

## **Expansion des feuilles de tournesol en conditions environnementales fluctuantes : effets de la température, du rayonnement et du déficit hydrique**

### **Sunflower leaf growth under changing environmental conditions**

Oléagineux, Corps Gras, Lipides. Volume 7, Numéro 2, 219-28, Mars - Avril 2000, Fondamental

**Résumé :** L'expansion et les divisions cellulaires dans les feuilles de tournesol ont été analysées dans des situations contrastées de température, de rayonnement et d'état hydrique du sol, en serre, au champ et en chambre de culture. Les résultats expérimentaux obtenus remettent en cause deux concepts utilisés dans le formalisme des modèles de simulation des cultures : – le premier est celui qui considère que l'expansion foliaire dépend du carbone disponible. Des déficits hydriques modérés et précoces réduisent la surface finale des feuilles de 40 % sans affecter la photosynthèse nette. Ils se traduisent par des accumulations de sucres dans les feuilles en déficit hydrique ; – le second est celui qui relie la vitesse absolue d'expansion un jour donné aux conditions environnementales le même jour. Des contraintes hydriques ou des réductions du rayonnement absorbé affectent la vitesse absolue d'expansion plusieurs jours après le rétablissement des conditions favorables. Dans le modèle que nous proposons, la considération de la vitesse relative d'expansion des feuilles plutôt que de la vitesse absolue permet de rendre compte des arrière-effets négatifs des contraintes sur la vitesse d'expansion des feuilles. La vitesse relative d'expansion à un moment donné est directement reliée aux conditions environnementales au même moment. Son expression en temps thermique permet de prendre en compte les effets de la température. Elle est réduite par un déficit hydrique et par une réduction du rayonnement absorbé. Dans ce modèle, les durées d'expansion et de divisions cellulaires dans les feuilles, exprimées en temps thermique, sont stables pour un rang de feuille donné dans une large gamme de rayonnement absorbé et d'état hydrique du sol.

**Mots-clés :** expansion foliaire, divisions cellulaires, température, stress hydrique, rayonnement.

**Summary:** Expansion and cell division have been analysed in sunflower leaves in contrasting environmental conditions including temperature, light and soil water status in the field, in the greenhouse and in the growth chamber. Experimental results show that two formalisms of current crop simulation models are not adapted for the simulation of sunflower leaf development: – in the first formalism, it is considered that the absolute expansion rate of a leaf on one day is related to the carbon balance on the same day. Moderate water deficits cause a reduction in leaf expansion without affecting net photosynthesis per leaf. They cause an increase in sugar concentration in the leaf; – in the second one, daily increase in size of an organ (absolute expansion rate) is linked to environmental conditions on the same day. Water deficits or reduction in light interception affect absolute expansion during the period of stress but also after the re-establishment of favourable conditions. We propose a model of leaf expansion in which the consideration of relative expansion rate instead of absolute expansion rate allow to take into account the negative after effect of a water deficit or of a decrease in light interception. Relative expansion rate at one time depends on the environmental conditions at the same time. Its expression in thermal time allow to take into account the effect of temperature.

Relative expansion rate is reduced by water deficit and by a reduction in light interception. Durations of expansion and of cell division in a leaf are stable if expressed in thermal time for a given position on the stem in a large range of light and soil water status conditions.

**Keywords:** leaf expansion, cell division, temperature, water deficit, light.

ARTICLE

## Introduction

La croissance foliaire détermine l'interception du rayonnement solaire, et donc le rendement et la qualité des graines. Chez le tournesol, les rendements maximaux sont généralement observés pour des indices foliaires proches de 3 [1], et l'efficacité d'interception du rayonnement augmente avec l'indice foliaire dans la gamme de 0 à 3 [2]. Un indice foliaire supérieur à 3 entraîne souvent des conséquences négatives sur le rendement [1] pour deux raisons :

- il favorise le développement de champignons parasites comme le *Phomopsis* et le *Phoma* à cause de l'augmentation de l'humidité de l'air à l'intérieur du couvert végétal [3] ;
- la croissance des feuilles situées sur le haut de la tige se déroule simultanément avec celle du capitule, causant une compétition pour les assimilats.

Une croissance rapide des dernières feuilles peut donc priver le capitule d'assimilat et réduire le rendement. Une gestion fine de l'irrigation, de la fertilisation et d'autres techniques culturales est nécessaire pour ajuster la surface foliaire à une valeur optimale. Elle requiert un outil de prévision de la croissance des feuilles successives de la plante en fonction des conditions environnementales. Nous avons cherché à établir cet outil.

