photosynthèse.

Une de ces périodes de limitation peut survenir lors d'un événement de sécheresse. En effet, dans la pléthore de réponses d'un arbre face à un déficit hydrique, la modulation de l'ouverture stomatique joue un rôle central (Cowan, 1982 ; Farquhar et Sharkey, 1982). Afin de réguler cet équilibre entre perte en eau et gain en carbone, les stomates, s'ouvrent et se ferment, engendrant une perte en eau plus ou moins importante par transpiration (**Figure II.4**).

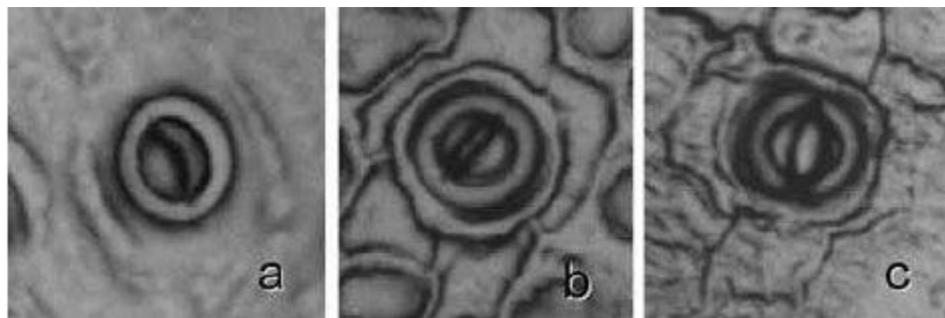


Figure II.4. Photographie d'un stomate majoritairement fermé (a), partiellement ouvert (b) et ouvert (d). Source : Ortega-Loeza *et al.*, 2011.

En modulant les pertes en eau, les arbres peuvent alors éviter une déshydratation de leurs tissus mais, en parallèle, l'assimilation carbonée est impactée.

Aussi, la photosynthèse peut être diminuée par un stress abiotique tel une sécheresse (Bréda *et al.*, 2006 ; Palacio *et al.*, 2008 ; Hartmann *et al.*, 2013 ; Piper et Fajardo, 2014 ; Dickman *et al.*, 2015). La production d'hydrates de carbone est alors impactée mais les puits de carbone dans l'arbre peuvent également être modifiés. Par exemple, la respiration nécessaire pour la maintenance et la croissance peut être augmentée ou diminuée lors d'un événement de

sécheresse (Flexas *et al.*, 2006 ; Atkin et Macherel, 2009; Pinkard *et al.*, 2011; Rowland *et al.*, 2015). La respiration augmente également avec la température atmosphérique et par conséquent, les besoins carbonés peuvent augmenter en cas de stress combinés de manque d'eau et d'augmentation de la température menant à une possible consommation des composés de réserve carbonée (Adams *et al.*, 2009).

Certains besoins en composés carbonés dans l'arbre peuvent être diminués lors de sécheresse. Chez le hêtre notamment, la croissance radiale peut être fortement diminuée lorsque l'humidité du sol baisse (van der Werf *et al.*, 2007; Michelot *et al.*, 2012). De plus, le compartiment foliaire peut être aussi impacté par une sécheresse via une diminution de la surface foliaire totale notamment avec des feuilles de taille réduite (Bréda *et al.*, 2006). D'autres ajustements métaboliques sont également possibles impactant de manière plus ou moins importante la dynamique des réserves carbonées (Delaporte, 2015).

La complexité de ces réponses peut être accrue si l'on considère différentes formes d'hydrates de carbone (amidon, sucres solubles). Si l'amidon a pour seul rôle connu celui de la mise en réserve, la contribution des sucres solubles à d'autres métabolismes tels que l'osmorégulation (**Tableau II.1**) ou l'intégrité hydraulique fait que ceux-ci peuvent présenter des dynamiques différentes en fonction du sucre considéré (Dietze *et al.*, 2014 ; Sevanto *et al.*, 2014 ; Hartmann *et al.*, 2016).

Tableau II.1. Classes, exemples et rôles fonctionnels de carbohydrates dans les plantes. Librement adapté et traduit de Hartmann *et al.*, 2016.

