

**Evaluation de la sensibilité des deux
génotypes de
peupliers en réponse à
l'ozone**

III.2. Introduction : les deux génotypes dans la littérature

Les deux génotypes de peupliers euraméricains, *Populus x canadensis* (*Populus nigra x deltoides*), ont été sélectionnés dans des pays différents. Le génotype Robusta est une sélection française ancienne (1895), dont l'usage en sylviculture est pratiquement abandonné (Marron, 2003). Le génotype Carpaccio est issu d'une sélection italienne relativement récente (reçu à l'Association FOForêt-CELLulose (AFOCEL) en 1976). Il n'existe cependant aucune information disponible concernant d'éventuelles surfaces plantées de ce génotype. Des différences de résistance aux pathogènes ont été observées entre les deux génotypes, Robusta y étant plus sensible que Carpaccio (www.agriculture.gouv.fr). Dans la littérature scientifique, les deux génotypes ont été étudiés séparément en réponse à la sécheresse et à l'O₃. Robusta est d'ailleurs qualifié de génotype « efficient » pour la fermeture des stomates en réponse au déficit hydrique (Ridolfi & Dreyer, 1997). Le génotype Carpaccio, quant à lui, a été récemment étudié en réponse à la sécheresse (Cohen et al., 2010; Durand et al., 2019b) et est plutôt considéré comme étant « tolérant » au déficit hydrique. Vis-à-vis de l'O₃, Robusta a été qualifié de « tolérant » comparé à un clone de *Populus nigra* (Van Hove et al., 2001, 1999). Ce génotype a également été classé « tolérant » comparé à 9 autres génotypes de peupliers, car il maintient une photosynthèse relativement importante avec une fermeture moyenne des stomates sous O₃ (Gandin et al., 2019). Par contre, lors d'études réalisées au sein du laboratoire pendant les thèses de A. Dghim (2012) et J. Dumont (2013), Robusta fut retenu comme sensible compte tenu de la chute des feuilles et de l'apparition de nécroses sur les plus âgées d'entre elles lors d'une exposition à 120 ppb O₃, et ce de manière plus précoce que le génotype Carpaccio exposé aux mêmes concentrations (Dghim, 2012). La rapidité de fermeture des stomates était également un critère pris en compte pour classer ce dernier génotype comme plus résistant que Robusta. En effet, Carpaccio tend à fermer plutôt et de manière plus importante ses stomates. Par la suite, une étude approfondie de la dynamique de réponse des stomates pointa une vitesse de réponse plus lente pour Robusta comparé à Carpaccio (Dumont et al., 2013). Cette réponse est également associée chez Carpaccio à une plus forte corrélation entre l'augmentation de l'activité de la PEPC et l'activité de deux NADP-déshydrogénases. Il a été avancé qu'une plus forte activité des déshydrogénases NADP-dépendantes pourrait être mise en relation avec le maintien d'un niveau plus élevé en NADPH chez Carpaccio (Dghim et al., 2013). Il en résulterait un meilleur apport de pouvoir réducteur pour la détoxification notamment pour alimenter le cycle ascorbate-glutathion. Une augmentation importante de la biosynthèse du glutathion a été également montrée chez le génotype Carpaccio (Dumont et al., 2014b).

Les deux génotypes sont également caractérisés par des différences de croissance importantes, Robusta ayant une croissance plus lente que Carpaccio (Dghim, 2012; Dumont, 2013). En raison de résultats contradictoires à ces travaux lors des premières expérimentations réalisées au cours de cette thèse et obtenus sur les deux génotypes exposés à 120 ppb d'O₃, il nous est apparu légitime de poser les questions suivantes :

- La comparaison des génotypes à une seule concentration en O₃ est-elle suffisante pour conclure à une différence de sensibilité des deux génotypes ?
- Quels sont les paramètres physiologiques les plus pertinents pour déterminer une différence de tolérance à l'O₃ ?
- Est-ce qu'une étude prenant en compte différentes doses d'O₃ et l'utilisation des relations au POD₀ peut apporter des éléments de réponse ?

En avril 2018, dans le cadre de cette thèse, une expérimentation visant à comparer la réponse des deux génotypes de peupliers soumis à différentes concentrations d'O₃ (Figure 23) a été mise en place. Elle comportait 48 arbres (24 de chaque génotype) répartis dans six phytotrons : deux chambres témoins en air filtré et quatre chambres avec des concentrations d'O₃ différentes : 80, 120, 150 et 200 ppb (décrit dans la section II.1.6 du M&M).

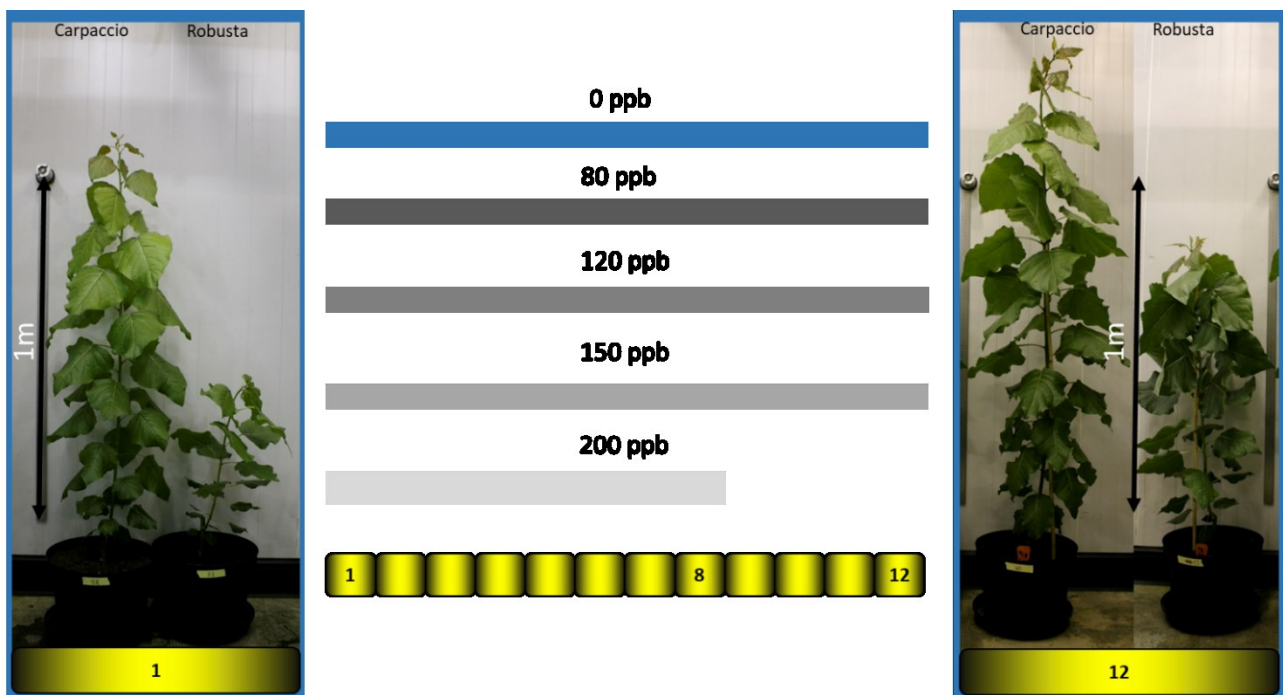


Figure 23 : Représentation schématique des différents traitements appliqués sur les deux génotypes lors de l'expérimentation 4. Les arbres soumis au traitement 200 ppb ont été prélevés après 8 jours de fumigation à cause de dégâts trop importants, tandis que pour les traitements 80, 120 et 150 ppb, les arbres ont été prélevés à 12 jours.

