



Rapport de stage Master 2 Biologie des Organismes et Population et des Ecosystèmes

Université d'Orléans

Année 2013 / 2014

## **Résistance à la cavitation chez le pin maritime : définition d'un mode opératoire, application à la mesure de la variabilité entre familles**

**Marjolaine COURONNE**

Encadrée par Philippe ROZENBERG

INRA, Unité d'Amélioration Génétique et Physiologie Forestière

2163 avenue de la pomme de pin – CS 40001 – Ardon 45075 Orléans cedex 2

### **Résumé**

Dans le contexte actuel de réchauffement climatique, le pin maritime, d'un grand intérêt sylvicole, a été touché par des phénomènes de dépérissements. Nous cherchons quel est son potentiel d'adaptation à la sécheresse par l'étude de sa résistance à la cavitation. Un prototype automatisé de mesure de la résistance à la cavitation utilisant la méthode d'injection d'air, l'Embolitron, a été développé et testé par l'INRA et l'INTA. Les objectifs de cette étude sont 1 : mettre au point un mode opératoire de mesure de la résistance à la cavitation à l'aide de l'Embolitron, 2 : comparer deux outils de mesure de résistance à la cavitation, le Cavitron et l'Embolitron, 3 : déterminer de façon préliminaire s'il existe une variabilité de la résistance à la cavitation entre six familles de pin maritime. Le mode opératoire mis au point nous a permis de mettre en évidence une variabilité génétique significative de la résistance à la cavitation chez le pin maritime. En revanche la comparaison Cavitron et Embolitron ne permet pas de conclure de façon sûre. Les essais réalisés permettent d'imaginer et de construire un prototype mesurant plus d'échantillons par unité de temps, ce qui permettra d'estimer plus précisément le potentiel d'adaptation à la sécheresse.

*Mots clés : Potentiel d'adaptation, Cavitron, Embolitron, prototype automatisé, sécheresse*



Rapport de stage Master 2 Biologie des Organismes et Population et des Ecosystèmes

Université d'Orléans

Année 2013 / 2014

## **Résistance à la cavitation chez le pin maritime : définition d'un mode opératoire, application à la mesure de la variabilité entre familles**

**Marjolaine COURONNE**

Encadrée par Philippe ROZENBERG

INRA, Unité d'Amélioration Génétique et Physiologie Forestière

2163 avenue de la pomme de pin – CS 40001 – Ardon 45075 Orléans cedex 2

### **Résumé**

Dans le contexte actuel de réchauffement climatique, le pin maritime, d'un grand intérêt sylvicole, a été touché par des phénomènes de dépérissements. Nous cherchons quel est son potentiel d'adaptation à la sécheresse par l'étude de sa résistance à la cavitation. Un prototype automatisé de mesure de la résistance à la cavitation utilisant la méthode d'injection d'air, l'Embolitron, a été développé et testé par l'INRA et l'INTA. Les objectifs de cette étude sont 1 : mettre au point un mode opératoire de mesure de la résistance à la cavitation à l'aide de l'Embolitron, 2 : comparer deux outils de mesure de résistance à la cavitation, le Cavitron et l'Embolitron, 3 : déterminer de façon préliminaire s'il existe une variabilité de la résistance à la cavitation entre six familles de pin maritime. Le mode opératoire mis au point nous a permis de mettre en évidence une variabilité génétique significative de la résistance à la cavitation chez le pin maritime. En revanche la comparaison Cavitron et Embolitron ne permet pas de conclure de façon sûre. Les essais réalisés permettent d'imaginer et de construire un prototype mesurant plus d'échantillons par unité de temps, ce qui permettra d'estimer plus précisément le potentiel d'adaptation à la sécheresse.

*Mots clés : Potentiel d'adaptation, Cavitron, Embolitron, prototype automatisé, sécheresse*

## **ABSTRACT**

In a global warming context, maritime pine, an important forest production species, is suffering diebacks in some parts of its natural range. Our objective is to study its potential of adaptation to drought through the study of resistance to cavitation. An automated prototype of a cavitation resistance measurement device based on the air injection method, the Embolitron, has been developed by INRA and INTA. The objectives of this study are: 1. to develop an operating method for the measurement of cavitation resistance with the Embolitron, 2. To compare the Embolitron cavitation resistance measurements with those obtained with the Cavitron, 3. To study the variability of cavitation resistance between six families of maritime pine. Thanks to the operating method developed, we found a significant genetic variation for cavitation resistance in maritime pine. By contrast, the comparison of the Embolitron and Cavitron did not lead to any clear trend. This study provides useful elements to imagine and construct a prototype able to measure more samples per time unit and to more precisely estimate the adaptation potential to drought.

*Keywords : Adaptation potential, Cavitron, Embolitron, operating method, drought*

## **INTRODUCTION**

Le rapport IPPC 2013 constate une intensification du réchauffement climatique sur tout le globe. Des sécheresses plus nombreuses et plus intenses pourraient en être les conséquences (IPCC 2013). Des dépérissements sont déjà observés depuis la sécheresse de 2003, en particulier dans des forêts de douglas en France (Bréda et al. 2004) et à l'extrémité sud de l'aire de répartition du pin maritime (Sánchez-Salguero et al., 2012).

En climat tempéré les plantes trouvent généralement dans le sol l'eau dont elles ont besoin. La transpiration induit une pression négative qui se propage jusqu'aux racines et provoque l'aspiration de l'eau du sol. Sous forme de sève brute, cette eau traverse un tissu spécial avant d'atteindre les feuilles, le xylème. Le xylème des gymnospermes est principalement composé de trachéides. Ce sont des cellules mortes dont les parois sont percées de ponctuations qui sont des voies de passage par lesquelles la sève circule d'une trachéide à l'autre. Les

ponctuations des gymnospermes possèdent un torus qui n'existe pas chez les angiospermes. Ce torus sert de valve de sécurité en scellant l'ouverture de la ponctuation quand la différence de pression est trop forte entre les trachéides fonctionnelles et embolisées. La structure des ponctuations joue un rôle clé dans la résistance à la cavitation chez les conifères (Cochard 2006; Lamy 2012).

En période de sécheresse (lorsque les réserves en eau du sol passent sous un seuil de déficit hydrique (correspondant à 40% de la capacité au champ)), la transpiration s'intensifie dans un premier temps, ce qui augmente la tension exercée sur la colonne d'eau, puis diminue quand les stomates se ferment et réduisent les pertes en eau (Lamy, 2012). Pendant la phase d'augmentation de la transpiration, l'arbre puise plus d'eau dans le sol. La conductivité hydraulique (K) exprime l'aptitude des conduits (ici les trachéides) à laisser passer un fluide sous l'effet d'un gradient de pression. Différentes sources de résistance, des racines aux feuilles, s'opposent à cette conductivité. La relation entre la pression du xylème et la perte de conductivité permet d'établir une courbe appelée courbe de vulnérabilité (ou de résistance) à la cavitation, qui représente le taux d'embolie (%) en fonction des tensions xylémiennes (MPa). Durant une sécheresse, la quantité d'eau dans le sol est très faible, la demande atmosphérique augmente, la tension devient de plus en plus négative dans le xylème. Des bulles d'air se forment dans la sève brute et les colonnes d'eau cavitent. Si la sécheresse persiste, l'embolie se propage au sein des trachéides via les ponctuations. Ce mécanisme de propagation n'a pas encore été clairement compris et décrit. Cependant quatre hypothèses ont été formulées (Cochard 2006). La première implique une rupture du ménisque air / eau au niveau de la marge de la ponctuation. On sait maintenant que cette hypothèse est impossible car les pores de la marge sont trop gros : les trachéides caviteraient à des pressions trop élevées. Une deuxième hypothèse est la rupture des microfibrilles de cellulose sous l'effet des fortes tensions. La troisième propose un étirement plastique faisant sortir le torus en dehors de l'ouverture de la ponctuation. La dernière hypothèse est celle d'un mauvais scellement entre le torus et la paroi. Des études récentes ont même montré que le torus était poreux et donc pouvait laisser passer l'air (Jansen et al., 2012).

Différentes méthodes ont été développées pour mesurer la résistance à la cavitation. La méthode de dessiccation à l'air (« bench method ») repose sur le principe du séchage de l'échantillon à l'air. La mesure de conductivité est réalisée au fur et à mesure du séchage à l'aide d'une colonne d'eau. L'état hydrique de l'échantillon est décrit par son potentiel hydrique mesuré avec une chambre à pression (Sperry 1985). Cette méthode demande un

temps de séchage qui peut être long et permet difficilement de contrôler les variables environnementales. La méthode par injection d'air (« air injection method ») (Ennajeh et al. 2011) consiste à injecter un gaz neutre sous pression dans l'échantillon. L'augmentation de la pression provoque l'apparition et la propagation de la cavitation dans l'échantillon. C'est sur ce principe qu'est basé l'Embolitron (développé par l'INRA Val de Loire à Orléans et par l'INTA de Bariloche (Argentine)), le prototype d'un appareil de mesure de la vulnérabilité à la cavitation utilisé dans cette étude : l'Embolitron est une version automatisée d'un dispositif à injection d'air. Existe également la méthode de détection acoustique qui permet de mesurer la densité et l'intensité de signaux sonores créés par l'apparition des bulles d'air de la cavitation dans les conduits. Cette méthode délicate à mettre en œuvre ne permet pas encore de travailler en routine. Enfin le Cavitron (Cochard 2002; Cochard et al. 2005) est un appareil reposant sur l'utilisation de la force centrifuge, qui génère des pressions négatives dans l'échantillon provoquant l'apparition et la propagation de la cavitation. Les échantillons ont des longueurs fixes déterminées par le diamètre du disque de la centrifugeuse. Selon les méthodes, différentes parties du végétal peuvent être utilisées : racines, baguettes découpées dans le tronc, branches, pétioles ou feuilles, du semis à l'arbre adulte.