<i>Classe de sucres</i>	<i>Exemple</i>	<i>Rôle fonctionnel</i>
Monosaccharides	Pentose Arabinose, xylose, ribose	Métabolisme et osmolytes
	Hexoses Glucose, fructose, galactose	
Di et oligosaccharides	Saccharose, raffinose, stachyose	Transport
Polysaccharides	Hémicellulose, cellulose	Composés structuraux
	Amylose, amylopectine	Composés de réserves

Le transport de solutés dans l'arbre est fondamental pour la survie d'un arbre. Les mouvements de l'eau dans l'arbre sont le produit de gradients de potentiels hydriques et les sucres solubles sont impliqués dans le maintien de la pression de turgescence et l'intégrité du transport longue distance dans le xylème et le phloème (Liu *et al.*, 2008 ; Aranjuelo *et al.*, 2011, Sala *et al.*, 2012). Un possible rôle prépondérant des sucres solubles a été évoqué dans la résorption des embolies (Salleo *et al.*, 1996 ; Brodersen *et al.*, 2010) mais celle-ci est depuis remise en question (Cochard et Delzon, 2013 ; Delzon et Cochard, 2014 ; Choat *et al.*, 2018). Dans le maintien du transport des solutés dans l'arbre, la formation de nouveaux tissus conducteurs a également été mise en exergue dans la lutte contre les embolies irréversibles (Améglio *et al.*, 2002 ; Brodrigg *et al.*, 2010).

La possibilité de remobiliser des NSC mis en réserve dans l'arbre est donc primordiale pour sa survie au cours des saisons mais ceux-ci pourraient être amenés à s'épuiser ou à être dans l'incapacité à être remobilisés des organes sources vers les organes puits, c'est pourquoi la compréhension des mécanismes de stockage et de remobilisation des hydrates de carbone non structuraux est nécessaire lors d'études portant sur les dysfonctionnements et la mortalité des arbres forestiers.

2.3. Pourquoi considérer le métabolisme azoté de l'arbre dans l'étude des mécanismes physiologiques internes face à une contrainte

2.3.1. L'azote, un composé indispensable à la physiologie de l'arbre mais une disponibilité limitée

L'azote (N) est un élément essentiel dans de nombreuses macromolécules incluant les acides nucléiques, qui encodent l'information génétique pour la production des acides aminés constituants de base des protéines, qui assurent de nombreuses fonctions de la vie de l'arbre tout comme dans sa structure.

L'azote joue un rôle fondamental dans le développement d'un arbre bien qu'il ne représente que 1 à 3 % de la matière sèche végétale. En effet, la fertilisation azotée stimule les taux de photosynthèse et la surface foliaire d'une grande partie des arbres alors qu'une faible disponibilité en azote provoque les effets inverses (Hyvönen *et al.*, 2007 ; Luo *et al.*, 2013).

Bien que sa disponibilité soit cruciale dans le fonctionnement d'un arbre, l'azote est un des éléments les plus limitants pour leur croissance. Si l'air est composé d'azote à 78%, une majorité d'essences forestières est incapable de l'utiliser. Ils sont donc dépendants de la disponibilité en azote du sol, c'est-à-dire de la matière organique et sa décomposition. Cependant, la disponibilité en azote d'un sol forestier limite souvent la croissance des arbres et leur développement (Rennenberg *et al.*, 2006). De nombreux organismes procaryotes sont capables de fixer l'azote de l'air. Aussi, de nombreuses espèces d'arbres ont mis en place des symbioses avec ces procaryotes leur apportant des bénéfices réciproques : les arbres les alimentent en sucres en échange d'azote organique sous forme d'acides aminés. Cependant, il faut noter que certaines espèces d'arbres (robinier, aulne) sont capables de fixer l'azote atmosphérique et peuvent donc pousser sur des sols très pauvres (Rennenberg *et al.*, 2006).

En plus des symbioses, l'arbre peut également absorber l'azote du sol par ses racines sous forme de nitrate (NO_3^-) ou d'ammonium (NH_4^+). De nombreuses études ont montré des résultats variables quant à la forme préférée d'N du sol assimilé par les plantes (Ashton *et al.*, 2008 ; Harrison *et al.*, 2008), suggérant que les plantes se sont adaptées ou acclimatées à prendre la forme qui présente la plus grande disponibilité dans leur environnement proche. Néanmoins, le nitrate est souvent la forme privilégiée avec des concentrations beaucoup plus importantes que celles de l'ammonium dans les sols (Masclaux-Daubresse *et al.*, 2010).

Après son entrée grâce à des transporteurs membranaires, le nitrate est réduit en nitrite (NO_2^-) puis en ammonium par la nitrate réductase et le nitrite réductase respectivement au niveau racinaire ou foliaire. L'ammonium étant un composé toxique pour l'arbre même à de faible concentration, il ne peut donc pas s'accumuler, il est alors transporté dans les plastides et assimilé en glutamate (Crawford et Forde, 2002). L'ammonium transformé est assimilé en acides aminés via la glutamine oxoglutarate aminotransférase (GOGAT) puis via différentes aminotransférases qui vont catalyser la formation d'acides aminés comme l'asparagine synthétase qui va permettre la transformation en glutamate et asparagine (Lam *et al.*, 1996). La glutamine et le glutamate sont les premiers acides aminés synthétisés. Par transamination, l'azote est ensuite transféré à d'autres substrats carbonés pour former de nouveaux acides aminés (aspartate, alanine, glycine, ...).