L'expansion foliaire varie en fonction des conditions hydriques [4, 5], du rayonnement [6], de la température [7, 8] et de la demande climatique [9]. Deux voies sont possibles pour modéliser ces variations :

- dans les modèles actuels de simulation de culture, la phénologie et la croissance des feuilles sont prédites chaque jour en fonction de la température et du carbone disponible pour les feuilles [10]. Les réductions de croissance dues à une contrainte sont prises en compte par un module de stress [11]. Le développement foliaire est ainsi considéré comme une conséquence du métabolisme des plantes ;
- dans certains modèles, la mise en place de la surface foliaire est indépendante de la biomasse [12]. De plus, la littérature récente montre que l'expansion foliaire est un mécanisme primaire de réponse aux contraintes. La vitesse de croissance des feuilles et sa variation lors de contraintes hydriques sont directement liées à des activités enzymatiques, des quantités de transcrits ou de protéines [13, 14].

Nous avons comparé ces deux approches en analysant l'expansion de feuilles de tournesol à deux positions sur la tige (feuilles de rang 8 et 16) dans différentes conditions environnementales (température, rayonnement, état hydrique du sol), lors d'essais au champ, en serre et en chambre de culture.

## Matériels et méthodes

## *Conditions de culture*

### **Serre**

Six semis ont été réalisés en serre : en février 1995 (Ser-Fev95), avril 1995 (Ser-Avr95), juillet 1995 (Ser-Jul95), septembre 1995 (Ser-Sep95), mars 1996 (Ser-Mar96), juillet 1996 (Ser-Jul96). Les graines ont été semées dans 60 colonnes (0,14 m de diamètre et 0,65 m de hauteur), contenant un mélange (1:1) de terre végétale et de terreau, à raison de 4 graines par colonne. Chacune des colonnes de sol a été remplie de  $5,25 \pm 0,25$  kg de sol sec. La capacité de rétention du sol a été définie à partir de la teneur en eau du sol maximale des colonnes irriguées après un drainage de 24 h. La teneur en eau du sol était alors de  $0,40 \pm 0,07$  g.g<sup>-1</sup>. La limite inférieure de teneur en eau de la réserve utile du sol a été déterminée au cours d'une expérimentation préliminaire (Simonneau, non publié) reliant la teneur en eau du sol au potentiel hydrique foliaire mesuré à l'aube (potentiel de base). La réserve en eau utile du sol a été définie comme la différence entre la teneur en eau du sol à la capacité de rétention et cette limite inférieure, multipliée par le poids de sol sec dans les colonnes. Cinq colonnes ont été pesées une à trois fois par jour suivant la demande climatique. Ceci a permis de calculer le volume de solution nutritive nécessaire pour maintenir la teneur en eau du sol à une valeur constante. La réserve en eau du sol a été dans un premier temps maintenue à 70 % de sa valeur maximale. Par la suite, la réserve en eau utile du sol des plantes du traitement « témoin » a été maintenue à sa valeur maximale jusqu'à la fin de l'expérimentation.

### **Chambre de culture**

Des plantes, mises à germer à la serre dans 20 pots de 7,5 litres, ont été transférées en chambre de culture 5 jours après l'initiation de la feuille 8 au cours de trois expérimentations en 1997. La fréquence des apports de solution nutritive a été contrôlée par pesée quotidienne des pots, de façon à maintenir le substrat à la capacité de rétention. La régulation de la température de la chambre de culture était commandée par un thermocouple positionné sous la feuille étudiée, ceci afin de pouvoir maintenir la température foliaire constante au cours de l'expérimentation. Trois températures de feuilles ont ainsi été testées : 14 °C (CDC-14), 18 °C (CDC-18), 25 °C (CDC-25).

### **Champ**

Six semis ont été réalisés au champ : avril 1995 (Cha-Avr95), mai 1995 (Cha-Mai95), avril 1996 (Cha-Avr96), mai 1996 (Cha-Mai96), juin 1996 (Cha-Jun96), mai 1997 (Cha-Mai97). Les graines de tournesol ont été semées à 0,03 m de profondeur à une densité de 7 plantes.m<sup>-2</sup>. Les plantes ont été irriguées deux fois par semaine.