Delzon et al (2010) a estimé à grande échelle (40 espèces de conifères) la variation interspécifique de la résistance à la cavitation. Le  $P_{50}$  (valeur de pression du xylème induisant 50% de perte de conductivité) varie de - 3 MPa pour les espèces les moins résistantes comme le cyprès chauve (*Taxodium distichum*) à -12 MPa pour les espèces les plus résistantes comme le cyprès blanc (*Cupressus glabra*) (voir figure en annexe 1). Beaucoup d'espèces forestières se distribuent en fonction de leur vulnérabilité à la cavitation, les espèces les plus résistantes occupant les milieux les plus secs.

Une même espèce peut également se distribuer dans des régions de climats diversifiés avec de fortes variations de disponibilité en eau, ce qui suggère l'existence d'adaptations locales. Pour évaluer le potentiel d'adaptation à la sécheresse, il faut estimer la variation génétique et l'héritabilité de caractères adaptatifs pertinents. Les variables calculées à partir des courbes de vulnérabilité à la cavitation sont considérées comme des caractères importants pour étudier la résistance à la sécheresse chez les arbres forestiers. L'estimation de la variation génétique et de l'héritabilité nécessitent la mesure d'un grand nombre d'individus et d'unités génétiques. Les techniques actuelles de mesure de la vulnérabilité à la cavitation ont toutes en commun

d'être très consommatrices de temps, ce qui explique que peu de résultats sont disponibles aujourd'hui. L'Embolitron a pour ambition de faciliter et d'accélérer la mesure de la résistance à la cavitation afin de permettre plus facilement l'estimation du potentiel d'adaptation à la sécheresse d'espèces forestières. Les rares résultats obtenus pour le pin maritime (Corcuera et al. 2011; Lamy et al. 2011) sont variables selon les auteurs, les méthodes et les techniques utilisées (Cavitron et injection d'air principalement), les différentes populations et les organes utilisés (troncs et branches).

L'espèce modèle de cette étude est le pin maritime (*Pinus pinaster*, Aiton), espèce d'un grand intérêt économique très utilisée en sylviculture. Avec les phénomènes de dépérissements et les hausses de températures prédites on cherche donc à savoir quel est son potentiel d'adaptation face aux sécheresses (Lamy et al. 2011).

Les objectifs de cette étude seront de :

- i)* Utiliser l'Embolitron à relativement grande échelle (120 branches) pour la première fois en France afin de mettre au point un mode opératoire pour la mesure de la résistance à la cavitation sur branches à l'aide de l'Embolitron chez le pin maritime.
- ii)* Comparer les mesures obtenues avec l'Embolitron avec celles obtenues avec le Cavitron.
- iii)* Déterminer s'il existe une variabilité de la résistance à la cavitation entre six familles de pin maritime

Ce travail s'inscrit dans le projet d'étude de l'adaptation des espèces forestières face aux changements climatiques de l'Unité de recherche Amélioration Génétique et Physiologie Forestière de l'INRA. Le but de ce projet est de contribuer au développement de méthodes et d'outils de mesure de la résistance à la sécheresse et à la compréhension des mécanismes d'adaptation des arbres forestiers à la sécheresse. Ces résultats seront destinés à être utilisés dans les programmes d'amélioration génétique et d'aide à la sylviculture.

## MATERIELS ET METHODES

### Matériel végétal :

Cette étude a été réalisée sur un dispositif expérimental constitué de neuf familles (1046, 1058, 1062, 2082, 1034, 1066, 2002, 2034 et 1049) de pin maritime avec 20 arbres par famille. Ces pins maritimes ont été fournis par la société espagnole de production de plants forestiers TRAGSA. Ces familles sont originaires d'un verger à graines situé dans le nord de l'Espagne et constitué d'arbres sélectionnés originaires de Galice (Espagne). Les familles ont été multipliées végétativement par bouturage en octobre 2009, puis élevées en Espagne pour être ensuite replantées en containers dans une serre à l'INRA Orléans en 2011. Les arbres et les familles ont été distribués aléatoirement dans deux traitements situés de part et d'autre de la serre, respectivement sur les côtés est et ouest, et nommés EST et OUEST dans la suite (Annexe 1).

### Précédente étude : Avril à mai 2011 INRA Val de Loire

Lors d'une précédente étude, (avril à mai 2011), deux traitements ont été appliqués : WW (« Well Watered ») qui correspond à une condition hydrique non limitante où le sol est maintenu proche de la capacité au champ, installé côté est de la serre, et WS (« Water Stress ») côté ouest où les arbres ont subi un déficit hydrique modéré (maintenu à 40% de la capacité au champ avec contrôle par mesure directe dans les pots) par arrêt d'arrosage. Cette étude s'est déroulée sur quatre semaines. La première semaine était une semaine témoin où les deux traitements WW et WS étaient maintenus en condition hydriques non limitantes. Quatre familles choisies aléatoirement (1046, 1058, 1062 et 2082) ont été mesurées durant les quatre semaines de l'expérimentation : A (assimilation nette de CO<sub>2</sub>), gs (conductance stomatique) et HR (humidité relative) (Berthier 2010 /2011).

En août 2013, l'arrosage a été complètement arrêté pendant trois semaines, toujours dans le traitement WS (OUEST), jusqu'à ce qu'apparaissent des symptômes de dépérissement : coloration rouge et premières chutes d'aiguilles sur certains arbres. L'arrosage a alors été rétabli.

En 2014, de février à avril, nous avons réalisé des mesures de vulnérabilité à la cavitation sur certains arbres du dispositif. Nous avons établi un programme de mesure compatible avec la durée du stage et les caractéristiques de l'Embolitron et des autres mesures à réaliser. Nous avons décidé d'étudier six familles parmi les neuf de l'étude 2011 (1046, 1058, 1062, 2082, 2034 et 2002) à raison de cinq arbres par famille. Nous avons choisi les arbres sur la base d'une notation sanitaire réalisée le 16 septembre 2013, basée sur la présence et la couleur des aiguilles. Dans le traitement OUEST WS nous avons choisi en priorité les individus ayant montré les symptômes de sécheresse les plus marqués et du côté EST WW nous avons choisi au contraire les arbres présentant le moins de symptômes de dépérissement. Sur chaque arbre étudié nous avons choisi trois branches : deux destinées à être mesurées par l'Embolitron à l'INRA et une destinée à être mesurée par le Cavitron à l'INRA Clermont-Ferrand. Nous avons représenté le plan de la serre avec la représentation graphique de l'état sanitaire des arbres en septembre 2013 en annexe 2.

### Les variables mesurées :

#### 1. Résistance à la cavitation

L'Embolitron est un appareil proposant une version automatisée de la méthode de mesure de la vulnérabilité à la cavitation par injection d'air (« air injection method »). Le prototype, développé conjointement par l'INRA Val de Loire à Orléans et l'INTA Bariloche (Argentine), permet d'induire une embolie par augmentation de pression tout en mesurant les modifications du débit d'eau passant dans l'échantillon. Toutes les opérations sont pilotées par un automate et toutes les variables sont mesurées et enregistrées par des capteurs connectés à une mémoire informatique. Le gaz neutre choisi pour induire petit à petit l'embolie est l'azote. Le mode opératoire comprend trois étapes : la mise en pression, la stabilisation et les mesures.