Une fois réduit et assimilé sous la forme d'acides aminés, l'azote est transporté à longue distance via la sève du xylème, les ions étant entraînés par le flux de sève dont le moteur est la transpiration. Par conséquent, ce transport ne peut donc être effectué que durant la saison de végétation chez les espèces décidues lorsque le compartiment foliaire est présent. Ce transport

est optimal lors de situations climatiques non contraignantes. De plus, l'azote joue un rôle crucial dans le compartiment foliaire où il se retrouve majoritairement dans la machinerie photosynthétique sous forme d'enzymes, notamment la Rubisco ou sous forme de pigments comme les chlorophylles (Millard *et al.*, 2007).

2.3.2. La gestion de la ressource azotée selon un rythme saisonnier

En fin de phase de végétation, les feuilles vont entrer en phase de sénescence, phénomène graduel qui conduit à leur mort cellulaire (Lim *et al.*, 2007). La dégradation de macromolécules et la remobilisation azotée durant la sénescence foliaire permettent à l'arbre de mettre en réserve cet azote foliaire pendant l'hiver pour le réutiliser plus tard (Himmelblau et Amasino, 2001; Buchanan-Wollaston *et al.*, 2003; Gregersen *et al.*, 2008 ; Lu *et al.*, 2012 ; Brant *et al.*, 2015). Dans le paragraphe précédent consacré à l'hypothèse carbonée ont été évoqués les différents processus participant à la mise en réserve. Dans ce cas où de l'azote investi dans le compartiment photosynthétique est dégradé puis remobilisé, on parlera alors de recyclage. Cet azote sera alors recyclé vers les parties pérennes de l'arbre.

La résorption de l'azote (*i.e.* la capacité d'un arbre à résorber l'azote foliaire) peut représenter jusqu'à 65% de l'azote foliaire des arbres décidus (Hai-Yang *et al.*, 2018). Compte tenu que la plupart des forêts ont des sols pauvres en azote, une capacité élevée à recycler cet azote foliaire permettrait aux arbres d'être compétitifs dans des environnements pauvres en azote (Hai-Yang *et al.*, 2018).

Par conséquent, de manière similaire au cycle carboné, les arbres ont la possibilité de mettre en réserve des ressources azotées. Le transport se fait principalement sous forme d'acides aminés, de petits peptides ou d'uréides chez certaines plantes. Par exemple, l'arginine est l'acide aminé présentant le ratio C/N le plus faible, il est donc préférentiellement utilisé pour le transport et la mise en réserve (Llacer, 2006) mais d'autres acides aminés (asparagine, glutamine, citrulline) peuvent être également utilisés pour le transport selon l'espèce considérée (Malagutti *et al.*, 2001). L'arginine constitue une large portion de la quantité d'acides aminés présents dans les protéines de réserve (Vegetative Storage Protein ou VSP) dans les organes pérennes (Canton *et al.*, 2005 ; Canovas *et al.*, 2007 ; Valenzuela Nunez *et al.*, 2011 ; Winter *et al.*, 2015). Ces protéines sont spécialisées dans le stockage de l'azote mais ne représentent qu'une partie des protéines totales (Staswick, 1994). En hiver, les arbres entrent en période de dormance où vont alors s'accumuler les VSP dans les organes pérennes (El Zein, 2011). Ces VSP sont en partie utilisées pour la maintenance hivernale (Wildhagen *et al.*, 2010 ; Bazot *et al.*, 2013), leur

accumulation étant corrélée avec l'acclimatation au froid et l'endurcissement au gel chez *Picea glauca* (Binnie *et al.*, 1994).

Si les VSP ont été bien étudiées chez les espèces fruitières (Kang *et al.*, 1982 ; Titus et Kang, 1982; Tagliavini *et al.*, 1998 ; Malaguti *et al.*, 2001 ; Cheng et Fuchigami, 2002 ; Grassi *et al.*, 2002 ; Guak *et al.*, 2003 ; Jordan *et al.*, 2012) elles le sont beaucoup moins chez les espèces forestières (Stepien *et al.*, 1994 ; Vizoso, 2004 ; Valenzuela Nunez, 2006 ; El Zein, 2011 ; Bazot *et al.*, 2013). Au printemps, l'absorption racinaire n'est pas encore suffisante pour alimenter les différents puits d'azote dans l'arbre notamment la formation des nouvelles feuilles et des nouveaux rameaux (El Zein *et al.*, 2011b). La croissance foliaire est alors dépendante des réserves azotées qui jouent un rôle fondamental pour la reprise en croissance au printemps (El Zein *et al.*, 2011b ; Bazot *et al.*, 2013). Les VSP peuvent alors être hydrolysées et remobilisées (King *et al.*, 1997) via un important influx d'acides aminés dans la sève du xylème (Canas *et al.*, 2016). Le recyclage interne de l'azote et l'utilisation des réserves azotées d'un arbre sont alors fondamentaux pour sa survie au cours des saisons où la disponibilité en azote du sol est faible. De part un recyclage efficient via une résorption azotée, celui-ci peut alors fonctionner en hiver pour assurer la maintenance hivernale de l'arbre (**Figure II.5**).