Les conditions environnementales moyennes au cours de la période de croissance des feuilles 8 sont présentées au *tableau 1* pour les expérimentations au champ (Cha), en serre (Ser) et en chambre de culture (CDC).

### *Suivi de l'expansion d'une feuille individuelle*

Dans tous les traitements, les surfaces de trois feuilles de rang 8 et 16 ont été mesurées tous les deux jours depuis leur initiation jusqu'à ce que leur longueur atteigne 25 mm, en disséquant l'apex sous-binoculaire (Leica stéréomicroscope, Wild F8Z, Wetzlar, Allemagne), en excisant la feuille étudiée et en mesurant sa surface par analyse d'image (Bioscan-Optimas V 4.10, Edmonds, WA). Dès que les feuilles

ont mesuré 25 mm de long, 5 feuilles par traitement ont été photographiées quotidiennement à 12 h (heure solaire). La surface des feuilles a été mesurée par analyse d'image.

La durée d'expansion de la feuille a été déterminée comme le temps s'écoulant entre l'initiation de la feuille et la fin de son expansion. Elle a été exprimée soit en temps calendaire (jours après initiation), soit en temps thermique (degrés jour après initiation). La notion de temps thermique repose sur une approximation linéaire de la relation entre la vitesse du processus impliqué et la température. Dans ce cas :

$$\boxed{dP/dt = a (T - T_0)} \quad (\text{Éq. 1})$$

où P est le processus étudié, T est la température, a et T<sub>0</sub> sont respectivement la pente et l'abscisse à l'origine de la relation entre dP/dt et T. Il s'ensuit que :

$$\boxed{P = a \int (T - T_0) dt} \quad (\text{Éq. 2})$$

∫ (T - T<sub>0</sub>) dt est appelé temps thermique (ou somme de températures). Lorsqu'il est calculé sur un pas de temps de la journée, il s'exprime en degrés jour. Dans le cas du développement des feuilles de tournesol, nous avons pu utiliser un calcul unique du temps thermique pour les processus d'expansion des tissus, de divisions cellulaires et de l'initiation des feuilles avec T<sub>0</sub> = 5 °C (voir résultats).

La vitesse absolue d'expansion (LER) de la feuille entière au jour j (LER<sub>feuille, j</sub>) a été estimée par la pente locale de la relation entre la surface de la feuille (Sf) et le temps ou le temps thermique (t) :

$$\boxed{LER_{\text{feuille}, j} = [ d (Sf) / d t ]_j} \quad (\text{Éq. 3})$$

Elle a été calculée par régression linéaire sur les trois valeurs couplées de Sf et t correspondant aux jours j - 1, j et j + 1. La vitesse relative d'expansion (RER) de la feuille entière au jour j (RER<sub>feuille, j</sub>) a été estimée par la pente locale de la relation entre le logarithme de la surface de la feuille (Sf) et le temps ou le temps thermique (t) :

$$\boxed{RER_{\text{feuille}, j} = [ d (\ln Sf) / d t ]_j} \quad (\text{Éq. 4})$$

Elle a été calculée par régression linéaire sur les trois valeurs couplées de Sf et t correspondant aux jours j - 1, j et j + 1.

Les réductions de surface de feuilles (R<sub>sf</sub>) causées par la contrainte hydrique ont été estimées par la différence entre les valeurs mesurées chez les plantes témoins (Sf<sub>t</sub>) et celles mesurées chez les plantes en déficit hydrique (Sf<sub>s</sub>) par rapport à celles mesurées chez le témoin :

$$\boxed{R_{sf} = (Sf_t - Sf_s) / Sf_t} \quad (\text{Éq. 5})$$

#### *Suivi des divisions des cellules de l'épiderme dans la feuille*

La surface des cellules de l'épiderme supérieur de trois feuilles par traitement a été mesurée tous les

trois jours (feuilles de rang 8 et 16). Les empreintes épidermiques des feuilles ont été obtenues en appliquant sur la feuille une fine couche de vernis à ongle incolore. Le film couvrant la feuille a été retiré après quelques minutes avec du ruban adhésif et a été collé sur une lame de verre. Ces lames ont été observées et analysées sous microscope (LEICA-Leitz DM RB, Wetzlar, Allemagne) couplé au logiciel d'analyse d'image. Les surfaces de 50 cellules épidermiques ont été mesurées dans trois à huit transects perpendiculaires à la nervure médiane. Le nombre de cellules dans la feuille entière a été estimé en calculant la taille moyenne des cellules dans chacun des transects dessinés sur le limbe et en considérant la proportion de surface foliaire correspondant à chaque transect. Le nombre de cellules de la feuille au jour  $j$  ( $N_{\text{feuille},j}$ ) a alors été calculé :

$$N_{\text{feuille},j} = \sum (A_{i,j} / a_{i,j}) \quad (\text{Éq. 6})$$

où  $A_{i,j}$  est la surface du transect  $i$  au jour  $j$  et  $a_{i,j}$  est la surface moyenne des cellules dans le transect  $i$  le même jour.