Pour répondre aux questions posées, différents paramètres ont été suivis :

- Des paramètres développementaux : hauteur, diamètre, nombre de feuilles et biomasse finale
- Une cinétique d'échanges gazeux (assimilation nette pour le CO₂ et la conductance stomatique) grâce à un appareil de mesure portable Li-6200 (Li-Cor, Inc. Lincoln, NE, USA)
- L'évolution du contenu en pigments (chlorophylles totales, flavonols, anthocyanes) mesurée de manière non-destructive à l'aide d'un Dualex
- La détermination du contenu cellulaire en H₂O₂ par une méthode colorimétrique au KI

La feuille suivie pour la cinétique d'échanges gazeux, l'évolution du contenu en pigments et la détermination du H₂O₂, est la première feuille pleinement développée (à partir de l'apex). Dans cette expérimentation nous avons opté pour que cette feuille soit située au même niveau entre les individus des deux géotypes afin de comparer des feuilles exposées à une même quantité de lumière. Ainsi, pour Robusta, la feuille suivie est la 9^e ou 10^e et pour Carpaccio, la 12^e ou 13^e, depuis le bourgeon apical. Pour compenser la différence de taille entre les deux géotypes, les plants du géotype Robusta ont été surélevé de 40 cm.

La cinétique obtenue pour la conductance stomatique et le suivi des concentrations d'O₃, afin de calculer un POD₀ d'après la méthode de Bagard et al. (2015), l'objectif final étant d'analyser la covariance des différents paramètres suivis en fonction de la dose d'O₃ entrante dans la feuille.

L'apparition rapide de symptômes foliaires et de la chute des feuilles à 200 ppb pour les 2 géotypes nous a contraint à terminer l'expérimentation pour cette dose d'O₃ le huitième jour de traitement, alors que, pour les autres, la fin de l'expérimentation a été portée à douze jours.

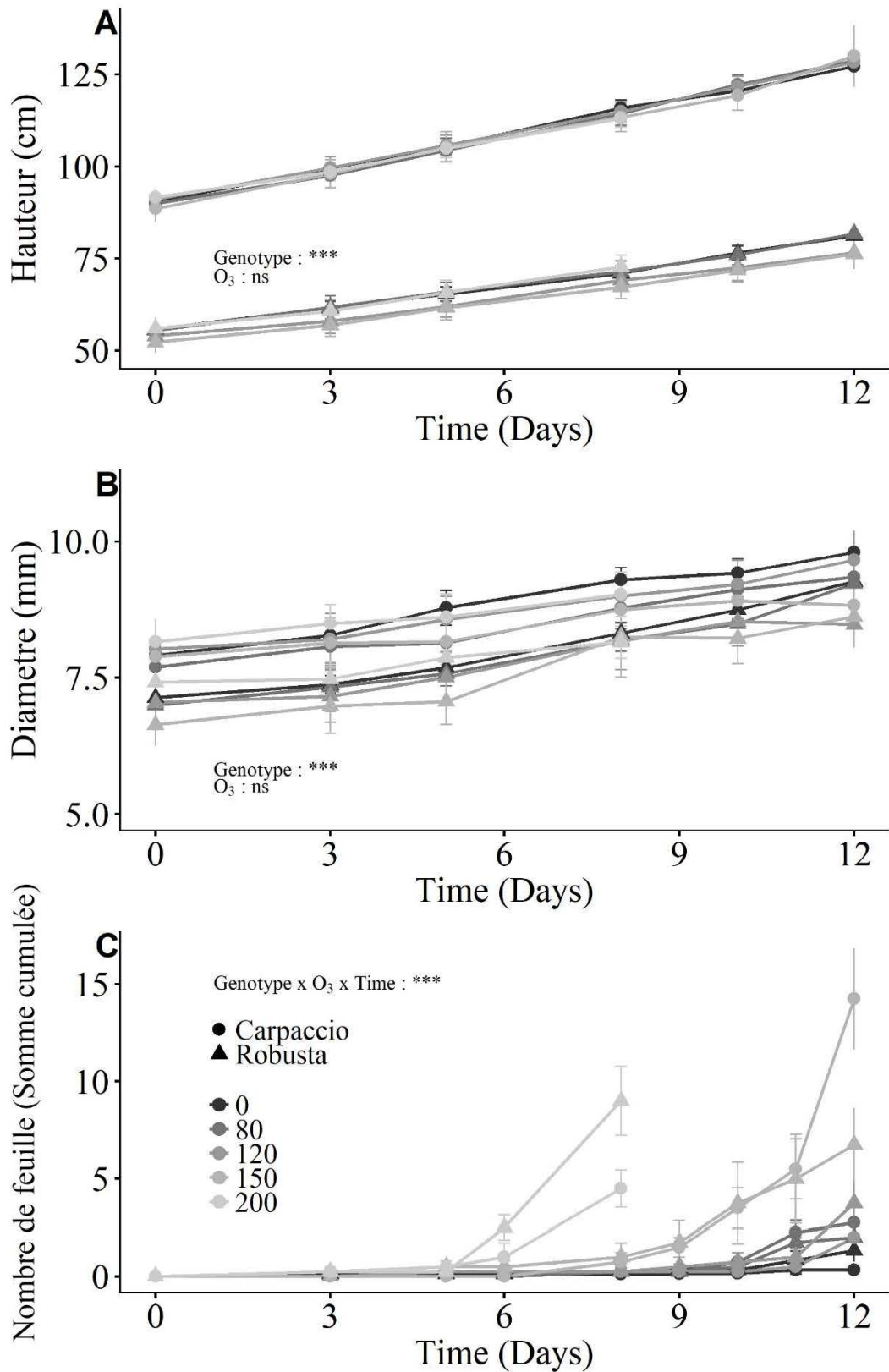


Figure 24 : Évolution des paramètres de croissance pour les deux génotypes soumis à 5 doses d'O₃ différentes. La hauteur (A), le diamètre (B) et la somme cumulée du nombre moyen de feuilles perdues (C) ont été déterminés pour Carpaccio (rond) et Robusta (triangle) soumis à 5 doses d'O₃ différentes : 0, 80, 120, 150 et 200 ppb (dégradé de gris foncé à gris clair). Moyenne : n=4±se.

III.3. Résultats expérimentation 4

III.3.1. Différence de croissance des deux génotypes de peuplier

Indépendamment de la dose d'O₃, les deux génotypes présentent une différence importante de croissance en hauteur : Carpaccio croît plus rapidement que Robusta, à raison de 38 cm en 12 jours contre 25 cm pour Robusta (Figure 24, A). La différence de croissance en diamètre de la tige est, elle, moins importante entre les deux génotypes et il existe une variabilité biologique importante. Le diamètre de Carpaccio est supérieur en moyenne de 1 mm à celui de Robusta au temps 0 (Figure 24, B). Pour les deux génotypes, la croissance de la tige, en diamètre et en hauteur, n'est pas affectée significativement par les différentes doses d'O₃. Par contre, les différentes doses d'O₃ sont responsables d'un décalage temporel de la chute de feuilles (Figure 24, C). À 200 ppb, le nombre de feuilles tombées au cours de l'expérimentation est plus important chez Robusta que Carpaccio (moyenne de 9 vs 4), tandis qu'à 150 ppb, la chute de feuilles est plus importante chez Carpaccio (14 vs 7). À 120 et 80 ppb, la réponse est identique entre les traitements et entre les génotypes (Figure 24, C). Les différentes doses d'O₃ sont également responsables d'une diminution de la biomasse des feuilles et des tiges, à la fois pour Robusta et Carpaccio. À partir de la concentration 150 ppb, la biomasse diminue de plus de 20 % par rapport au contrôle (Tableau 4). À 150 ppb, Carpaccio est plus impacté que Robusta pour la perte de masse des feuilles (- 29 % vs - 21 %, respectivement). A l'inverse, la diminution de biomasse des tiges est supérieure pour Robusta que pour Carpaccio (- 18 % vs - 13 %, respectivement). A 200 ppb, la diminution de biomasse des feuilles et des tiges est de l'ordre de 30 % pour Carpaccio. Pour Robusta, elle est de - 20 % pour les feuilles et nulle pour les tiges.

Tableau 4 : Nombre de feuilles et masse sèche (MS) des tiges et feuilles des géotypes Carpaccio et Robusta soumis à une fumigation d'O₃ de 0, 80, 120, 150 pendant 12 jours et 8 jours pour le traitement 200 ppb. Moyenne : n=4±se.