En plus de la remobilisation des réserves azotées, la reprise de la croissance au printemps est généralement liée avec la capacité de survie d'un arbre (Bigler *et al.*, 2006 ; Gessler *et al.*, 2016). Angélique Gilson (2015) a suggéré que des arbres matures ne sont pas limités en azote dû à une plus grande proportion de biomasse des racines moyennes et fines au sein de la biomasse vivante de l'arbre et d'un fort taux de mycorhization, qui leur permettraient une absorption suffisante d'azote (Holden *et al.*, 2013 ; Zhang *et al.*, 2012). En effet, bien que la biomasse des racines fines ne représente qu'une faible proportion de la biomasse totale d'un arbre, elles jouent un rôle majeur dans le fonctionnement d'un arbre notamment dans l'absorption minérale.

Une diminution de la disponibilité en azote peut avoir des conséquences sur la croissance, l'architecture et la morphologie racinaire (Kiba *et al.*, 2011). La croissance des racines principales et latérales peut être augmentée lorsque la disponibilité en azote est faible (Lopez-Brucio *et al.*, 2003 ; Gruber *et al.*, 2013). Cette modulation de la surface racinaire permettra alors à l'arbre d'explorer plus de volume de sol.

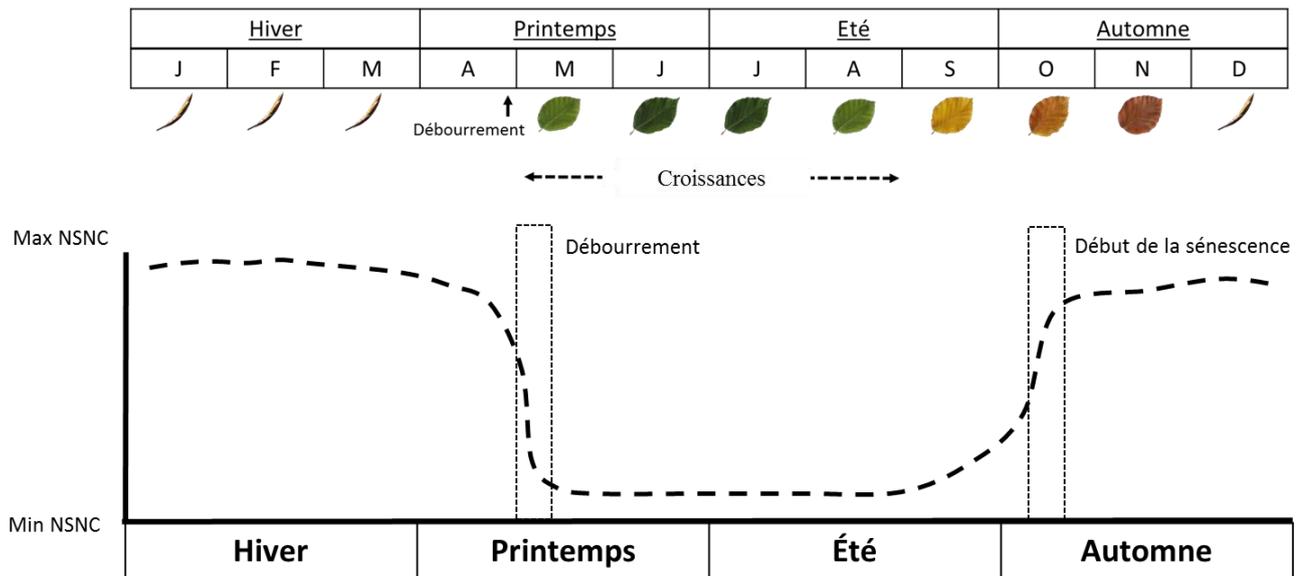


Figure II.5. Schéma représentant l'évolution saisonnière de la mise en réserve azotée (NSNC : composés azotés non structuraux). La 1^{ère} phase correspond à la remobilisation des protéines de réserve lors du débourrement (Gomez et Faurobert, 2002 ; Grassi et al., 2002 ; Millard et Grelet, 2010) et conversion en acides aminés pour la croissance de nouveaux organes avant que l'absorption racinaire soit effective (Gessler et al., 1998 ; El Zein et al., 2011b). La 2^{de} phase correspond au moment où la source d'azote pour la croissance et le fonctionnement foliaire change en faveur de l'absorption racinaire (El Zein et al., 2011b), la quantité de réserves azotées est à son minimum. La 3^{ème} phase se situe à la fin de la période de croissance, lorsque la quantité de réserves azotées dans l'arbre augmente faiblement jusqu'à la sénescence, c'est le début de la mise en réserve azotée (Staswick, 1994; Stepien et al., 1994). La 4^{ème} phase débute durant la sénescence, l'azote contenu dans la feuille est recyclé (l'appareil photosynthétique est dégradé) et cet azote (sous forme d'acides aminés est alors transporté vers les parties pérennes de l'arbre et stocké sous forme de protéines de réserve (Sauter et al., 1989; Gessler et al., 2004). Enfin, la 5^{ème} phase correspond à la remobilisation azotée via la résorption foliaire qui se finit au cours de l'hiver. Durant cette phase, les acides aminés sont progressivement convertis en protéines de réserve (Staswick, 1994; Stepien et al., 1994; Gomez et Faurobert, 2002; Cooke et Weih, 2005; Valenzuela Nunez et al., 2011; Bazot et al., 2013; Gilson et al., 2014).