La durée des divisions cellulaires dans l'épiderme de la feuille a été déterminée comme le temps s'écoulant entre l'initiation de la feuille et la fin des divisions cellulaires. Elle a été exprimée soit en temps calendaire (jours après initiation) soit en temps thermique (degrés jour après initiation). La vitesse relative de division cellulaire ( $RDR$ ) dans la feuille au jour  $j$  ( $RDR_{\text{feuille},j}$ ) a été estimée par la pente locale de la relation entre le logarithme du nombre de cellules ( $N$ ) et le temps ou le temps thermique ( $t$ ).

$$RDR_{\text{feuille},j} = [d(\ln N) / d t]_j \quad (\text{Éq. 7})$$

Elle a été calculée par régression linéaire sur les 3 valeurs couplées de  $N$  et  $t$  correspondant aux jours  $j - 1$ ,  $j$  et  $j + 1$ . La durée du cycle cellulaire dans la feuille au jour  $j$  ( $cdt_j$ ) a été estimée par :

$$cdt_j = \ln(2) / RDR_{\text{feuille},j} \quad (\text{Éq. 8})$$

Les réductions en nombre de cellules et surface de cellules par la contrainte hydrique ont été calculées de la même façon que la réduction de surface de feuille (Eq.5).

#### *Mise en place des déficits hydriques*

L'irrigation a été arrêtée jusqu'à ce que la réserve en eau utile du sol atteigne 23 % de sa valeur maximale. Elle a été ensuite maintenue constante pendant cinq jours. Puis, une irrigation a rétabli la réserve en eau du sol à sa valeur maximale, qui a été maintenue jusqu'à la fin de l'expérimentation. Des déficits hydriques semblables ont été imposés à six périodes différentes du développement de la feuille 8. Ils ont été numérotés de 1 à 6, du plus précoce au plus tardif (*tableau 2*). Dans le cas des déficits 1 à 4, l'arrêt de l'irrigation a eu lieu respectivement 53, 143, 178, et 243 °Cj après initiation de la feuille 8, alors que les divisions cellulaires n'étaient pas achevées dans la feuille 8. Ces déficits ont été qualifiés de précoces. Dans le cas des déficits 5 et 6, l'irrigation a été arrêtée respectivement 299 et 323 °Cj après initiation de la feuille 8, alors que les divisions cellulaires avaient cessé dans la feuille 8. Ces déficits ont été qualifiés de tardifs. La durée de la période entre l'arrêt de l'irrigation et la période pendant laquelle le déficit a été maintenu constant était de deux à quatre jours pour les déficits 2 à 6. Pour le déficit 1, cette période a duré 11 jours à cause de la faible demande climatique

(tableau 2).

### *Caractérisation des déficits hydriques*

#### **Potentiel hydrique foliaire**

Le potentiel hydrique foliaire a été mesuré avec une chambre à pression (Soil Moisture Equipment Corp n° 3000, Santa Barbara). Le pétiole a été coupé au scalpel. La feuille a été ensuite ensachée, le temps qu'elle soit placée dans la chambre à pression. Du papier absorbant imbibé d'eau a été placé dans le sachet et au fond de la chambre à pression afin d'éviter le dessèchement de la feuille. Le potentiel hydrique foliaire a ainsi été mesuré une à deux fois par semaine avant le lever du jour (potentiel de base) et à midi solaire (potentiel midi) sur 4 à 6 feuilles par traitement.

#### **Dosage d'ABA dans la sève xylémienne**

De la sève xylémienne a été prélevée après la lecture de la valeur du potentiel de base afin de procéder à des dosages d'ABA. La sève a été extraite en pressurant la feuille pendant 5 minutes, recueillie dans des tubes Eppendorf de 500 µl et conservée dans un congélateur à - 80 °C jusqu'au dosage. Le dosage de l'ABA a été réalisé par la méthode radio-immunologique avec l'anticorps MAC 62 [15].