<i>Date</i>	<i>GNT</i>	<i>TO</i>	<i>Nombre de feuilles</i>	<i>MS tige (g)</i>	<i>MS feuille (g)</i>
8	Carpaccio	0	38.5 ± 0.65	13.47 ± 1.04	22.57 ± 1.36
		200	36.5 ± 0.5	9.43 ± 0.78	15.15 ± 0.93
	Robusta	0	30.5 ± 0.96	5.47 ± 1.24	15.47 ± 2.89
		200	26.5 ± 0.5	5.55 ± 0.7	10.82 ± 1.74
Géotype			<.001	<.001	0.026
O ₃			0.01	0.09	0.02
Genotype x O ₃			0.295	0.078	0.553
12	Carpaccio	0	40.5 ± 0.85	13.73 ± 0.9	23.23 ± 1.35
		80	41.25 ± 1.97	12.65 ± 1.53	22.8 ± 2.12
		120	40.75 ± 1.31	12.72 ± 1.02	21.7 ± 1.49
		150	34.5 ± 2.9	11.98 ± 1.4	16.65 ± 2.67
	Robusta	0	32.83 ± 0.4	8.53 ± 0.77	21.48 ± 1.71
		80	29.25 ± 1.8	8.2 ± 0.74	20.9 ± 1.15
		120	27 ± 2.12	8.05 ± 1.14	19.73 ± 2.08
		150	28.5 ± 1.55	7.03 ± 1.11	16.98 ± 2.11
Géotype			<.001	<.001	0.314
O ₃			0.010	0.502	0.025
Géotype x O ₃			0.295	0.986	0.916

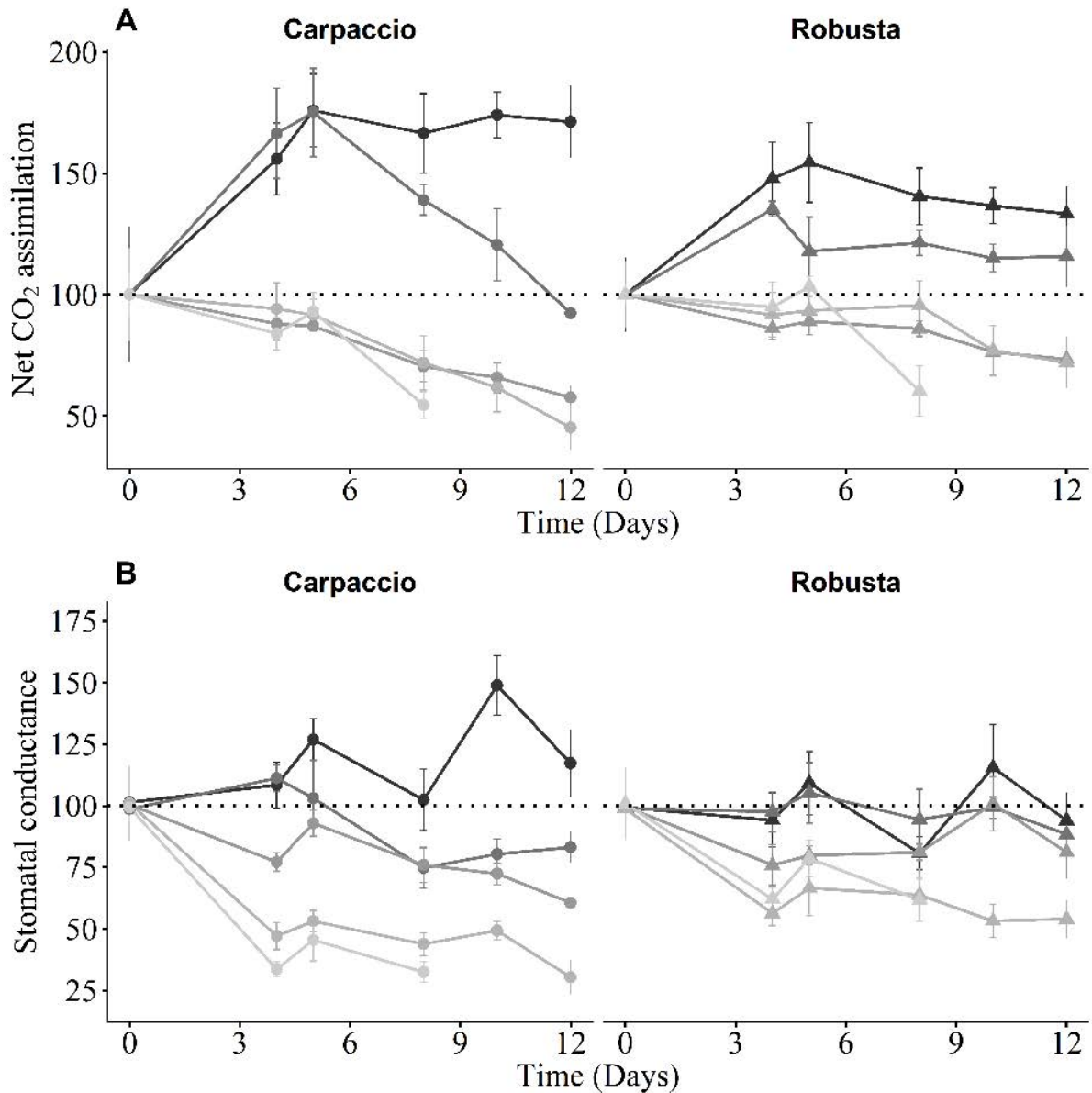


Figure 25 : Cinétique d'évolution des échanges gazeux foliaires pour Carpaccio et Robusta soumis à différentes doses d'O₃. (A) Assimilation nette pour le CO₂ et (B) la conductance stomatique à la vapeur d'eau ont été déterminées pour les deux génotypes au cours des traitements. Les deux paramètres sont représentés en pourcentage relatif au premier jour (moyenne, n=4±se) pour les deux génotypes Carpaccio (rond) et Robusta (triangle), soumis à 5 doses d'O₃ différentes de 0, 80, 120, 150 et 200 ppb (dégradé de gris foncé à gris clair).

III.3.2. Impacts sur les échanges gazeux et conséquences pour le POD₀

Pour les deux génotypes, l'assimilation nette de CO₂ (A_n) augmente en traitement contrôle jusqu'à se stabiliser après 5 jours, et ce jusqu'à la fin de l'expérimentation (Figure 25, A). Pour Carpaccio, A_n augmente de 4 à 7 $\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Ces valeurs absolues sont inférieures à Robusta, pour lequel, A_n augmente 6 à 9 $\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ en 5 jours, avant de diminuer légèrement et progressivement pour atteindre 8 $\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ après 12 jours en condition

contrôle (0 ppb d'O₃). Chez Carpaccio, A_n diminue à partir de 3 jours pour tous les traitements supérieurs à 80 ppb d'O₃. A_n est alors deux fois plus faible que dans les conditions air filtrés. Pour le traitement à 80 ppb, A_n augmente jusqu'à 5 jours avant de décroître de manière continue jusqu'à la fin de l'expérimentation (- 60 % par rapport au contrôle). Pour Robusta, les effets de l'O₃ sur A_n suivent le même schéma pour les traitements supérieurs à 80 ppb, mais avec une diminution moins importante par rapport au premier jour. Par contre, pour le traitement 80 ppb, A_n diminue entre 5 et 6 jours, mais pour se stabiliser jusqu'à la fin de l'expérimentation autour de valeurs inférieures de 20 % à celle du contrôle (Figure 25, A).