2.3.3. Une gestion azotée primordiale lorsque la ressource devient limitante

En cas de déshydratation du sol, la mobilité des ions du sol peut faire défaut comme les déplacements de la faune du sol (Rennenberg *et al.*, 2006). Les arbres poussant dans des environnements xériques ont généralement un ratio racinaire : aérien en augmentation et des systèmes racinaires plus profonds comparés aux plantes poussant dans des environnements mésiques (Schenk et Jackson, 2005) indiquant que la prospection racinaire peut être plus importante quand un sol est sec. Néanmoins, lorsque la disponibilité en eau dans le sol devient très faible, le développement racinaire peut être ralenti voire stoppé (Araya *et al.*, 2015). Cela peut être dû à une contrainte mécanique lorsque la racine rencontre un obstacle, en l'occurrence un sol sec. Une augmentation en sévérité et en fréquence des sécheresses sous climat futur aura un impact sur les taux d'ammonification et de nitrification et les arbres seront sujets à de plus longues périodes de baisse de disponibilité en azote (Rennenberg *et al.*, 2006). Par conséquent, si la disponibilité de l'azote devient plus faible et que la croissance racinaire est ralentie ou stoppée, l'arbre ne pourrait pas être aussi compétitif que la faune du sol. En effet, la compétition face à la ressource azotée du hêtre par rapport à des essences à croissance rapide ou des espèces herbacées est corrélée à l'humidité du sol (Fotelli *et al.*, 2001, 2002, 2004). Aussi, en situation de sécheresse où la disponibilité en azote est plus faible, le hêtre ne pourrait plus être compétitif et présenter des diminutions de croissance (Simon *et al.*, 2017).

Malgré leur importance, peu d'études ont évalué l'impact des perturbations sur le cycle azoté interne chez les espèces ligneuses (Delaporte, 2015). Quelques études ont montré que la nutrition et le cycle azoté étaient impactés par les sécheresses (Rennenberg *et al.*, 2006, 2009; Nahm *et al.*, 2007; Dannenmann *et al.*, 2016; Gessler *et al.*, 2016) mais l'effet de stress sur le fonctionnement azoté des arbres reste encore mal connu. Or, la sensibilité de certaines essences forestières, notamment le hêtre, à des limitations de disponibilité en azote a été confirmée récemment (Simon *et al.*, 2017). Il est donc nécessaire d'inclure le métabolisme azoté interne à l'arbre lorsqu'on cherche à comprendre les mécanismes sous-jacents aux phénomènes de mortalité. La **figure II.6** ci-dessous regroupe les grandes fonctions des cycles carboné et azoté.