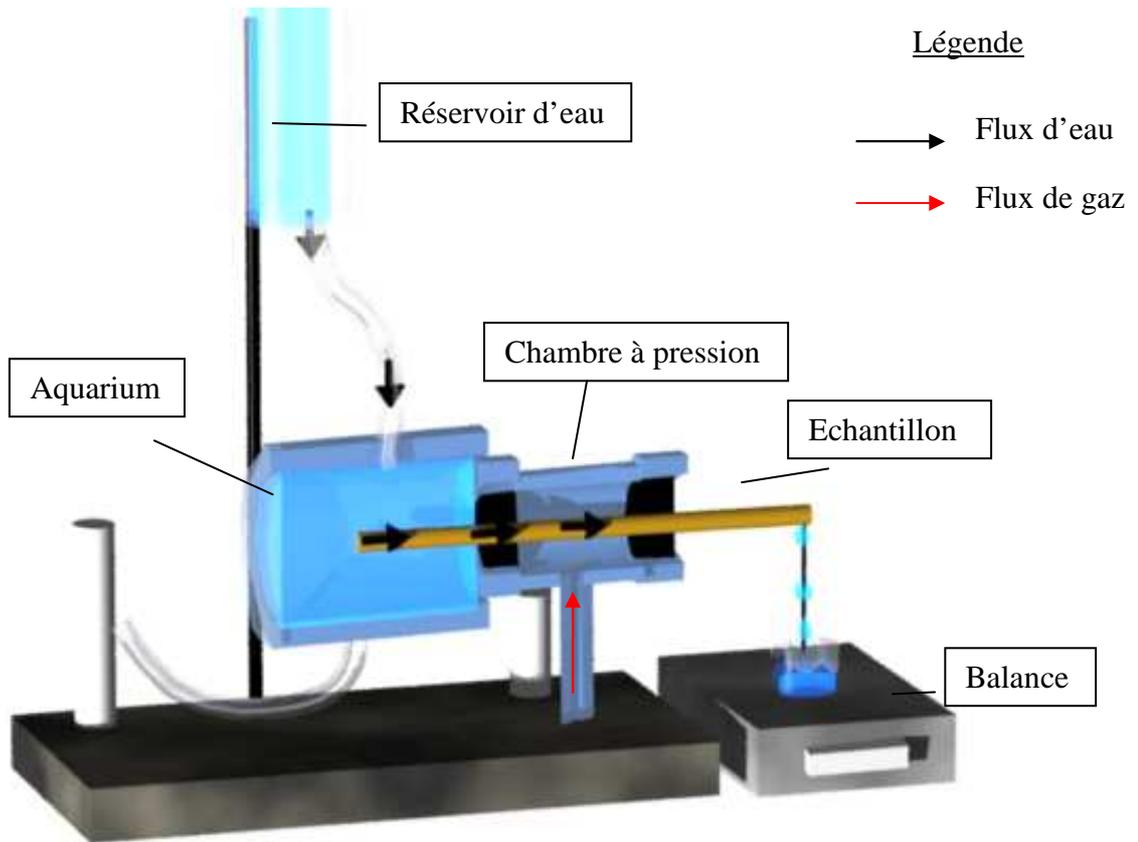
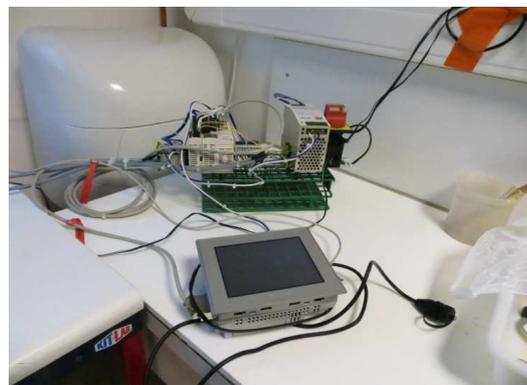


Figure 1 : Schéma de l'Embolitron



a



b

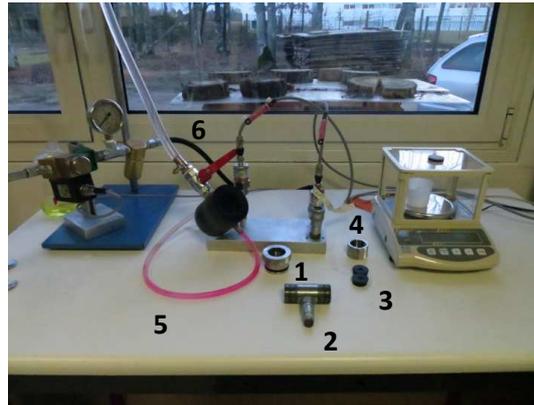


Figure 2 : a) Embolitron monté (avec gouttière en plastique et fil de cuivre permettant au flux d'eau de tomber délicatement dans le récipient sur la balance de précision), b) ordinateur gérant les protocoles et mesure, c) Embolitron démonté (1 : écrou n° 1, 2 : chambre à pression, 3 : joint en caoutchouc, 4 : écrou n° 2, 5 : capteur d'eau, 6 : vanne d'eau)

Les branches ont été choisies en fonction de leur diamètre et de leur longueur d'entre-nœuds. Nous avons retiré l'écorce et le cambium car il pourrait y avoir circulation d'eau entre l'écorce et le cambium, ce qui biaiserait la mesure de conductivité. La branche est enfermée dans la chambre à pression (Fig 1), fermée hermétiquement par deux joints en caoutchouc, où le gaz sous pression diffuse. L'augmentation par paliers de la pression provoque l'apparition puis la propagation de la cavitation dans la branche. L'eau arrive dans l'aquarium (Fig 1) en flux continu et sous pression constante. Elle circule dans la branche, passant par les trachéides non cavités, puis coule dans un récipient posé sur le plateau d'une balance connectée au dispositif d'enregistrement de données. Les pesées enregistrées permettent de calculer le débit à intervalles de temps réguliers correspondant aux paliers d'augmentation de la pression dans la chambre. La courbe dessinée par la relation entre la pression et le débit est analogue à une courbe de vulnérabilité à la cavitation.

Notre premier travail a été de mettre au point le protocole expérimental (mode opératoire) de l'Embolitron. Pour cela nous avons d'abord utilisé l'Embolitron sur des échantillons de douglas, espèce sur laquelle des mesures avaient déjà été réalisées en Argentine. Nous avons principalement fait varier les temps de mise en pression, de stabilisation et le nombre de paliers et observé la forme des courbes obtenues. Le temps de mesure était fixé à deux minutes.

Le Cavitron est un instrument de mesure développée par l'INRA (PIAF Clermont-Ferrand) permettant d'induire l'embolie par la force centrifuge (Cochard 2002; Cochard et al. 2005).

Les échantillons destinés au Cavitron ont été choisis en fonction de leur longueur qui doit correspondre au diamètre du disque du Cavitron utilisé (27,5 cm). Comme pour l'Embolitron, nous avons retiré l'écorce et le cambium des échantillons. La force centrifuge induit un gradient de pression positif dans le sens de circulation de l'eau entre les extrémités de la branche. Le gradient de pression varie en fonction de la vitesse de rotation et provoque l'apparition et la diffusion de la cavitation. On mesure la diminution du débit d'eau dans la branche en fonction de l'augmentation de la vitesse de rotation et donc de la force centrifuge. La relation entre la force centrifuge et le débit permet de construire une courbe analogue à une courbe de vulnérabilité à la cavitation. Que ce soit à partir des données mesurées sur Embolitron ou Cavitron, nous calculons la PLC (« Percent Loss conductivity »), qui, mise en relation avec les variations de pression, permet de dessiner les courbes de vulnérabilité à la cavitation. Une fonction sigmoïdale de Boltzmann permet de modéliser la forme de ces courbes et de calculer trois variables extraites de ces courbes, les pourcentage de perte de conductivité à trois niveaux de pression :  $P_{12}$ ,  $P_{50}$  et  $P_{88}$  (qui sont les valeurs de pression pour lesquelles l'échantillon a perdu 12%, 50% et 88% de sa conductivité), ainsi que la pente maximale de chaque courbe de vulnérabilité (calculée selon Domec and Gartner (2001)).

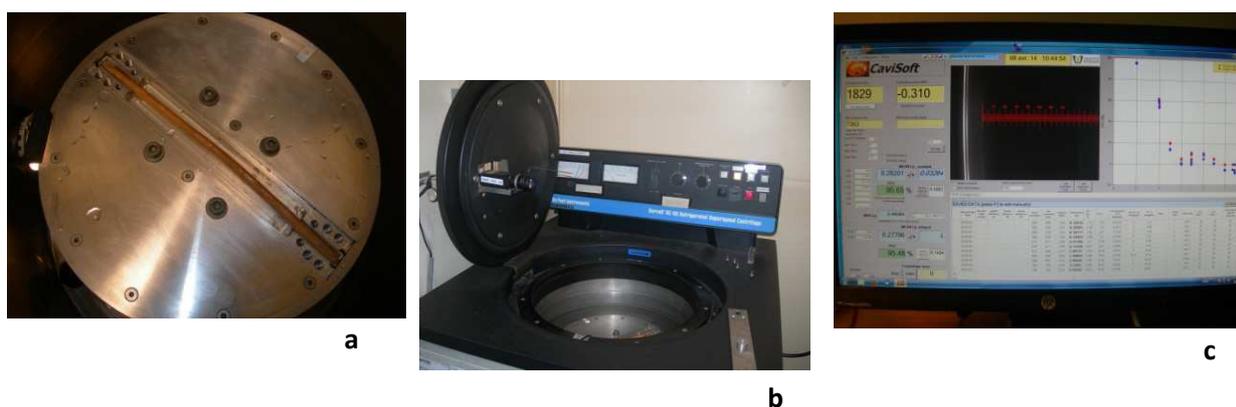


Figure 3 : Rotor avec échantillon en place (a), Cavitron (b) et logiciel CaviSoft (version 3.3.0, Université de Bordeaux) (c)

## 2. Bois de compression et moelle

Des observations suggèrent que la quantité de bois de compression ou de moelle dans une branche pourrait affecter la mesure de la vulnérabilité à la cavitation (Com. pers. Dalla-Salda).