### **Résultats et discussion**

#### *Développement de la feuille de tournesol en conditions hydriques non limitantes*

Pour des plantes bien irriguées, les durées d'expansion des feuilles 8, depuis leur initiation jusqu'à la fin de leur expansion, varient de 20 à 43 jours suivant les expérimentations (*figure 1A*). La vitesse absolue d'expansion est faible pendant la première moitié du développement de la feuille, puis elle augmente rapidement pour atteindre une valeur maximale et elle décline par la suite (*figure 1B*). La vitesse absolue d'expansion n'est jamais stable au cours du temps (*figure 1B*). Sa valeur maximale est variable suivant les expérimentations. La surface finale des feuilles 8 de plantes bien irriguées varie dans un rapport de 1 à 4 suivant les expérimentations (*figure 1A*). Cette variabilité est essentiellement due à la variabilité de rayonnement intercepté [6, 16].

La durée des divisions cellulaires dans la feuille 8 des plantes bien irriguées varie de quinze à trente jours suivant les expérimentations. Le nombre final de cellules dans la feuille est variable suivant les expérimentations alors que la surface finale des cellules épidermiques varie peu (non présenté). La variabilité de surface finale des feuilles (*figure 1A*) est liée au nombre final de cellules (*figure 2*, insert). Ceci pourrait suggérer que la surface foliaire est déterminée pendant une première phase du développement, consacrée aux divisions cellulaires. Cependant, l'expansion des tissus et les divisions des cellules de l'épiderme coexistent dans le limbe pendant les deux tiers de la durée totale du développement des feuilles (*figures 1A* et 2). Il n'est donc pas possible de définir une phase de division cellulaire séparée d'une phase d'expansion des cellules, contrairement à ce qui est souvent suggéré [17].

#### *Remise en cause du formalisme des modèles de croissance foliaire*

Dans les modèles de simulation des cultures, le rythme d'apparition des feuilles sur la tige est fonction du temps thermique. Une fois les feuilles apparues, il est considéré que leur vitesse absolue

d'expansion un jour donné est liée à la disponibilité en carbone le même jour. Nous n'avons pas retenu ce formalisme pour trois raisons :

- un déficit hydrique précoce, imposé avant l'apparition de la feuille, réduit la surface finale de celle-ci de 40 % (*figure 1C*). Le formalisme des modèles, décrit précédemment, ne permet pas de prendre en compte l'effet de déficits hydriques intervenant avant l'apparition de la feuille. Or la durée de la phase entre l'initiation de la feuille et son apparition dure près de la moitié de la durée totale d'expansion (*figure 1C*) ;

- des déficits hydriques modérés causent une réduction de l'expansion des feuilles sans affecter la photosynthèse [13, 18-20]. Ils se traduisent par une forte augmentation des teneurs en sucres solubles dans les feuilles (non présenté) comme ceci a été montré chez d'autres espèces soumises à des déficits hydriques [21-23]. Le carbone n'est donc pas le facteur limitant pour l'expansion dans ces conditions ;

- la vitesse absolue d'expansion est réduite par le déficit hydrique pendant que la contrainte était imposée mais également après le retour à des conditions hydriques favorables (*figure 1C et D*) [5]. La vitesse absolue d'expansion un jour donné n'est donc pas liée directement aux conditions du même jour. Des arrière-effets des contraintes environnementales sont à prendre en compte.

*Mise en place d'un modèle d'expansion foliaire dans lequel l'expansion est directement liée aux conditions environnementales*

Dans la littérature, les études de l'effet des conditions environnementales sur la vitesse d'expansion considèrent :

- soit la vitesse moyenne calculée sur la période pendant laquelle la feuille grandit de 5 à 95 % de sa surface finale [24] ;

- soit la vitesse maximale atteinte au cours du développement de la feuille [25] ;

- soit plus rarement, la vitesse relative d'expansion de la feuille [*RER*, 26].

Nous avons comparé ces trois méthodes de calcul de la vitesse d'expansion des feuilles. Seule la troisième méthode nous a permis d'obtenir des relations stables entre les conditions environnementales et la vitesse d'expansion de la feuille [8, 19].