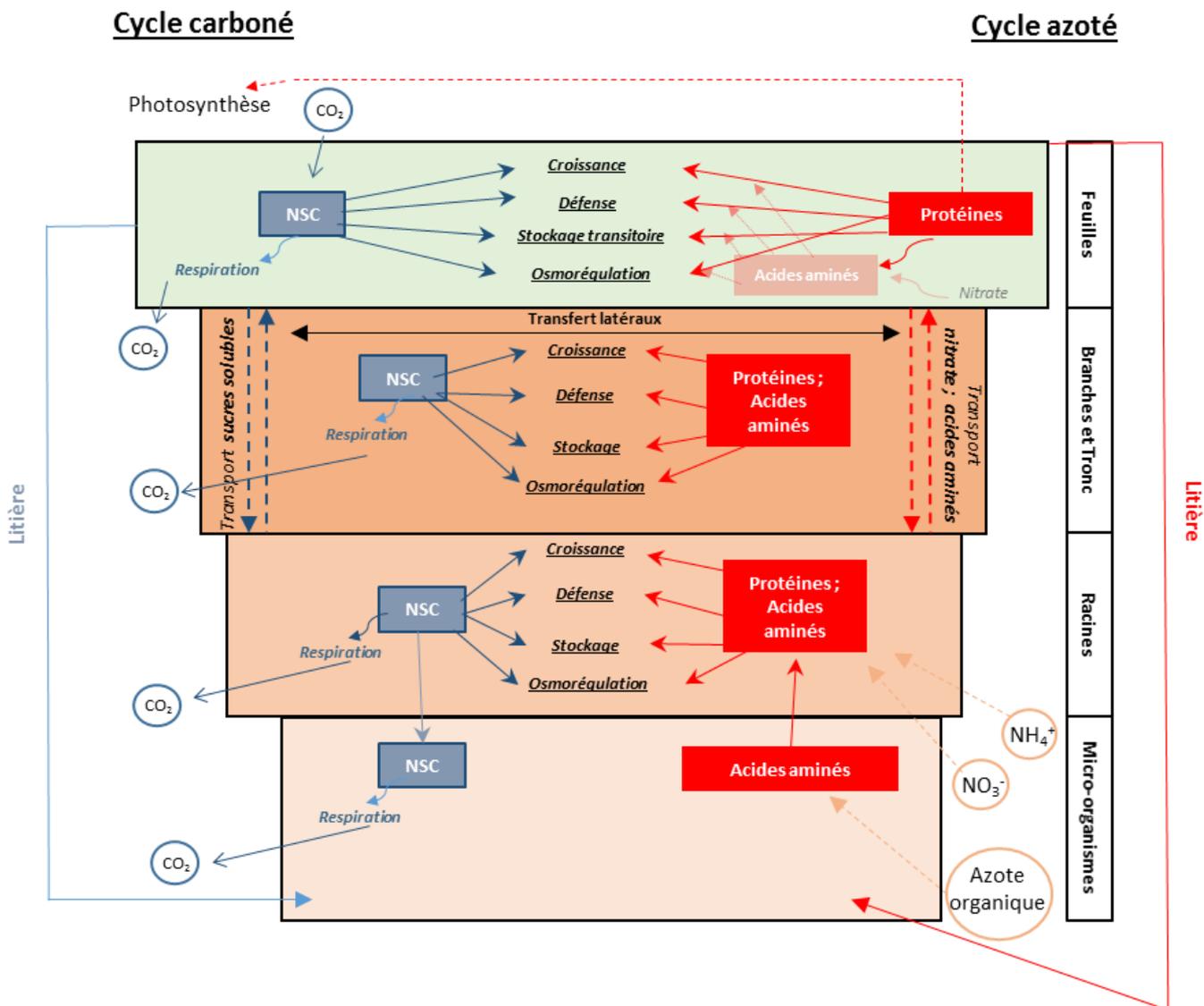


Figure II.6. Schéma représentatif des grandes fonctions des cycles carboné et azoté de l'arbre adapté librement de la thèse d'Angélique Gilson (2015).

2.4. Comment améliorer notre compréhension des processus menant à un phénomène de mortalité ?

2.4.1. Le choix du dispositif expérimental est primordial

L'étude la mortalité forestière a des implications dans de nombreuses thématiques allant de la physiologie moléculaire à la modélisation en passant par des recherches en stratégie de gestion forestière. En fonction de l'approche considérée, les méthodologies appliquées dans la compréhension et la prise en compte de la mortalité sont nombreuses. Cependant, les études de mortalité en conditions naturelles sont rares (*e.g.* Cailleret *et al.*, 2014) dues à l'impossibilité de prédire quand un arbre va mourir. C'est pourquoi les expérimentations contrôlées peuvent être plus utiles car elles permettent de générer des stress contrôlés plus importants, plus longs et laissent aussi le choix du moment dans la saison où le stress est appliqué. Ces conditions contrôlées peuvent être appliquées en phytotron ou en serre mais cela implique que les plantes poussent en pots. La culture en pot a comme conséquence la création de contraintes artificielles de sol entraînant par exemple une limitation du développement racinaire ou une faune du sol différente et quelquefois, des effets liés à la transplantation (Kawaletz *et al.*, 2014 ; Bussotti *et al.*, 2018).