Le bois de compression se forme sur la face inférieure comprimée de la branche chez les gymnospermes, sous l'effet de la force correspondant au poids de la branche. Le bois de compression est un bois plus dense avec des parois cellulaires plus épaisses. La moelle se trouve au centre de la branche et du tronc et correspond aux restes du xylème primaire. La proportion de bois de compression et la proportion de moelle dans chaque branche ont été mesurées sous loupe binoculaire sur des coupes transversales des branches de pin maritime cavitées par l'Embolitron et le Cavitron. Nous avons estimé la surface totale de la coupe transversale, la surface de bois de compression et la surface de moelle à l'aide du logiciel d'analyse d'image ImageJ (Rasband, W.S.1997 – 2014) et nous avons calculé la proportion de bois de compression et de moelle dans chaque branche.

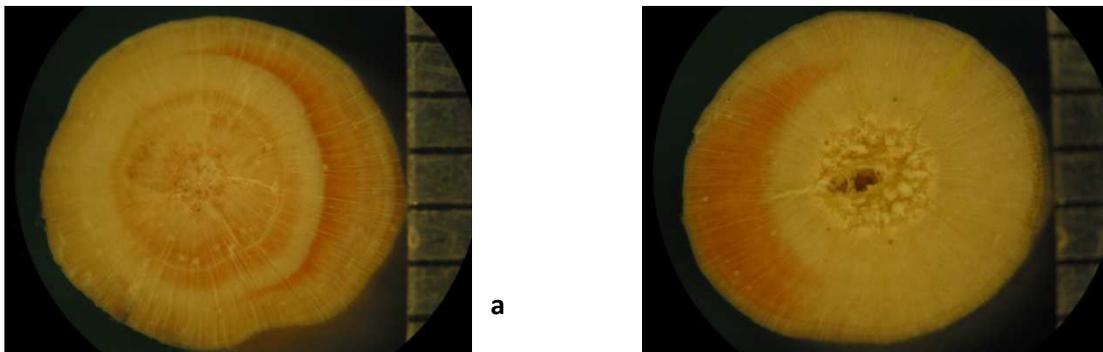


Figure 3 : Photos des coupes transversales de branches de pin maritime (arbre n°29 : famille 2082 (a), arbre n°35 : famille 1062 (b))

## 3. Longueur et diamètre des échantillons

La longueur et le diamètre de chaque échantillon ont une influence sur la conductivité des branches et affectent donc la mesure de la vulnérabilité à la cavitation. Le nombre de

trachéides dans la branche varie en fonction de sa longueur et de son diamètre. Or la résistance de la branche au passage de l'eau et le débit dépendent du nombre de trachéides traversées. Ces variables ont donc été mesurées afin de déterminer expérimentalement leur effet sur la mesure de vulnérabilité à la cavitation.

### Analyses statistiques :

Nous avons vérifié graphiquement que chaque variable respectait les quatre postulats du modèle linéaire :

- Les erreurs ont une espérance nulle, ainsi le modèle n'est pas biaisé
- Les erreurs ont toute la même variance (homoscédasticité des erreurs)
- Les erreurs sont indépendantes
- Les erreurs suivent une loi normale

Nous avons réalisé des analyses de variance (ANOVA) pour rechercher l'existence de différences significatives entre familles, tout en tenant compte des autres sources de variations pour lesquelles des données étaient disponibles (traitements, bois de compression, proportion de moelle, longueur et diamètre des échantillons), pour les quatre variables hydrauliques ( $P_{50}$ ,  $P_{12}$ ,  $P_{88}$  et pente) ainsi que les relations entre ces variables hydrauliques. Toutes les relations ont été étudiées également à l'aide de coefficients de corrélation et de graphiques.

Pour nos analyses de variances nous avons utilisé les modèles suivant :

$$1. Y_{ij} = \mu + F_i + T_j + (F.T)_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

Le modèle (1) permet de rechercher l'existence de différences significatives entre familles en tenant compte d'une éventuelle relation entre la variable expliquée et le traitement.  $Y$  est la variable observée,  $\mu$  est la moyenne de la population observée,  $F_i$  est l'effet fixe de la  $i^{\text{ème}}$  famille,  $T_j$  est l'effet fixe du  $j^{\text{ème}}$  traitement,  $(F.T)_{ij}$  est l'effet de l'interaction entre famille et traitement,  $A_{oi}$  est l'effet des arbre au sein de chaque famille et  $\varepsilon_{ij}$  est l'erreur aléatoire.

Les modèles 2, 3, 4, 5 et permettent de rechercher respectivement l'effet de la longueur des branches (2), de leur diamètre (3), de la proportion de bois de compression (4) et de la proportion de moelle (5). Le modèle (6) a pour objectif de rechercher s'il existe des différences significatives entre arbres au sein des familles.  $L$  est l'effet branche,  $D$  est l'effet

diamètre, C est l'effet bois de compression, M est l'effet moelle et A est l'effet arbre. Tous ces effets sont fixes.

2.  $Y_{ik} = \mu + F_i + L_k + (F.L)_{ik} + \varepsilon_{ik}$
3.  $Y_{il} = \mu + F_i + D_l + (F.D)_{il} + \varepsilon_{il}$
4.  $Y_{im} = \mu + F_i + C_m + (F.C)_{im} + \varepsilon_{im}$
5.  $Y_{in} = \mu + F_i + M_n + (F.M)_{in} + \varepsilon_{in}$
6.  $Y_{iko} = \mu + L_k + F_i + A_{oi} + \varepsilon_{iko}$

Dans les cas où des différences significatives entre familles ont été mises en évidence, on a utilisé un test de Tuckey pour comparer les moyennes des familles.

Nous avons choisi pour chaque test statistique un risque d'erreur de 5%. Toutes les analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel de programmation et d'analyse statistique de données R, version 3.1.0 (R Development Core Team 2008). Les analyses de variance ont été réalisées avec la fonction aov().

## **RESULTATS**

### **I. Protocole expérimental**

Le mode opératoire que nous avons mis au point est présenté en intégralité dans l'annexe 4. Ce mode opératoire comprend des recommandations particulières à l'Embolitron. Par exemple, il faut accorder une attention particulière au serrage des bouchons de la chambre à pression afin d'éviter l'expulsion de l'échantillon sous pression. La température de la salle et surtout de l'eau doit rester constante pour ne pas changer la viscosité de l'eau et biaiser les mesures. Les branches doivent impérativement rester humides et fraîches afin que la cavitation ne débute pas. La mise en place de l'échantillon est exposée point par point.

Le mode opératoire est caractérisé par une augmentation de pression en neuf paliers avec pour chaque palier des durées de :

- deux minutes de mise en pression dans la chambre

- cinq minutes de stabilisation
- deux minutes de mesure simultanée de la pression dans la chambre et du débit en sortie de la branche

Tableau I : Pressions des neufs paliers

Palier	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Pression(MPa)	0	10	15	20	25	30	35	40	50

Les mesures obtenues avec l'embolitron nous ont permis de construire des courbes de vulnérabilité à la cavitation (Annexe 3).

## II. Comparaison des mesures obtenues avec l'Embolitron avec celles obtenues avec le Cavitron

Tableau II : Corrélations entre variables hydrauliques des courbes de vulnérabilités obtenues à l'aide de l'Embolitron (Emb) et du Cavitron (Cav). Niveau de signification : probabilité <0.001 \*\*\*, entre 0.001 et 0.01 \*\* et entre 0.01 et 0.05 \*.

	P <sub>12</sub>	P <sub>50</sub>	P <sub>88</sub>	pente
r	0.14	-0.18	0.70	0.07
p	0.65	0.55	0.007	0.82

Nous n'avons pas mis en évidence de corrélation significative entre les P<sub>50</sub>, entre les P<sub>12</sub> et entre les pentes des courbes de vulnérabilité à la cavitation obtenues à l'aide de l'Embolitron et du Cavitron. Cependant nous avons pu mettre en évidence des corrélations significatives entre les P<sub>88</sub> des courbes de vulnérabilité à la cavitation obtenues à l'aide de l'Embolitron et du Cavitron. Le nuage de points correspondant est présenté figure 4.