Pour les deux génotypes, les valeurs de conductance stomatique (g_s) sont identiques au début du traitement, autour de 0.35 mol H₂O.m⁻².s⁻¹. Pour Carpaccio, g_s tends à augmenter en traitement contrôle, jusqu'à atteindre 0.45 mol H₂O.m⁻².s⁻¹ à la fin de l'expérimentation (moyenne entre 10 et 12 jours), alors que, pour Robusta, g_s est relativement stable (Figure 25, B). Chez Carpaccio, g_s diminue au cours du temps dans les chambres soumises à l'O₃ (Figure 25, B). Plus la concentration en O₃ est élevée, plus la conductance est faible (Figure 25, B). Après 12 jours d'expérimentation à 80, 120 et 150 ppb, la conductance stomatique est diminuée respectivement de 26 %, 56 % et 78 % par rapport aux témoins. Pour les concentrations les plus élevées (150 et 200 ppb), g_s semble répondre dès le début de l'expérimentation. En ce qui concerne Robusta, g_s est moins fortement impactée. En effet, elle ne l'est pas à 80 ppb. À 120 ppb, cependant, les stomates se ferment au début du traitement, puis se rouvrent à partir du 8^e jour et à la fin de l'expérimentation. g_s est alors identique au traitement contrôle (0.31 μmol d'H₂O₂.m⁻². s⁻¹). Pour les concentrations les plus élevées, 150 et 200 ppb, g_s diminue d'environ 30% par rapport au témoin dès 4 jours d'expérimentation et se maintient ainsi jusqu'à la fin.

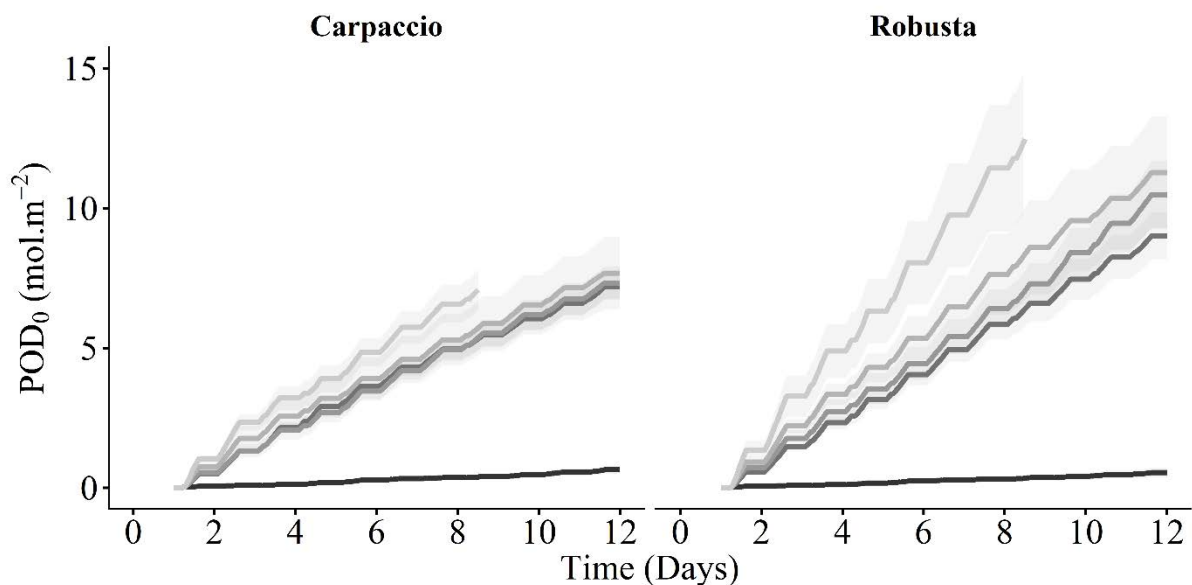


Figure 26 : Evolution du POD₀ en fonction du temps pour les deux génotypes, Carpaccio et Robusta, soumis à cinq traitements de fumigation d’O₃ (0, 80, 120, 150 et 200 ppb, dégradé de gris foncé à gris clair).

Comme décrit plus haut, la conductance stomatique de Carpaccio diminue de manière proportionnelle à la dose d’O₃ : plus la concentration d’O₃ est forte, plus les stomates sont fermés, ce qui a pour résultat l’observation d’un POD₀ identique pour les concentrations d’ozone 80, 120 et 150 ppb (Figure 26). Néanmoins, le POD₀ est plus élevé pour le traitement à 200 ppb (Figure 26). Dans le cas de Robusta, le POD₀ augmente en fonction des doses croissantes d’O₃. Au cours de cette expérimentation, le POD₀ est plus élevé pour le génotype Robusta que pour Carpaccio, quelle que soit la concentration d’O₃ considérée (Figure 26).

III.3.3. Pigments

En condition contrôle, Robusta présente des teneurs en chlorophylle plus élevées que Carpaccio (Indice des chlorophylles : 29 vs 19). Rapportée à la valeur mesurée au temps initial, la teneur en chlorophylle dans les feuilles augmente pour les deux génotypes, à raison de 75 % pour Carpaccio et 50 % pour Robusta (Figure 27, A). Sous traitement O₃, l’augmentation de la teneur en chlorophylle dans les feuilles est plus faible pour les deux génotypes. En effet, pour Carpaccio, le pourcentage de chlorophylle au 3^e jour de l’expérimentation augmente de 20 % en moyenne (toutes concentrations confondues) par rapport au premier jour (Figure 27, A). À partir du 5^e jour, les teneurs diminuent pour les concentrations les plus élevées (150 et 200 ppb), tandis que pour les traitements 80 et 120 ppb, elles diminuent à partir du 10^e jour seulement. En fin de traitement, les teneurs en chlorophylle à 80 ppb sont 15 % supérieures à celles mesurées à 120 ppb (Figure 27, A). Pour Robusta, les teneurs augmentent également de 20 % en moyenne

sous O₃ le 3^e jour, avant de chuter à 200 ppb et de tendre à se stabiliser pour les 3 autres concentrations d'O₃ (80, 120 et 150 ppb).

Concernant les anthocyanes, les teneurs des deux génotypes tendent à diminuer en condition contrôle (- 50 % à la fin de l'expérimentation par rapport au 1^{er} jour) (Figure 27, B). Pour Carpaccio soumis à 80 ppb et 120 ppb, les teneurs se stabilisent à 75 % et 100 %, respectivement, par rapport au jour 1. Pour le traitement 200 ppb, la tendance est à l'augmentation (+ 25 % les 3 derniers jours de l'expérimentation). Pour le génotype Robusta, les teneurs en anthocyanes sont plus variables entre les traitements O₃, avec une augmentation très marquée aux plus fortes concentrations. À 80 et 120 ppb, les teneurs en anthocyanes tendent à se stabiliser autour des valeurs de début de mesure, tandis que pour les concentrations élevées (150 et 200 ppb), elles ont augmenté d'environ 30 %.

Pour les deux génotypes, les teneurs en flavonols sont plus élevées sur la face supérieure que sur la face inférieure (Indice des flavonols : 0.42 vs 0.18 pour Carpaccio, 0.35 vs 0.18 pour Robusta). En condition contrôle, les teneurs sont relativement stables pour les deux faces (peu de variation par rapport au t=0), à l'exception des teneurs de la face supérieure chez Carpaccio, qui diminuent en fin d'expérimentation (Figure 27, C & D). Pour ce même génotype, les traitements O₃ entraînent une augmentation des teneurs en flavonols, plus marquées sur les faces inférieures des feuilles (Figure 27, C & D). À 150 ppb, les teneurs en flavonols augmentent de 80 %. Pour Robusta, l'augmentation des flavonols est marquée à 200 et 150 ppb sur les deux faces. À 200 ppb, elle est de 40 % sur chacune des deux faces.