### ***Vitesses relatives d'expansion et de division cellulaire***

En considérant la vitesse relative d'expansion (l'augmentation de surface par unité de surface et par unité de temps, en  $\text{cm}^2 \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{j}^{-1}$ ), les courbes de la *figure 1A* peuvent être analysées en deux phases. Pendant la première phase, la vitesse relative d'expansion (*RER*) est maximale et constante (évolution exponentielle de la surface de la feuille). Cette phase dure près des deux tiers de la durée totale d'expansion pour une feuille 16 (près de la moitié pour une feuille 8 [27]). Pendant la deuxième phase, la vitesse relative d'expansion diminue (*figure 3A et B*). De même, l'évolution au cours du temps du nombre de cellules épidermiques dans les feuilles peut être décomposée en une phase pendant laquelle la vitesse relative de division cellulaire est constante (évolution exponentielle du nombre de cellules) suivie d'une phase pendant laquelle elle décroît (*figure 3C et D*).

Avec cette représentation, les variables à considérer sont la vitesse relative d'expansion foliaire (*RER*)

et la vitesse relative de division cellulaire (*RDR*). Ces deux variables sont corrélées linéairement à la température de la feuille (*figure 4A et C*). Les relations sont identiques pour les feuilles 8 et 16 et également pour les différentes zones d'une feuille [8]. Elles rendent compte d'expérimentations en chambre de culture, où la température était maintenue constante, mais aussi au champ et en serre en conditions de température fluctuante. Les inverses de la durée totale des divisions cellulaires et de la durée totale d'expansion de la feuille sont également corrélées linéairement à la température moyenne de la feuille (*figure 4B et D*). Les relations obtenues entre la durée d'expansion et la température sont beaucoup plus lâches si la durée d'expansion est définie comme le temps s'écoulant entre la date d'apparition de la feuille et la fin d'expansion [8]. Toutes ces relations linéaires coupent l'axe des abscisses à 5 °C (entre 4,0 °C et 5,4 °C suivant la variable considérée), si bien que le temps thermique peut être calculé avec une même température-seuil pour tous les mécanismes analysés.

### ***Expression des durées et des vitesses en temps thermique***

Exprimées en temps thermique avec une base de 5 °C, les durées totales d'expansion foliaire (*figure 5B*) et de divisions cellulaires des feuilles 8 (non présenté) sont communes à toutes les expérimentations présentées *figure 1A*, malgré une grande variabilité des durées exprimées en jours (*figure 5A*). Les durées des divisions cellulaires et de l'expansion sont plus longues pour une feuille 16 que pour une feuille 8, mais ces durées sont stables exprimées en temps thermiques pour un rang de feuille donné [8]. Les différences de nombre de cellules et de surface entre les feuilles d'une plante s'expliquent donc essentiellement par des différences de durées.

De même, lorsque l'on exprime les vitesses relatives d'expansion et de divisions cellulaires en temps thermique, elles sont semblables pour des expérimentations à températures contrastées, au cours desquelles les vitesses relatives exprimées en temps calendaire sont très variables (*figure 5A et C*). Exprimée en temps thermique, la vitesse relative d'expansion a une valeur commune de  $0,036 \pm 0,002 \text{ cm}^2 \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{°Cj}^{-1}$  pour les feuilles 8 pendant 280 °Cj après initiation de la feuille (*figure 5C*). La vitesse relative de division cellulaire a une valeur de  $0,032 \pm 0,008 \text{ cellule} \cdot \text{cellule}^{-1} \cdot \text{°Cj}^{-1}$  pour les feuilles 8, ce qui correspond à une durée du cycle cellulaire de 22 °Cj, au champ en température fluctuante comme en chambre de culture en température stable [8].

Le temps thermique peut donc être utilisé plus largement qu'il ne l'est habituellement en exprimant des vitesses d'expansion ou de division par unité de temps thermique. Dans toutes les conditions étudiées, le développement de la feuille peut être divisé en trois phases (*figure 6*) :

- dans un premier temps, la vitesse relative d'expansion et la vitesse relative de division cellulaire sont maximales et constantes ;
- puis, la vitesse relative de division cellulaire diminue au cours du temps alors que la vitesse relative d'expansion reste maximale ;
- enfin, la vitesse relative d'expansion diminue au cours du temps.