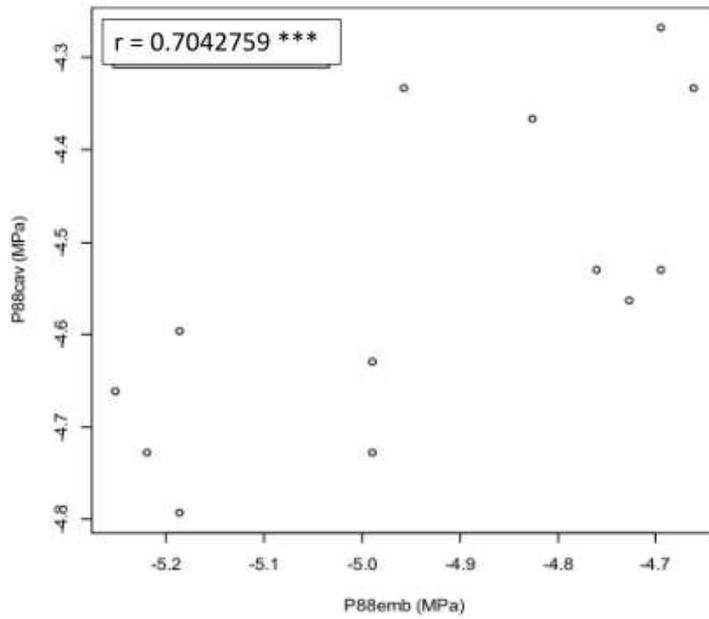


Figure 4 : représentation graphique des valeurs de pente obtenues par l'Embolitron (P88emb) et la Cavitron (P88cav).

### III. Variabilité de la résistance à la cavitation entre six familles de pin maritime

Tableau III : Coefficients de corrélation de Pearson entre les quatre variables hydrauliques. Niveau de signification : probabilité <0.001 \*\*\*, entre 0.001 et 0.01 \*\* et entre 0.01 et 0.05 \*.

	P <sub>12</sub>	P <sub>50</sub>	P <sub>88</sub>	pente
P <sub>50</sub>	0,66 ***			
P <sub>88</sub>	ns	0,45 ***		
pente	-0,81***	-0,44 ***	ns	

L'analyse des corrélations entre ces variables montre une corrélation significative négative et forte entre P<sub>12</sub> et la pente, une corrélation significative positive entre le P<sub>12</sub> et le P<sub>50</sub> et des corrélations significatives moyennes entre P<sub>50</sub> et P<sub>88</sub> et entre P<sub>50</sub> et la pente. (Tableau III)

Tableau IV : Résultats des analyses de variances pour les différentes variables et les différents facteurs (la famille (F), le traitement (T), la longueur des échantillons (L), le diamètre des échantillons (D), la proportion de bois de compression (C), la proportion de moelle (M) et les arbres de chaque famille (A). Niveau de signification : probabilité <0.001 \*\*\*, entre 0.001 et 0.01 \*\* et entre 0.01 et 0.05 \*.

	F	T	L	D	C	M	A
P <sub>12</sub>	0.0107 *	ns	0.0358 *	0.0043 **	ns	0.0228 *	ns
P <sub>50</sub>	0.0005 ***	ns	0.0350 *	0.0237 *	ns	ns	ns
P <sub>88</sub>	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0.0007 ***
pente	0.0293 *	ns	0.0302 *	ns	ns	0.0486 *	ns

Les analyses de variance mettent en évidence (tableau IV) des différences significatives entre familles (F) pour le P<sub>50</sub>, le P<sub>12</sub> et la pente mais pas pour le P<sub>88</sub>.

La figure 5 montre les boîtes à pattes des P<sub>50</sub> de chaque famille, assortis des résultats du test de comparaison de moyenne. On remarque que les familles 2002 et 2034 ont des valeurs significativement différentes des quatre autres familles (1062, 1058, 1046 et 2082).

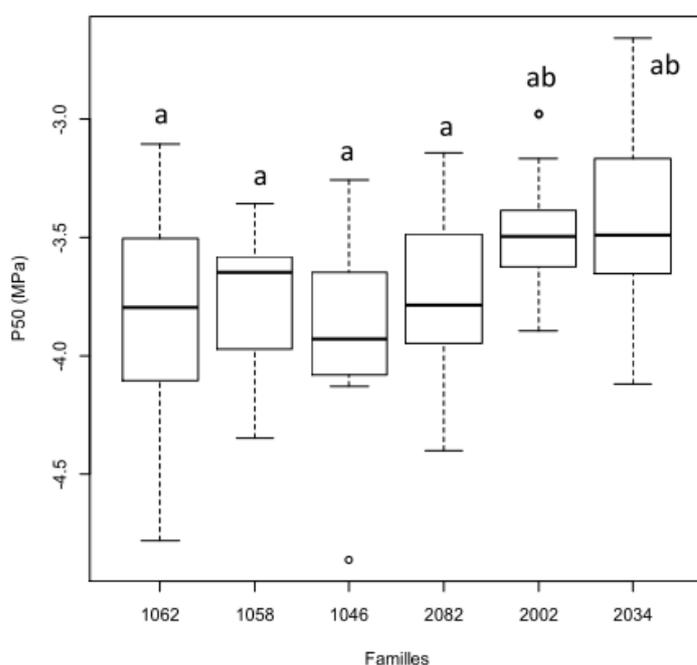


Figure 5 : Représentation graphique (boîtes à pattes) du P<sub>50</sub> pour chaque famille pour l'embolotron (Différences significatives "a" et "ab" entre famille par le test de Tukey)

Le modèle 1 (tableau IV) montre qu'il n'y a pas d'effet des sécheresses artificielles (T) appliquées en mai 2011 et en août 2013 (effet traitement) sur la variation entre familles de la vulnérabilité à la cavitation.

Le modèle 2 (tableau IV) montre qu'il existe un effet significatif de la longueur de l'échantillon (L) pour le P<sub>50</sub>, le P<sub>12</sub> et la pente. Le graphique illustrant cette relation confirme l'hypothèse d'une relation linéaire entre le P<sub>50</sub> et la longueur des échantillons (fig7).

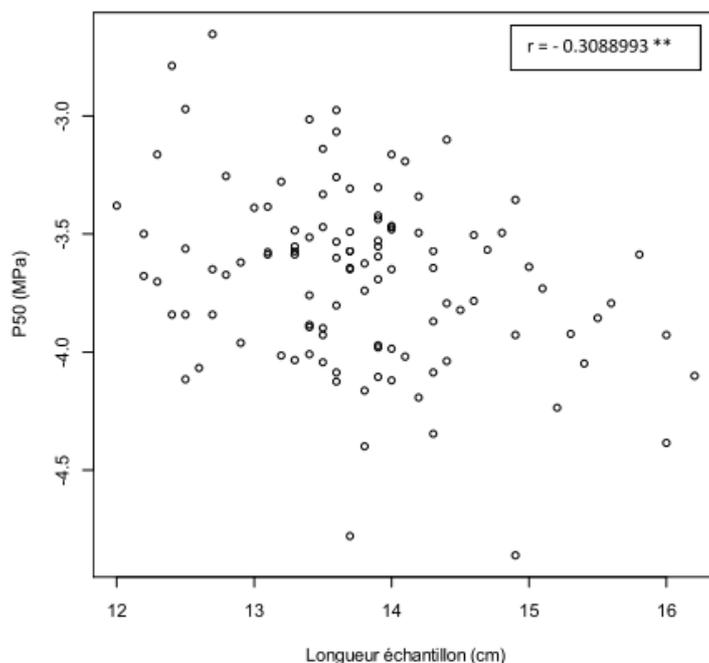


Figure 7 : Représentation graphique de la relation entre la longueur des échantillons (cm) et le P<sub>50</sub> (Mpa). Niveau de signification : probabilité < 0.001 \*\*\*, entre 0.001 et 0.01 \*\* et entre 0.01 et 0.05 \*.

Le modèle 3 (tableau IV) montre qu'il existe un effet significatif du diamètre (D) sur le P<sub>50</sub> et le P<sub>12</sub>. Cependant les caractéristiques des graphiques illustrant ces relations sont peu compatibles avec l'hypothèse d'une relation linéaire.

Le modèle 4 (tableau IV) montre qu'il n'y a pas d'effet de la proportion de bois de compression (C) sur la variation entre familles de la vulnérabilité à la cavitation.

Le modèle 5 (tableau IV) montre qu'il existe un effet significatif de la proportion de moelle (M) sur le  $P_{12}$  et la pente. Cependant les caractéristiques des graphiques illustrant ces relations sont peu compatibles avec l'hypothèse d'une relation linéaire.

Le modèle 6 montre qu'il existe des différences significatives entre arbres (A) dans les différentes familles étudiées pour la variable  $P_{88}$ . Il existe des différences significatives entre arbres dans les familles uniquement pour cette variable  $P_{88}$  et pour les familles 1062, 2082 et 2002.

## **DISCUSSION**

### **I. Protocole expérimental**

Les objectifs de l'Embolitron sont de faciliter la mesure de la vulnérabilité à la cavitation, de la rendre plus précise et si possible de l'accélérer. Le mode opératoire doit proposer le meilleur compromis entre la qualité et la durée de la mesure.