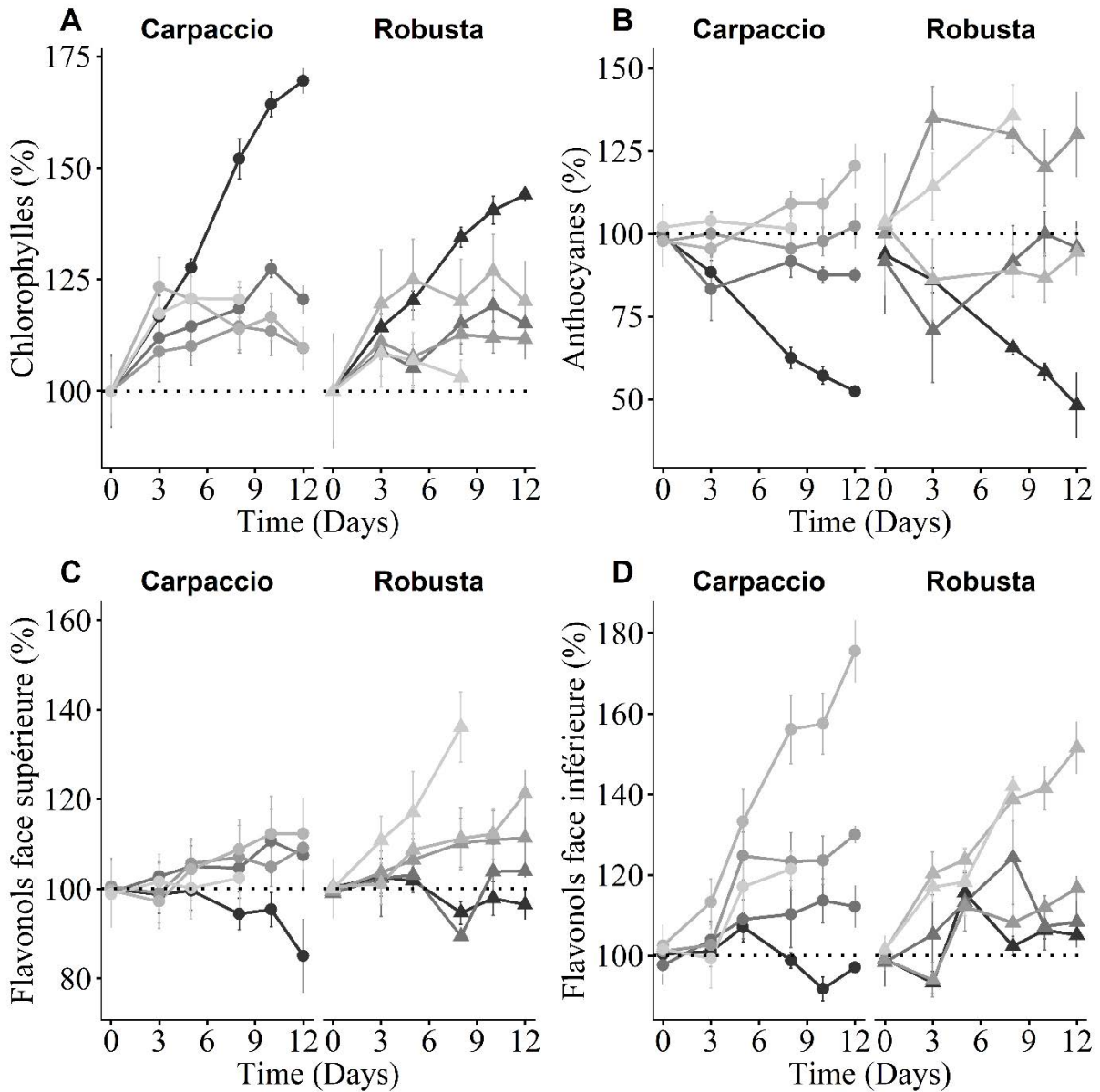


Figure 27 : Cinétique d'évolution des pigments foliaires pour Carpaccio et Robusta soumis à différentes doses d'O₃. Les teneurs en chlorophylle (A), en anthocyanes (B) et en flavonols pour la face supérieure (C) et inférieure (D) ont été déterminées pour les deux génotypes, Carpaccio (rond) et Robusta (triangle), soumis à 5 doses d'O₃ différentes, de 0, 80, 120, 150 et 200 ppb (dégradé de gris foncé à gris clair). Les teneurs (moyenne, n=4±se) sont représentées en pourcentage relatif au premier jour.

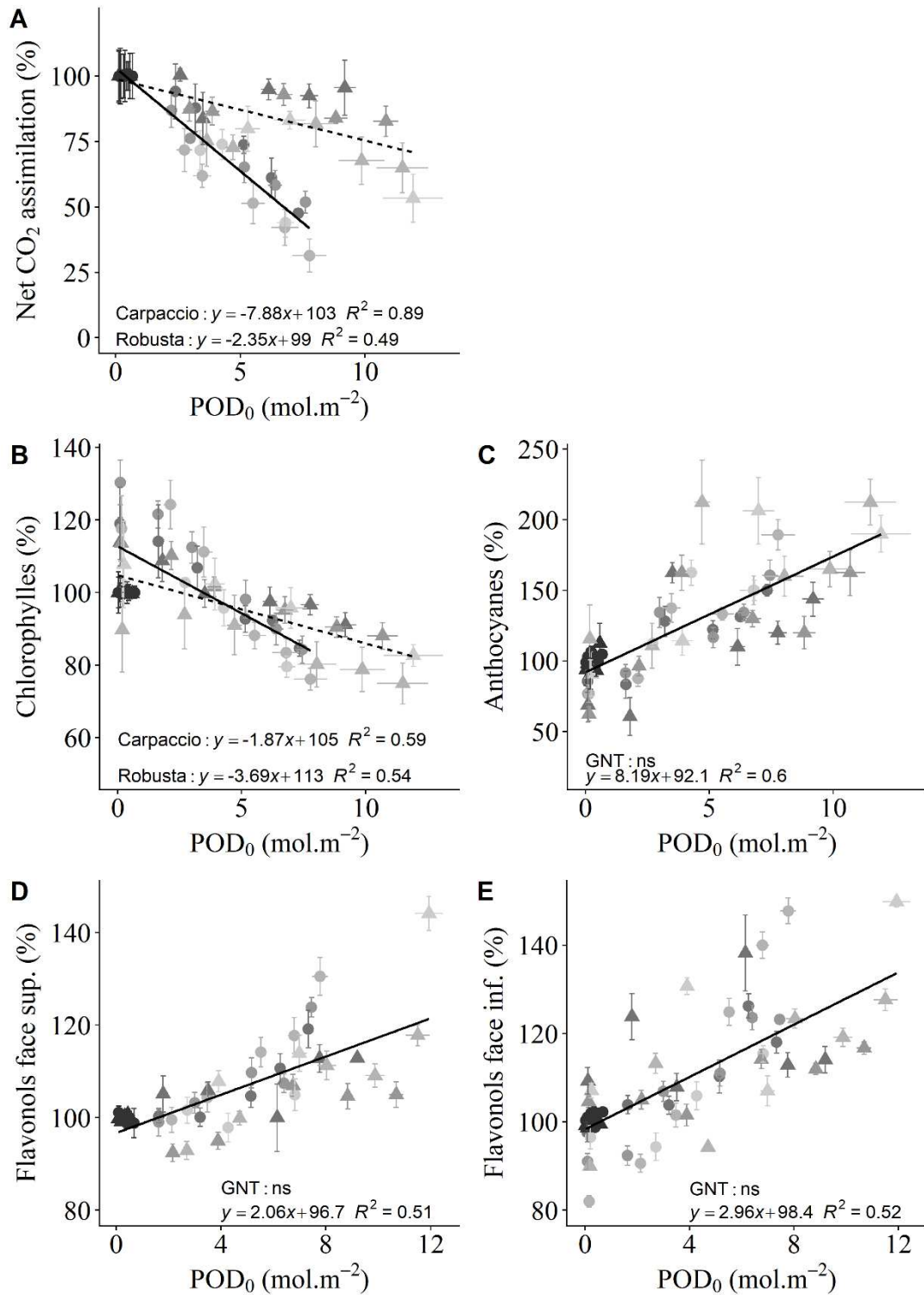


Figure 28 : Réponse des paramètres physiologiques foliaires au POD₀. La moyenne (n=4), normalisée par rapport au contrôle (0 ppb), pour (A) l'assimilation nette de CO₂ et les teneurs en (B) chlorophylle, (C) en anthocyanes et en flavonols sur la face supérieure (D) et inférieure (E) a été exprimée en relation au POD₀ (Flux d'ozone entrant) pour les deux génotypes, Carpaccio (rond) et Robusta (triangle). Les traitements sont représentés par des nuances de gris foncé à gris clair, du contrôle vers 200 ppb. L'effet du POD₀ et du facteur génotype (GNT) a été testé par ANCOVA ($p \leq 0.05$).