Les cinétiques de vitesse relative d'expansion et de vitesse relative de division cellulaire présentées *figure 6* sont les courbes théoriques du développement d'une feuille 8 sans contrainte. Ces cinétiques peuvent être utilisées en modélisation pour reconstruire une surface de feuille 8 mais elles peuvent également être considérées comme des courbes de base (courbes « témoins ») pour l'analyse de



l'effet de contraintes environnementales.

*Utilisation du modèle d'expansion des feuilles pour rendre compte de l'effet de contraintes hydriques (figure 6)*

### ***Effet d'un déficit hydrique sur la surface finale des feuilles***

La surface finale des feuilles est affectée par une contrainte hydrique quelle que soit la position de la contrainte par rapport au développement de la feuille (*tableau 3*), conformément aux résultats trouvés sur soja [4] et sur pois [5]. Les déficits précoces, imposés alors que la vitesse absolue d'expansion foliaire est peu élevée, sont ceux qui réduisent le plus la surface finale des feuilles (41 et 44 % de réduction par rapport au témoin, *figure 7A*). Les déficits imposés pendant que la feuille est visible et que sa vitesse absolue d'expansion est maximale causent de faibles réductions de la surface finale des feuilles (10 à 18 % de réduction par rapport au témoin, *figure 7C*). De même, plus le déficit hydrique est précoce, plus le nombre final de cellules est réduit (*tableau 3*) [28].

Les durées totales d'expansion et de divisions cellulaires depuis l'initiation de la feuille ne sont pas affectées par un déficit hydrique d'intensité habituellement rencontrée au champ (*tableau 3*). Ceci est également le cas chez le pois [29]. En revanche, si l'on considère la durée d'expansion de la feuille depuis son apparition (longueur égale à 4 cm) [24], cette durée est raccourcie par les contraintes les plus précoces (déficit 1, 2 et 3). En effet, une contrainte hydrique intervenant avant l'apparition de la feuille entraîne une réduction précoce de la vitesse d'expansion foliaire qui se traduit par une diminution de la vitesse d'apparition des feuilles (soit un retard de phyllochrone).

### ***Vitesses relatives d'expansion et de divisions cellulaires***

- La vitesse relative d'expansion des plantes en déficit hydrique est réduite pendant la contrainte, puis se rétablit dès la remise en eau. La vitesse relative d'expansion est réduite en moyenne de 36 % sur toute la période pendant laquelle le déficit est maintenu constant sans différence appréciable entre les périodes de déficit précoce ou tardif (*tableau 3*). De même, la vitesse relative de division cellulaire est réduite en moyenne de 39 % par la contrainte hydrique, quelle que soit la position du déficit par rapport au développement de la feuille (*tableau 3*).

### ***Notre modèle permet-il de rendre compte des effets des contraintes hydriques ?***

Nous avons testé la robustesse de notre modèle, en simulant l'effet de périodes de contrainte hydrique sur les cinétiques de vitesse relative d'expansion et de vitesse relative de division cellulaire (*figure 8A et C*). En considérant qu'un déficit hydrique ne réduit la vitesse relative d'expansion et de divisions cellulaires que pendant qu'il est imposé, et d'un même rapport quelle que soit sa position par rapport au développement de la feuille, les simulations obtenues rendent compte du fait que (*figure 8B et D*) :

- l'arrière effet d'une contrainte hydrique sur la vitesse *absolue* d'expansion (*figure 1C et D*) est lié à une caractéristique des processus exponentiels : la vitesse absolue est proportionnelle à chaque instant à la surface de la feuille au même instant. La surface de la feuille est réduite pendant la contrainte, si bien que la vitesse absolue est affectée après la remise en eau alors que la vitesse *relative* ne l'est pas (*figure 8A et C*). Notre formalisme rend bien compte de l'arrière-effet d'une

contrainte sur la vitesse absolue d'expansion ;

- un déficit précoce imposé pendant que la vitesse relative d'expansion est maximale, avant que la feuille ne soit apparue, affecte plus la surface finale de la feuille qu'un déficit imposé plus tardivement alors que la vitesse relative d'expansion décroît (*figure 8B et D*). C'est pourtant pendant cette dernière phase que la vitesse absolue d'expansion est maximale ;

- un déficit imposé pendant que la vitesse relative de division cellulaire est maximale affecte plus le nombre final de cellules qu'un déficit imposé alors que la vitesse relative de division cellulaire décroît [19].