Parmi les paramètres de mise en œuvre de la mesure de vulnérabilité à la cavitation à l'aide de l'Embolitron, le temps de mise en pression ne doit pas être inférieur à une minute pour permettre à la cavitation de démarrer. Le temps de stabilisation est nécessaire pour permettre au débit d'eau de se régulariser dans l'échantillon suite à l'augmentation de la pression, il ne doit pas être inférieur à quatre minutes. Le temps de mesure ne doit pas être trop court non plus de façon à intégrer d'éventuelles fluctuations du débit (celui-ci ne doit pas être inférieur à deux minutes). Le nombre de paliers de pression est choisi suffisamment élevé pour permettre de bien dessiner la forme de la courbe de vulnérabilité à la cavitation.

Pour l'instant, la méthode utilisée (Embolitron) ne nous permet pas d'étudier des branches ou tiges de diamètre supérieur à 8 mm.

Le nombre total de branches mesurées dans cette étude est de 120, ce qui représente un effectif élevé par rapport à ce qui se pratique habituellement.

Les analyses nous ont permis de déterminer qu'un échantillon de pin maritime plus long est plus résistant à la cavitation : il contient plus de trachéides et oppose plus de résistance à la circulation d'eau.

## II. Corrélation entre l'Embolitron et le Cavitron

Nous n'avons pas mis en évidence de corrélation significative entre les valeurs de  $P_{50}$  et entre les valeurs du  $P_{12}$  calculées par l'Embolitron et par le Cavitron. Cependant, nous avons mis en évidence une corrélation significative entre les valeurs de  $P_{88}$  et de pente des courbes de vulnérabilités calculées par l'Embolitron et par le Cavitron. Pour des raisons techniques, le nombre de branches mesurées à l'aide du Cavitron est plus faible que prévu à l'origine (16 arbres au lieu de 30). Les deux méthodes sont destructives, on ne peut pas utiliser la même branche pour les deux mesures. Si la variabilité entre branches de la vulnérabilité à la cavitation est grande, et si le nombre d'arbres est faible, alors la variabilité inter branches peut masquer la relation entre les deux appareils.

Tableau V : Résultats de variances inter-familles, inter-arbres et inter-branches pour les variables hydrauliques ( $P_{12}$ ,  $P_{50}$ ,  $P_{88}$ , pente).

Variance	Inter-familles	Inter-arbres	Inter-branches
$P_{12}$	0.046	0.22	0.18
$P_{50}$	0.033	0.099	0.14
$P_{88}$	0.009	0.13	0.18
pente	16.30	78.31	121.56

Nos résultats montrent qu'il existe une variabilité entre arbres et entre branche pour les quatre variables hydrauliques, mais une variabilité beaucoup plus faible entre famille. Il est donc possible que la variabilité inter branches masque la relation entre les deux appareils.

Nos résultats ne permettent pas de conclure définitivement sur la capacité des deux appareils à mesurer les mêmes courbes de résistance à la cavitation : il est nécessaire de répéter

l'expérimentation avec un nombre d'arbres plus élevé et en estimant mieux la moyenne des arbres en mesurant plus de branches par arbres.

Un auteur a mis en doute la capacité du Cavitron à mesurer la vulnérabilité à la cavitation chez les conifères : d'après Beikircher et al. (2010) un disque de centrifugeuse de petit diamètre à vitesse de rotation élevée pourrait entraîner une aspiration du torus au niveau du bord de la parois de la ponctuation et biaiser les résultats.

### **III. Variabilité entre familles de la résistance à la cavitation**

Les moyennes de  $P_{50}$  au niveau famille se situent entre -3,5 et -4,5 MPa, ce qui est en accord avec d'autres résultats publiés (Lamy et al. 2011). Les résultats de Lamy et al. (2011) montrent un  $P_{50}$  moyen égal à  $-3.94 \pm 0.04$  MPa. Le pin maritime est considéré comme une espèce beaucoup moins résistante à la cavitation que certains gymnospermes comme par exemple le cyprès blanc (*Cupressus glabra*) (Delzon et al. 2010) mais beaucoup plus résistante que les angiospermes (Lamy 2012; Sperry et al. 2006). Cette résistance s'explique par la présence de ponctuations avec un torus permettant à l'embolie de ne pas se propager trop rapidement (Cruiziat et al. 2002; Hacke et al. 2004). Nos résultats montrent qu'il existe une variabilité génétique significative de la résistance à la cavitation chez le pin maritime pour le  $P_{50}$  ce qui est en accord avec l'étude de Lamy et al. (2014). L'étude de Corcuera et al (2011) a également montré qu'il existe une variabilité génétique significative de la résistance à la cavitation chez le pin maritime pour le  $P_{50}$  pour des pins venant des milieux arides et plus humides.

Des corrélations ont été mises en évidence entre les différentes variables hydrauliques, dont une corrélation significative entre  $P_{50}$  et  $P_{88}$ , déjà trouvée chez le douglas (Dalla-Salda et al. 2011). Ces corrélations montrent que les variables hydrauliques ne sont pas estimées par les mêmes mécanismes. La valeur du  $P_{12}$  est appelée " point d'entrée d'air " et c'est une estimation de la tension du xylème lorsque la cavitation commence (Sparks and Black 1999). Le  $P_{88}$  est interprété comme une approximation de la tension maximale réelle du xylème avant de devenir non conducteur (Domec and Gartner 2001).

Nos résultats montrent qu'il existe une variabilité génétique significative pour les variables hydrauliques des courbes de vulnérabilité à la cavitation ( $P_{50}$  et  $P_{12}$ ) mesurées dans les

branches de pin maritime. De plus il existerait même une variabilité entre les arbres au sein de chaque famille en ce qui concerne les valeurs obtenues pour  $P_{88}$ . Ceci est important d'un point de vue méthodologique et signifie qu'il faudrait peut être plus d'arbres dans chaque famille pour bien représenter la variabilité génétique de la résistance à la cavitation entre familles chez le pin maritime.

## **CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES**

Le nombre d'échantillons mesuré dans cette étude a permis de mettre en évidence des différences significatives entre un petit nombre de familles pour certaines variables de la résistance à la cavitation. En revanche nos résultats ne permettent pas de conclure de façon statistiquement robuste sur la ressemblance entre Embolitron et Cavitron pour la mesure de la vulnérabilité à la cavitation chez le pin maritime. La capacité du Cavitron à mesurer la vulnérabilité à la cavitation chez les angiospermes est discutée en ce moment. Par rapport aux gymnospermes, les angiospermes possèdent de très longs vaisseaux qui sont souvent coupés à leurs deux extrémités lorsque l'on prépare l'échantillon. Les vaisseaux sont dits "ouverts" et sont anormalement vulnérables à la cavitation (Cochard et al. 2010). Des études récentes ont montré que suivant les méthodes utilisées, les courbes de vulnérabilités étaient différentes (Torres-Ruiz et al. 2014). La courbe de vulnérabilité obtenue n'est plus de type sigmoïdal mais de type exponentiel et reflète l'artéfact d'un vaisseau ouvert (Cochard et al. 2013). Cependant, d'autres études n'ont pas trouvé cet effet vaisseau coupé sur les courbes de vulnérabilité à la cavitation (Jacobsen and Pratt 2012; Tobin et al. 2013). L'Embolitron n'exige pas que les échantillons aient une longueur maximum. Un Cavitron capable de mesurer des échantillons d'un mètre de long vient d'être mis en service.

Les effectifs mesurés lors de cette étude sont encore loin de permettre une estimation précise du potentiel d'adaptation à la sécheresse. Il est donc nécessaire d'imaginer et de construire un prototype permettant de mesurer un nombre d'échantillons beaucoup plus grand par unité de temps. L'Embolitron pourrait assez facilement évoluer vers un appareil permettant de construire des courbes de vulnérabilité à la cavitation simultanément sur plusieurs échantillons.

## REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier Philippe Rozenberg pour m'avoir offert l'opportunité de réaliser ce stage au sein de l'INRA. Je remercie également Guillermina Dalla Salda de m'avoir encadré et initié à un nouvel outil de mesure : l'embolitron, ainsi que Alejandro Martinez pour son aide précieuse sur R. Enfin je remercie toute l'équipe de l'INRA qui m'a soutenue durant mon stage.