Les expérimentations contrôlées en pot sont surtout adaptées aux arbres au stade juvénile et les résultats obtenus sont difficilement extrapolables à des stades plus âgés (Thomas *et al.*, 2002 ; Baber *et al.*, 2014 ; Hartmann *et al.*, 2018). Par exemple, Hélène Genet (2009) a montré sur une chrono-séquence de hêtre que l'allocation de carbone vers le stockage augmente avec l'âge au détriment de la croissance ; des résultats similaires ont été trouvés par Gilson *et al.*, (2014) sur une chrono-séquence de chêne. Ce facteur âge pourrait donc limiter notre compréhension du fonctionnement des écosystèmes forestiers sous contraintes et notre capacité à prédire la réponse d'arbres matures en forêt exposés à un climat changeant. A un stade juvénile, il apparaîtrait que les arbres privilégient plus leur croissance afin d'éviter un effet de compétition, ce qui s'amenuise sur des arbres au stade mature avec des structures racinaires et aériennes établies. De plus, la croissance d'un jeune arbre peut se faire tout au long de la saison de végétation (Kozlowski et Pallardy, 1997) alors qu'un arbre plus mature aura une croissance seulement une partie de la saison de végétation. En se basant seulement sur ce postulat, les allocations carbonées seront alors différentes en fonction de l'âge de l'arbre. Des arbres très jeunes ne peuvent pas être vus comme des petits arbres matures et la maturation de ceux-ci

engendre forcément des différences de schéma d'allocation des ressources. Par exemple, la proportion des feuilles par rapport à la biomasse de l'arbre diminue avec l'âge (Poorter *et al.*, 2012) ayant une conséquence directe sur l'allocation carbonée et azotée dans l'arbre. Les composés azotés et carbonés étant indispensables dans la physiologie de l'arbre, ceux-ci seront amenés à être transportés de la source (assimilation/absorption ou réserves) vers les organes puits et l'âge aura une importance quant à la distance de transport. Aussi, la localisation des réserves amenées à être remobilisées pourra être modifiée remettant alors en question les résultats trouvés sur des arbres très jeunes et de petite taille. Enfin le plus important reste que nos résultats aient une signification plus ou moins lointaine avec ce qui se passera dans les décennies à venir dans nos forêts. Or, celles-ci ne sont pas équiennes et des arbres de différents stades d'âge seront donc confrontés aux changements du climat. Par conséquent, il est nécessaire de considérer plusieurs stades de maturité d'un arbre.

2.4.2. Le choix de l'espèce d'étude

Compte tenu de la réponse différente face à un stress que peut avoir un arbre à feuilles caduques ou un arbre à feuilles persistantes, un arbre à stratégie isohydrique ou anisohydrique ou encore un arbre à croissance rapide (peuplier, eucalyptus) d'une essence à croissance lente, il est nécessaire d'étudier l'ensemble des espèces d'arbres d'intérêt économique ou écologique qui pourraient présenter des sensibilités différentes face aux futurs changements climatiques. En effet, pour aider les gestionnaires forestiers à mieux préparer les forêts aux aléas climatiques de demain, la variabilité inter-spécifique de réponse des arbres à la sécheresse est actuellement largement étudiée à la fois pour identifier les espèces les plus vulnérables et les plus résistantes (Manion, 1981; McDowell *et al.*, 2008; Voltas *et al.*, 2013; Gessler *et al.*, 2016; Martin-StPaul *et al.*, 2017) mais aussi pour comprendre le fonctionnement des forêts mélangées par rapport aux forêts monospécifiques (Verheyen, 2013 ; Verheyen *et al.*, 2016). De plus, une meilleure connaissance du comportement de certaines espèces face à une perturbation est fondamentale pour simuler précisément la mortalité dans les modèles de dynamique forestière (Meir *et al.*, 2015) surtout dans des régions forestières où l'espèce considérée est d'une importance écologique et économique.

2.4.3. Quelles contraintes à appliquer pour engendrer de la mortalité ?

Les arbres sont des organismes capables de vivre plusieurs centaines d'années (quelques exemples, le Jomon Sugi au Japon dont l'âge est estimé entre 2000 et 7000 ans, Le Sénateur, cèdre de 58m de haut et âgés de 3500 ans malheureusement brûlé en 2012). Les arbres de nos forêts françaises vivent plusieurs décennies ou siècles et sont donc sujets à des contraintes biotiques et abiotiques récurrentes. Afin d'étudier la mortalité d'un arbre, il faut pouvoir modifier son environnement de façon à engendrer des changements tels, que l'arbre ne pourra pas répondre et finira par ne plus pouvoir s'adapter. Dans ce paragraphe seront listées les deux contraintes artificielles appliquées au sein de ce travail de thèse afin d'engendrer de la mortalité.