III.3.4. Évolution en fonction du POD_0

Il y a une relation de corrélation entre la diminution de l'assimilation et l'augmentation du POD_0 pour les deux génotypes (Figure 28, A). Pour Carpaccio, cette relation est nettement plus marquée ($R^2=0.89$), avec une diminution de A_n supérieure à 50 % par rapport au contrôle, à partir de 5 mol.m⁻² de POD_0 . La diminution des teneurs en chlorophylle est également liée à l'augmentation du POD_0 , mais la force de la relation est moyenne pour les deux génotypes, le R^2 étant de 0.59 et 0.54 pour Carpaccio et Robusta, respectivement (Figure 28, B). Il existe une légère différence de relation entre les deux génotypes, principalement due à une variabilité importante à faible POD_0 . L'évolution des teneurs en anthocyanes ou en flavonols pour les deux faces est corrélée positivement au POD_0 . L'analyse de covariance montre qu'il n'y a pas d'effet génotype ($p>0.05$) (Figure 28, C, D et E).

III.3.5. Détermination du peroxyde d'hydrogène et des symptômes visibles

Pour les deux génotypes, le contenu en H_2O_2 dans les feuilles est similaire (environ 30 nmol. g⁻¹MF). Le traitement O_3 n'affecte donc pas significativement les teneurs en H_2O_2 (Figure 26). Des symptômes visibles (chlorose et nécrose) sont observés sous chaque traitement O_3 et sur chaque génotype. À 80 et 120 ppb, les nécroses apparaissent sous forme de petits points blancs à la surface des feuilles. À 150 et 200 ppb, les nécroses, de couleur brune, sont plus larges et s'étendent sur des surfaces de plusieurs centimètres de large pour les feuilles les plus atteintes. À 200 ppb, elles apparaissent dès le premier jour chez les deux génotypes, mais les feuilles du génotype Robusta semblent plus atteintes que celles de Carpaccio. À 150 ppb, ce sont les feuilles de Carpaccio qui semblent présenter plus de symptômes que Robusta, notamment des chloroses (Figure 29).

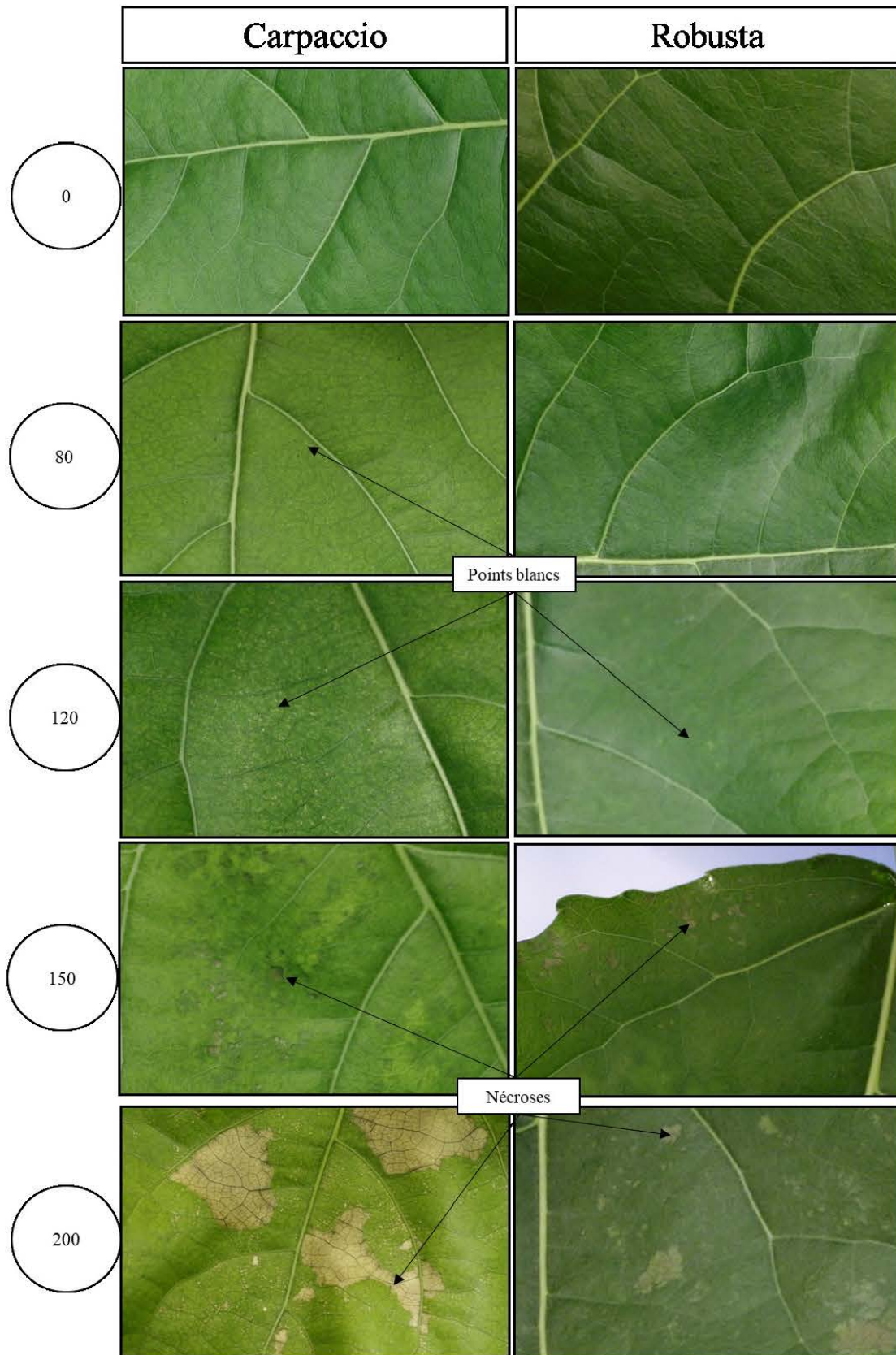


Figure 29 : Comparaison photographique du type de symptômes observés en fonction de la fumigation d'O₃ pour les deux géotypes Carpaccio et Robusta. Les chiffres à gauche correspondent à la dose d'O₃ en ppb.

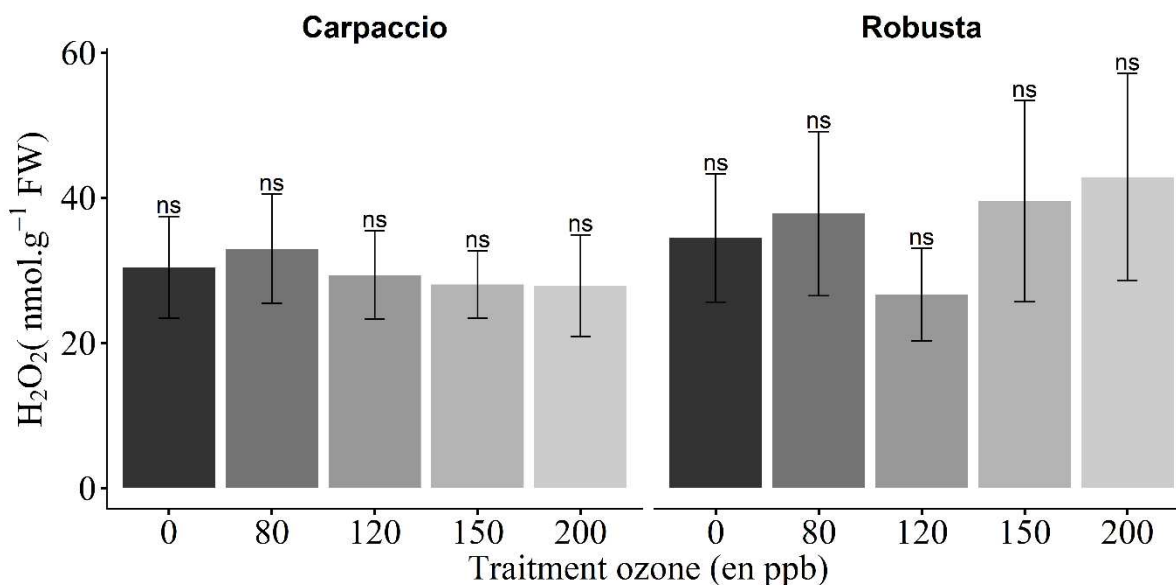


Figure 30 : Détermination du contenu en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). La détermination a été réalisée à la fin de l'expérimentation pour les deux génotypes, Carpaccio et Robusta, soumis à 5 traitements O₃ de 0, 80 ,120 150 pendant 12 jours et 200 ppb pendant 8 jours.