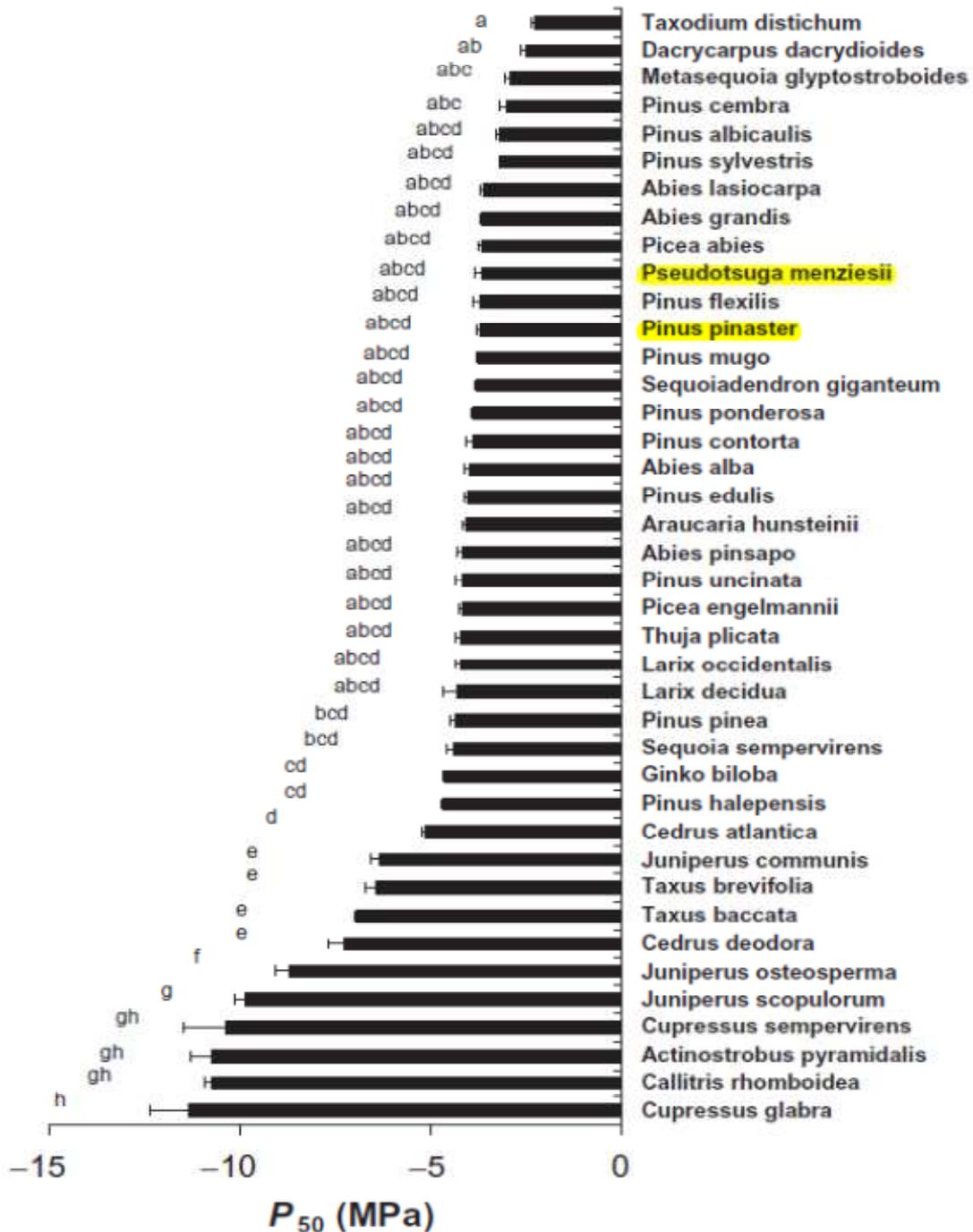
Une mention spéciale à toute l'équipe de Philippe Rozenberg qui, en parlant entre eux en espagnol m'ont permis de beaucoup progresser.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Beikircher B, Ameglio T, Cochard H, Mayr S (2010) Limitation of the Cavitron technique by conifer pit aspiration. *Journal of experimental botany*. 61:3385-93.
- Berthier (2010 /2011) Adaptation des conifères au climat : Variabilité génétique de la réponse du pin maritime (*Pinus pinaster* Aiton) à un stress hydrique en conditions contrôlées, approche écophysiological. Rapport Stage Master 2
- Bréda N, Granier A, Aussenac (2004) La sécheresse de 2003 dans le contexte climatique des 54 dernières années : analyse écophysiological et influence sur les arbres forestiers.
- Cochard H (2002) A technique for measuring xylem hydraulic conductance under high negative pressures
- Cochard H (2006) Cavitation in trees. *Comptes Rendus Physique*. 7:1018-1026.
- Cochard H, Badel E, Herbette S, Delzon S, Choat B, Jansen S (2013) Methods for measuring plant vulnerability to cavitation: a critical review. *Journal of experimental botany*. 64:4779-91.
- Cochard H, Damour G, Bodet C, Tharwat I, Poirier M, Améglio T (2005) Evaluation of a new centrifuge technique for rapid generation of xylem vulnerability curves. *Physiologia Plantarum*. 124:410-418.
- Cochard H, Herbette S, Barigah T, Badel E, Ennajeh M, Vilagrosa A (2010) Does sample length influence the shape of xylem embolism vulnerability curves? A test with the Cavitron spinning technique. *Plant, cell & environment*. 33:1543-52.
- Corcuera L, Cochard H, Gil-Pelegrin E, Notivol E (2011) Phenotypic plasticity in mesic populations of *Pinus pinaster* improves resistance to xylem embolism (P50) under severe drought. *Trees*. 25:1033-1042.
- Cruziat P, Cochard H, Ameglio T (2002) Hydraulic architecture of trees: main concepts and results. *Annals of Forest Science*. 59:723-752.
- Dalla-Salda G, Martinez-Meier A, Cochard H, Rozenberg P (2011) Genetic variation of xylem hydraulic properties shows that wood density is involved in adaptation to drought in Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.)). *Annals of Forest Science*. 68:747-757.
- Delzon S, Douthe C, Sala A, Cochard H (2010) Mechanism of water-stress induced cavitation in conifers: bordered pit structure and function support the hypothesis of seal capillary-seeding. *Plant, cell & environment*. 33:2101-2111.
- Domec J-C, Gartner BL (2001) Cavitation and water storage capacity in bole xylem segments of mature and young Douglas-fir trees. *Trees*. 15:204-214.

- Ennajeh M, Nouiri M, Khemira H, Cochard H (2011) Improvement to the air-injection technique to estimate xylem vulnerability to cavitation. *Trees*. 25:705-710.
- Hacke UG, Sperry JS, Pittermann J (2004) Analysis of circular bordered pit function II Gymnosperm tracheids with torus-margo pit membranes
- Jacobsen AL, Pratt RB (2012) No evidence for an open vessel effect in centrifuge-based vulnerability curves of a long-vesselled liana (*Vitis vinifera*). *The New phytologist*. 194:982-90.
- Lamy JB (2012) Résistance à la cavitation : Des mécanismes physiologiques à la génétique évolutive
- Lamy JB, Bouffier L, Burlett R, Plomion C, Cochard H, Delzon S (2011) Uniform selection as a primary force reducing population genetic differentiation of cavitation resistance across a species range. *PloS one*. 6:e23476.
- Lamy JB, Delzon S, Bouche PS, Alia R, Vendramin GG, Cochard H, Plomion C (2014) Limited genetic variability and phenotypic plasticity detected for cavitation resistance in a Mediterranean pine. *The New phytologist*. 201:874-86.
- Rasband, W.S., ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <http://imagej.nih.gov/ij/>, 1997-2014.
- R Development Core Team (2011), R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria : the R Foundation for Statistical Computing. ISBN: 3-900051-07-0. Available online at <http://www.R-project.org/>
- Sparks, Black (1999) Regulation of water loss in populations of *Populus trichocarpa* : the role of stomatal control in preventing xylem cavitation. *Tree Physiology*. 19:453 - 459.
- Sperry JS (1985) Xylem embolism in the palm *rhapis excelsa*. *IAWA Bulletin* 6:283-292.
- Sperry JS, Hacke UG, Pittermann J (2006) Size and function in conifer tracheids and angiosperm vessels. 93:1490-1500.
- Tobin MF, Pratt RB, Jacobsen AL, De Guzman ME (2013) Xylem vulnerability to cavitation can be accurately characterised in species with long vessels using a centrifuge method. *Plant biology*. 15:496-504.
- Torres-Ruiz JM, Cochard H, Mayr S, Beikircher B, Diaz-Espejo A, Rodriguez-Dominguez CM, Badel E, Fernandez JE (2014) Vulnerability to cavitation in *Olea europaea* current-year shoots: further evidence of an open-vessel artifact associated with centrifuge and air-injection techniques. *Physiol Plant*

## ANNEXE 1



Pression du xylème induisant 50 % de perte de conductivité (P<sub>50</sub>) mesuré sur 40 espèces de conifères par le Cavitrion (n = 5 par espèces). Les barres d'erreurs représentent l'erreur standard et les lettres les lettres indiquent les différences significatives entre espèces (P < 0.005). Les deux espèces d'intérêts ont été surlignées le pin maritime et le douglas (Delzon et al, 2010).