a. Impacts d'une sécheresse édaphique intense et prolongée

Une sécheresse édaphique aura une incidence selon trois facteurs établis : son intensité, sa durée et le moment où elle intervient (Bréda *et al.*, 2006 ; Ruffault *et al.*, 2013 ; D'Orangeville *et al.*, 2018). Différentes intensités de sécheresse induisent des processus physiologiques différents (Hsiao, 1973 ; Ditmarova *et al.*, 2010). Par exemple, un arbre sous une sécheresse modérée peut ne pas présenter de rupture de la colonne d'eau mais plutôt mourir d'un épuisement de réserves carbonées ou azotées si la sécheresse dure plus longtemps (McDowell, 2011). L'absence de preuves notables d'une mort due à un épuisement des NSC pourraient provenir du fait qu'une majorité d'études prend en compte la dynamique des NSC sur un temps assez court et donc dans le cas où l'arbre fait face à des stress intenses mais de courte durée (Anderegg et Anderegg, 2013 ; Regier *et al.*, 2010 ; Piper *et al.*, 2016). L'importance des interactions entre les cycles carboné et azoté de l'arbre va également dépendre de la durée et l'intensité de la sécheresse. En effet, l'allocation carbonée vers le compartiment racinaire peut être réduite, par manque d'apport en nouveaux assimilats d'origine foliaire, engendrant une absorption racinaire moindre ; une sécheresse intense va retarder l'allocation de carbone vers le compartiment souterrain dû à de probables difficultés de transport alors qu'une sécheresse modérée peut stimuler le transport des photo-assimilats vers les racines et pourrait augmenter la rhizodéposition qui fournit du substrat carboné aux communautés microbiennes du sol en échange de nutriments notamment de l'azote (Lynch et Whipps, 1990 ; Cai *et al.*, 2010 ; Delaporte, 2015 ; Schiebold *et al.*, 2017 ; Preece *et al.*, 2018).

b. Impacts de défoliations intenses et répétées

Naturellement, les arbres peuvent subir des défoliations à la suite d'une gelée tardive, de sécheresse intense, du vent ou résultant d'agents biotiques comme les insectes défoliateurs ou les herbivores. Une défoliation peut grandement réduire la productivité d'un écosystème (Li *et al.*, 2007 ; Clark *et al.*, 2010 ; Vargas *et al.*, 2010) et induire de la mortalité comme après une attaque massive de spongieuse aux Etats-Unis (Davidson *et al.*, 1999) ou par la processionnaire du pin (Palacio *et al.*, 2012). Bien que la réponse de l'arbre à une défoliation ait fait l'objet de nombreuses études, la compréhension des mécanismes internes suite à une défoliation reste à ce jour sous étudiée (Agrawal, 2005).

En effet, la défoliation cause des réponses physiologiques variées affectant plusieurs fonctions métaboliques. Il apparaît que la réponse de l'arbre à la défoliation dépend surtout : (1) des caractéristiques de la défoliation et particulièrement de sa période, de son intensité et de sa récurrence (Piene et Little, 1990 ; Kolb *et al.*, 1999). Dans une étude récente, Jacquet (2012) a montré un effet significatif de la défoliation sur la perte de croissance allant de 25% de perte de croissance pour une défoliation d'intensité faible (0-24%) à 75% pour les plus fortes défoliations (75-100%) sur la croissance du pin maritime. Mais la réponse de l'arbre dépend aussi (2) des caractéristiques de l'arbre hôte et des facteurs environnementaux (disponibilité des nutriments dans le sol, température, disponibilité en eau ...).

Les NSC mis en réserve ont été évoqués comme ayant un potentiel rôle de « tampon » lors d'une défoliation fournissant des substrats carbonés maintenant la croissance malgré la perte de tissus photosynthétiques comme chez *Eucalyptus globulus* (Eyles *et al.*, 2009). Néanmoins, ce maintien de la croissance après une défoliation n'est pas toujours observé. Certaines études ont montré que la croissance décroît suivant la défoliation sans impacter les concentrations de NSC (Reichenbacher *et al.*, 1996; Kosola *et al.*, 2001; Palacio *et al.*, 2008, 2012; Susiluoto *et al.*, 2010; Piper, 2015).

Une défoliation effectuée peu après la mise en place du compartiment foliaire aura comme première incidence de laisser l'arbre avec une surface photosynthétique très réduite pendant une grande partie de la saison de végétation notamment quand le gain en carbone est normalement au maximum (Schäfer *et al.*, 2010).

De plus, l'impact d'une défoliation n'atteint pas seulement le métabolisme carboné de l'arbre mais également son métabolisme azoté. En effet, lors de la période végétative, les feuilles sont le compartiment le plus riche en azote compte tenu des besoins pour la photosynthèse (Kramer

et Kozlowski, 1979). Lors d'une étude sur du hêtre mature, El Zein (2011) a montré qu'en Juin, à la fin de l'expansion foliaire, le compartiment foliaire contenait 38% de l'azote non structural total de l'arbre. Aussi, une défoliation aurait comme conséquence une perte massive et définitive d'une partie importante du stock en azote de l'arbre qu'il ne pourra pas recycler au moment de la sénescence.