III.4. Discussion

III.4.1. Différences génotype-spécifiques

Les deux génotypes Carpaccio et Robusta se distinguent l'un de l'autre par des différences spécifiques importantes. En termes de croissance, Carpaccio a une croissance en hauteur nettement plus importante que Robusta. Cette différence de vitesse de croissance donne à voir de jeunes arbres de taille très différentes pour le même âge. Carpaccio présente également plus de feuilles que Robusta. Ces différences de croissance étaient d'ailleurs déjà rapportées dans la thèse de Dumont (2013). Une autre différence génotypique spécifique importante déjà signalée (Dumont, 2013) concerne les teneurs en chlorophylle : les feuilles suivies de Robusta tendent à contenir plus de chlorophylles par unité de surface que celles du génotype Carpaccio. Ces différences observées pourraient être expliquées par le choix de la feuille mesurée et les différences de développement entre les deux génotypes. En effet, la feuille retenue pour la mesure, si elle est pleinement développée en surface, elle pourrait ne pas mûrir de la même manière. Chez Carpaccio, du fait d'une croissance rapide, les feuilles pourraient mettre plus de temps pour se développer que chez Robusta, qui croît moins vite. Il en résulterait un temps de maturation des feuilles plus long pour Carpaccio que pour Robusta. Cette différence de maturation peut impacter la réponse à l'O₃ à l'échelle de la feuille. Probablement en lien avec les teneurs en chlorophylle, l'assimilation nette pour le CO₂ est plus élevée chez Robusta. Ces

différences spécifiques entre les deux géotypes doivent être prises en compte lors de l'interprétation de leur sensibilité à l'O₃.

III.4.2. Des différences de réponse à l'O₃ ?

Pour les deux géotypes, la croissance en hauteur et en diamètre n'a pas été affectée par l'O₃. Par contre, la biomasse totale a diminué, que ce soit pour Carpaccio ou Robusta. En effet, celle-ci est dépendante du nombre de feuilles. Or, on observe une chute de feuilles sous O₃ pour les deux géotypes, l'importance de cette chute étant proportionnelle à la concentration d'O₃ à laquelle les peupliers étaient exposés. Dans les thèses de Dghim (2012) et Dumont (2013), la chute des feuilles à 120 ppb avait été un argument déterminant de la sensibilité de Robusta. En testant plusieurs doses d'O₃, nous nous attendions donc à observer des dommages croissant avec l'augmentation des concentrations et une différence entre géotypes. Il s'avère, en comparant les différentes doses d'O₃, que la chute des feuilles n'est peut-être pas un aussi bon déterminant que précédemment estimé. En effet, Robusta est plus affecté que Carpaccio à 200 ppb, mais moins à 150 ppb. La réponse à l'O₃ par la chute des feuilles pour un géotype donné semble donc être dose dépendante.

De plus, nos résultats montrent des modifications d'échanges gazeux chez les deux géotypes. Ainsi, la conductance stomatique diminue sous O₃ et de manière plus importante en fonction de la croissance des concentrations en O₃. Néanmoins, Carpaccio tend à davantage fermer ses stomates que Robusta. Cette observation est en accord avec les thèses de Dghim (2012) et Dumont (2013). Il est intéressant de noter également que la fermeture des stomates chez Carpaccio est proportionnelle à la concentration d'O₃, résultant en un POD₀ identique pour les traitements 80, 120 et 150 ppb. En parallèle de cette fermeture importante des stomates, la photosynthèse diminue. Cette diminution est d'ailleurs plus importante chez Carpaccio que Robusta, ce qui pourrait être dû à une limitation plus importante des entrées de CO₂ chez Carpaccio. Enfin, pour les deux géotypes la baisse d'assimilation est accompagnée, chez les deux géotypes, d'une baisse de chlorophylles, due à de la dégradation ou à une diminution de la biosynthèse de ces pigments (Knudson et al., 1977).

Par ailleurs, il est connu que les anthocyanes, des pigments solubles dans l'eau et dérivés de flavonoïdes (composés phénoliques) via la voie de l'acide shikimique (Chalker-Scott, 2018), assurent un rôle de photoprotection lors de l'ontogenèse des feuilles (Hughes et al., 2018). C'est ainsi que dans les feuilles jeunes, la lumière est en excès par rapport à la capacité photosynthétique des chloroplastes immatures. Les anthocyanes dissipent l'excès d'énergie jusqu'à ce que les chlorophylles soient produites dans des chloroplastes matures. En condition

de développement normal, les anthocyanes vont diminuer lors de la synthèse des chlorophylles (Hughes et al., 2018). Cette observation est confirmée par nos résultats dans le traitement air filtré (0 ppb d'O₃). Cependant en présence d'O₃, les teneurs en anthocyanes diminuent moins rapidement au cours du développement de la feuille. En parallèle, les chlorophylles augmentent moins que chez le traitement contrôle, que ce soit à cause d'une dégradation due au stress oxydant ou d'une diminution de la synthèse des chlorophylles. Or, cette diminution de l'assimilation peut entraîner un excès d'énergie lumineuse. Les anthocyanes ont également un rôle antioxydant, notamment dans le cas d'expositions longues (Nagata et al., 2003). Les teneurs en anthocyanes de Robusta augmentent d'ailleurs à 200 et 150 ppb. Cette augmentation peut être le résultat de la mise en place de réponses de détoxification en réaction à l'O₃.

Les flavonols, enfin, appartiennent à la famille des flavonoïdes et sont des composés phénoliques antioxydants (Agati et al., 2012). Nos résultats montrent une présence plus importante de flavonols sur la face abaxiale de la feuille. En effet, si les flavonols augmentent sur les deux faces en présence d'O₃, l'augmentation est plus importante sur la face inférieure. Dans les travaux précédents, il avait été montré que pour Carpaccio et Robusta, la fermeture des stomates de la face supérieure est plus importante sous O₃ (Dumont, 2014). Les feuilles de peupliers étant amphistomatiques (i.e. les stomates sont présents sur les deux faces), l'augmentation significative de la présence de flavonols sur la face inférieure de la feuille pourrait donc être due à un flux d'O₃ entrant plus important, et donc à un stress oxydant plus fortement subi par cette même face.

De manière générale, la différence de flux d'O₃ entrant entre les deux génotypes permettrait d'expliquer partiellement les différences observées au niveau des flavonols et des anthocyanes. A flux d'O₃ entrant égaux, le contenu est identique entre les deux génotypes. Ainsi, Robusta ayant un POD₀ plus élevé que Carpaccio à un même temps d'exposition à l'O₃, ses mécanismes antioxydants sont tout simplement stimulés plus précocement.

Ces conclusions auraient pu être appuyées par ceux du dosage d'H₂O₂, mais la trop forte variabilité des résultats obtenus ne nous permet pas de les exploiter. Cette variabilité peut être due à la sensibilité de l'H₂O₂ à différentes conditions expérimentales ou à l'interaction avec les métabolites antioxydants, comme décrits dans la section II.2.7.2.a du Matériels et Méthodes. De plus, l'ordre de grandeur des valeurs obtenues est relativement faible par rapport à ceux présentés dans d'autres travaux, ces derniers donnant à voir une grande variabilité (Queval et al., 2008).

III.4.3. Deux stratégies différentes ?