SUD

E  
S  
T

23	VIDE	VIDE	1062	2034
22	2034 n°44	1066	2002	1058
21	1058 n°34	1043	1066	2034 n°54
20	2034	1049	1049	1062 n°32
19	2082	1049	1046 n°30	1043
18	1066	1049	2082 n°28	<del>2082</del>
17	2034	2034	2002 n°56	1043
16	1043	1046	1062 n°16	1046 n°40
15	1058	2002 n°46	1058 n°26	1049
14	2034	2002 n°48	2082 n°24	1058 n°20
13	1058 n°18	1058	2082 n°22	2002
12	1062	2034 n°58	1066	2082 n°36
11	1043	2002 n°60	2082	1062
10	1062 n°38	1049	1046 n°14	2082 n°12
9	2082	1043	2002	1046
8	1049	1046	1058 n°10	1066
7	1066	2082	1062	1046
6	1049	1043	2034	2034 n°52
5	2002	2002	1046 n°8	1043
4	1049	1058	1043	1062 n°6
3	1046 n°4	1066	1062 n°2	2034 n°50
2	2002 n°42	1066	1058	1062
1	1066	1049	1066	1046

NORD

2034	1049	VIDE	VIDE
2002	2034 n°49	1062 n°25	1049
2034 n°41	1066	2002 n°51	1066
2002	1082	1046	1049
2034 n°43	1046	1049	1062
2058	1043	2082 n°23	1046 n°27
1066	1046	2002	2082
1066	1046	2034	2082 n°29
1043	1062 n°19	1058	2002 n°59
2082 n°17	1062	2082 n°21	1049
1058 n°15	1049	1062	1058
2034	1043	2002 n°53	1066
1066	1043	1049	2034
2002	2034 n°47	2082	1046 n°39
1046 n°13	1062 n°11	1058 n°9	2002 n°57
1046 n°7	1043	1066	1049
1058 n°33	2082	1058 n°5	2082
1062	2034 n°45	1049	1046
1049	1066	2002 n°55	1058 n°3
1043	2034	2002	1058
1062 n°1	1043	1058	2082 n°37
1043	1062 n°35	1043	1062
1046 n°31	1043	1066	1066

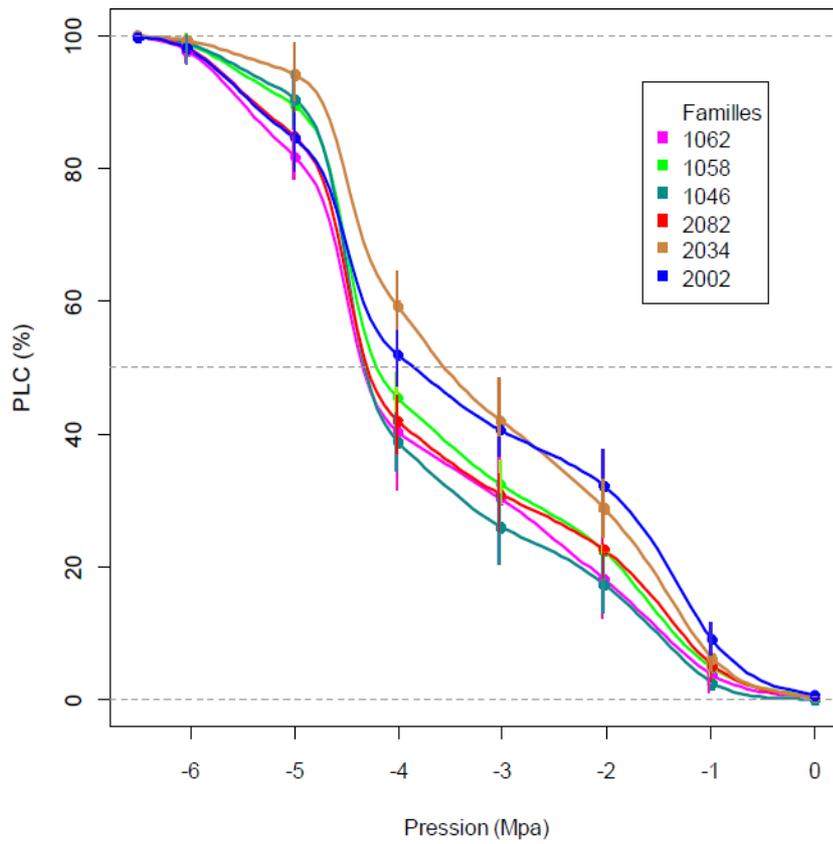
O  
U  
E  
S  
T

ANNEXE 2

**Légende**

<p><b>Note d'intensité hydrique</b></p> <div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="width: 20px; height: 10px; background-color: red; margin-right: 5px;"></div> <span>très atteint</span> </div> <div style="display: flex; align-items: center; margin-top: 5px;"> <div style="width: 20px; height: 10px; background-color: orange; margin-right: 5px;"></div> <span>moyennement atteint</span> </div> <div style="display: flex; align-items: center; margin-top: 5px;"> <div style="width: 20px; height: 10px; background-color: yellow; margin-right: 5px;"></div> <span>peu atteint</span> </div>	<div style="display: flex; align-items: center; margin-bottom: 5px;"> <div style="width: 20px; height: 10px; border: 1px solid black; background: linear-gradient(to top right, transparent 49%, black 49%, black 51%, transparent 51%); margin-right: 5px;"></div> <span>arbre mort</span> </div> <div style="display: flex; align-items: center; margin-bottom: 5px;"> <span>1034</span> <span style="margin-left: 20px;">famille</span> </div> <div style="display: flex; align-items: center;"> <span>n°1</span> <span style="margin-left: 20px;">numéro d'arbre étudié</span> </div>
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

### ANNEXE 3



Courbes de vulnérabilité à la cavitation des six familles de pin maritime construites à partir de l'Embolitron.

## ANNEXE 4

### Mode opératoire de l'Embolitron :

#### 1. Récolte et préparation des échantillons

Les tiges ou branches sont choisies par rapport à leur taille (au minimum 20 centimètres) et doivent être sans nœuds et droites pour pouvoir entrer dans l'appareil. Faire attention au diamètre, il ne doit pas être trop fin (au minimum 2 millimètres) car risquerait de casser ou de caviter trop vite, et pas trop gros (au maximum 8 millimètres) car il ne passerait pas dans l'appareil. Les échantillons doivent être directement mis dans l'eau pour rester humides et ne pas induire de cavitation précoce.

Après cela nous retirons l'écorce et le cambium des échantillons pour éviter tout débit d'eau qui serait due à une infiltration entre écorce et cambium.

A chaque extrémité de l'échantillon nous taillons des pointes pour le passer plus facilement dans les joints.

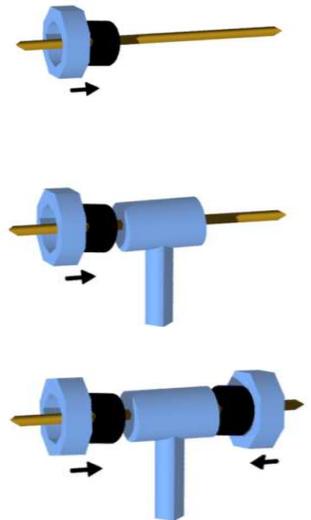
#### 2. Préparation de l'appareil

Remplir dans un premier temps le capteur d'eau (photo 4 (5)) de mesurer la pression d'eau dans l'aquarium qui doit rester constante.

Puis installer le premier joint et le premier écrou.

Assembler et visser la chambre à pression.

Assembler le deuxième joint et visser la dernière partie. Remplir l'aquarium d'eau. Puis couper l'extrémité de l'échantillon sous l'eau et le placer dans l'aquarium.



Enclencher le tout en ouvrant la vanne rouge (photo 4 (6)) permettant d'ouvrir l'eau du réservoir. Enclencher le tout sur le socle. Puis serrer les vis pour éviter toute fuite de gaz. Couper l'autre extrémité de l'échantillon.

Installer ensuite le toboggan (gouttière en plastique flexible) et le fil en cuivre (photo 2) permettant au flux d'eau de glisser le long du fil et de tomber délicatement dans le récipient contenant déjà de l'eau sur la balance de précision.

### 3. Mesures

Avant de commencer l'expérience laisser l'échantillon se stabiliser 10 minutes. Ceci permettra d'avoir un débit d'eau constant.

Sur l'écran (photo 5) Sélection du protocole. Trois protocoles disponibles :

- Protocole 1 : préprogrammé, il ne reste qu'à entrer le nombre de palier voulu.
- Protocole 2 : manuel, permet d'augmenter la pression manuellement
- Protocole 3 : laissé libre pour programmer un nouveau protocole

Appuyer sur « RUN », vérifier que la mesure de la balance est identique à celle sur l'écran.

Appuyer sur « Valider », vérifier le numéro du fichier csv.

Appuyer sur « Start »

Chaque palier suit 3 étapes : mise en pression, stabilisation et mesure. Nous avons choisi pour chaque palier :

- 2 minutes de mise en pression
- 5 minutes de stabilisation
- 2 minutes de pesée (différence de pesée d'eau entre deux minutes)

Pour les mesures réalisées sur douglas et pin maritime nous avons choisi 9 paliers dont le tableau ci-dessous représente les valeurs de pression correspondantes.

Palier	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Pression (MPa)	0	10	15	20	25	30	35	40	50

A la fin des mesures récupérer le fichier csv sur clef USB.