Des marqueurs de la sensibilité des deux génotypes à l'O₃ sont présents : l'apparition de nécroses, la chute des feuilles, les modifications des échanges gazeux et des teneurs en pigments. Néanmoins, les deux génotypes semblent montrer des stratégies de réponse différentes face au gaz phytotoxique (Figure 31). En effet, les échanges gazeux et les pigments répondent au POD₀. La teneur en chlorophylles et l'assimilation nette de CO₂ diminue donc avec l'augmentation du POD₀ et il est intéressant de noter que la relation diffère pour les deux génotypes. Pour Carpaccio, la réponse est d'éviter le stress créé par l'O₃. La fermeture des stomates est proportionnelle à la concentration à laquelle le peuplier est exposé, ce qui correspond à une stratégie d'évitement. Celle-ci semble très efficace à court terme pour limiter le stress oxydant, mais la diminution de la photosynthèse pourrait être déterminante en impactant la croissance sur le long terme. Pour Robusta, la fermeture des stomates est moins importante en présence d'O₃. L'entrée du gaz se fait alors plus facilement, mais l'assimilation de carbone reste relativement élevée. Bien que Robusta fasse face à un stress oxydant plus important, l'assimilation du carbone est donc maximisée. Par ailleurs, si le génotype semble plus sensible vis-à-vis de la chute des feuilles, la diminution de la surface foliaire représente également une forme d'évitement. Cela soulève des interrogations concernant la remobilisation des ressources des feuilles les plus matures.

Fort de ces constats, nous pouvons donc en déduire qu'en fonction de la durée et de la dose d'exposition à l'O₃, les stratégies des deux génotypes n'auront pas la même efficacité. Face à un stress aigu dû à une forte exposition à l'O₃, Carpaccio apparaît plus « tolérant » que Robusta, car il évite plus rapidement le stress. Mais face à un stress chronique (exposition à de faibles concentrations d'O₃ sur un pas de temps long), Robusta semble plus résistant que Carpaccio, puisqu'il arrive à maintenir une meilleure assimilation de CO₂ pour la photosynthèse et que ses pertes de biomasse, de chlorophylles ou de croissance ne sont pas pour autant plus importantes que Carpaccio. Ce dernier, s'il était exposé à un stress long, pourrait alors souffrir d'une limitation de la photosynthèse. Dans la réponse à long terme, la mise en place de mécanismes de détoxification efficaces pourrait donc être déterminante. D'après l'évolution des teneurs en flavonols et anthocyanes, la mise en place de tels mécanismes semble être dose dépendante chez le peuplier. L'induction des défenses antioxydantes est un aspect essentiel de la stratégie de réponse à un stress, mais nécessite une réallocation des ressources. Par conséquent, la sensibilité/résistance d'une plante est principalement déterminée par sa capacité à maintenir la photosynthèse, qui elle-même permet la croissance du végétal et le maintien des mécanismes

de défense, mais elle peut aussi être liée à une remobilisation des ressources qui, sur un temps court, permettront à la plante de résister. S'assurer de la résistance des plantes à un facteur environnemental, et donc assurer leur croissance et la production de biomasse dans des conditions de stress, représente un enjeu économique réel pour la sylviculture et l'agriculture. Pour autant, il convient de mettre en perspective la réponse de la plante observée dans cette partie. En effet, dans la nature, un végétal est rarement soumis à un facteur de stress seul. Les modèles climatiques prévoient non seulement une augmentation des concentrations d'O₃ troposphérique, mais également des périodes de sécheresse de plus en plus fréquentes et sévères dans le futur. Or, l'un des mécanismes de défense de la plante en réaction à un déficit hydrique est la fermeture des stomates, également en jeu dans les stratégies mises en place par la plante face à l'O₃. Dès lors, il convient d'étudier l'impact qu'ont ces facteurs de stress simultanément ou successivement sur les mécanismes de réponse de la plante.

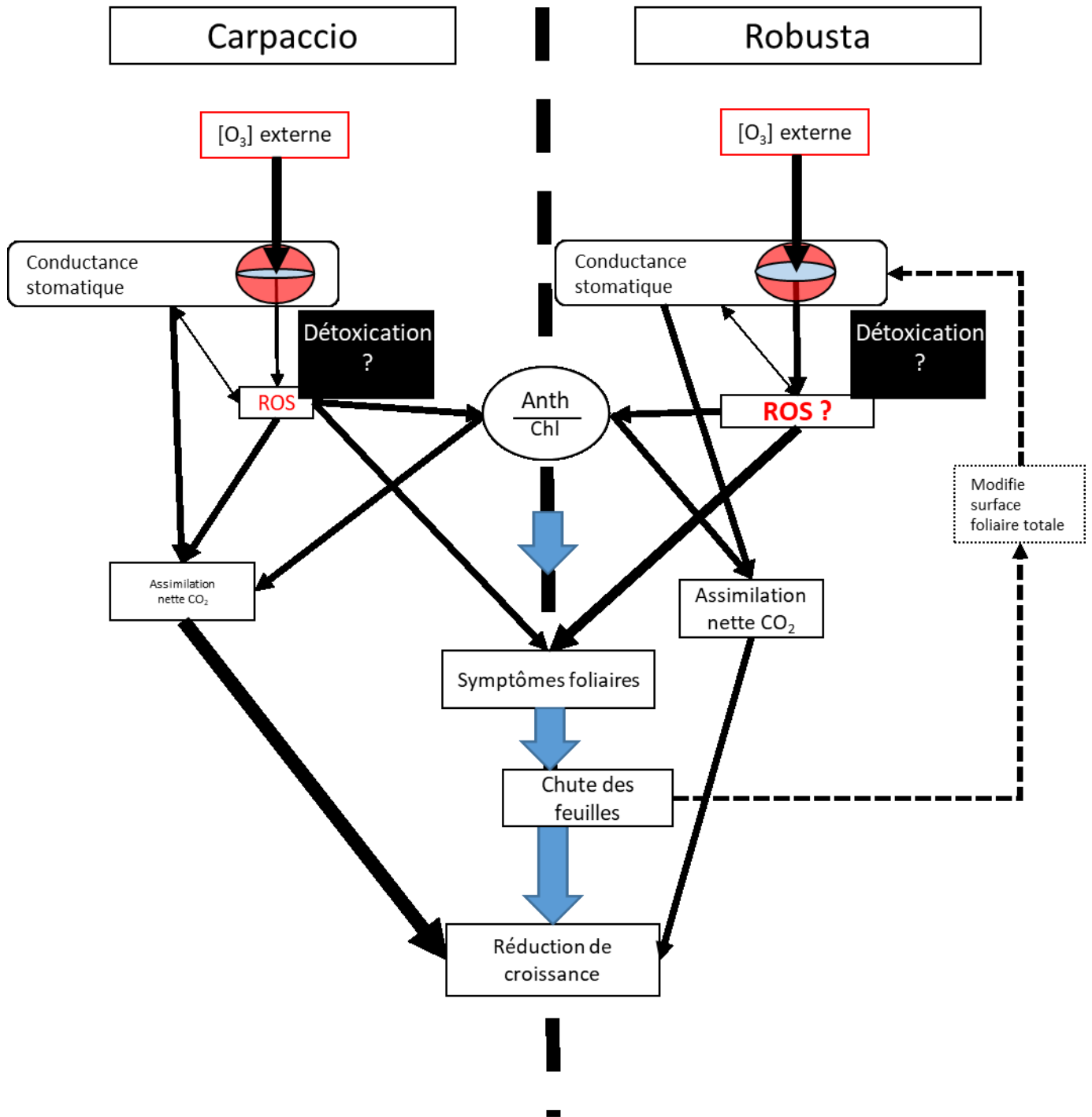


Figure 31 : Bilan schématique de la différence de réponse des deux génotypes de peupliers Carpaccio et Robusta soumis à l'O₃. La taille des flèches illustre la force de l'effet. La taille du texte symbolise une augmentation ou une diminution du paramètre. Les paramètres représentés sur la ligne pointillée au centre du schéma ne permettent pas de différencier les deux génotypes.