## CONCLUSION

Notre formalisme, qui considère la vitesse relative et non la vitesse absolue, a donc été retenu comme le plus pertinent pour l'analyse de l'expansion et des divisions cellulaires en conditions environnementales fluctuantes. En considérant la durée d'expansion de la feuille depuis son initiation et non depuis son apparition, nous avons mis en évidence que la durée d'expansion d'une feuille, exprimée en temps thermique, est stable pour un rang de feuille donné dans une large gamme de PFD et qu'elle n'est pas affectée par des déficits hydriques modérés. Les vitesses relatives d'expansion et de divisions cellulaires, exprimées en temps thermiques, sont stables pour un rang de feuille donné dans une large gamme de températures. Elles sont réduites par un déficit hydrique et la réduction des vitesses relatives d'expansion et de divisions cellulaires ne dépend ni de la position du déficit par rapport au développement de la feuille, ni de sa durée mais seulement de son intensité. On dispose donc d'un modèle simple qui permet d'analyser l'effet de contraintes environnementales sur l'expansion des feuilles. Il peut également servir de cadre d'analyse pour la comparaison de différents génotypes de tournesol.

## Remerciements

Ce travail a été réalisé dans le cadre d'une thèse cofinancée par l'INRA et le CETIOM. Nous remercions P. Barrieu, P. Hamard, B. Suard et J.J. Thioux pour leur collaboration technique.

## REFERENCES

1. MERRIEN A (1992). Some aspects of sunflower crop physiology. Main address. Proceedings of the 13th International Sunflower Conference, Pisa (Italy) : 481-98.
2. PICQ G (1990). Résultats de l'observatoire du tournesol. *Le tournesol et l'eau. Adaptation à la sécheresse. Réponse à l'irrigation*. Les Points Sciences du Cetiom, Eds Cetiom : 105-25.
3. DEBAECKE P, RAFAILLAC D (1996). Light interception as an indicator of leaf area index and risk of diseases in sunflower. *Helia*, 19 : 1-16.
4. RANDALL HC, SINCLAIR TR (1988). Sensitivity of soybean leaf development to water deficits. *Plant, Cell and Environment*, 11 : 835-9.

5. LECŒUR J, WERY J, TURC O, TARDIEU F (1995). Expansion of pea leaves subjected to short water deficit : cell number and cell size are sensitive to stress at different periods of leaf development. *J Exp Botany*, 46 : 1093-101.
6. DENGLER NG (1980). Comparative histological basis of sun and shade leaf dimorphism in *Helianthus annuus*. *Can J Botany*, 58 : 717-30.
7. BEN HAJ SALAH H, TARDIEU F (1995). Temperature affects expansion rate of maize leaves without change in spatial distribution of cell length. Analysis of the coordination between cell division and cell expansion. *Plant Physiol*, 109 : 861-70.
8. GRANIER C, TARDIEU F (1998b). Is thermal time adequate for expressing the effects of temperature on sunflower leaf development ? *Plant, Cell Environment*, 21 : 695-703.
9. BEN HAJ SALAH H, TARDIEU F (1996). Quantitative analysis of the combined effects of temperature, evaporative demand and light on leaf elongation rate in well watered field and laboratory-grown maize plants. *J Exp Botany*, 47 : 1689-98.
10. VOLTZ M, RAMBAL S (1987). Évaluation de CORNGRO : un modèle de simulation des transferts hydriques et de la croissance d'une culture de maïs. *Agronomie*, 7 : 727-38.
11. RITCHIE JT, NESMITH DS (1991). Temperature and crop development. In : HANKS J, RITCHIE JT, eds. *Modeling plant and soil system*. Madison : American society of agronomy : 5-29.
12. JONES CA, KINIRY JR (1986). *CERES-Maize. A simulation model of maize growth and development*. Texas A&M University Press, College Station, TX ; 194 p.
13. SAAB IN, HO THD, SHARP RE (1995). Translatable RNA populations associated with maintenance of primary root elongation and inhibition of mesocotyl elongation by abscisic acid in maize seedlings at low water potentials. *Plant Physiology*, 109 : 593-601.
14. SCHÜNEMANN PHD, SMITH RC, LANG V, MATTHEWS PR, CHANDLER PM (1997). Expression of XET-related genes and its relation to elongation in leaves of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant, Cell Environment*, 20 : 1439-50.
15. QUARRIE SA, WHITFORD PN, APPLEFORD NEJ, WANG TL, COOK SK, HENSON IE (1988). A monoclonal antibody to (S)-abscisic acid : its characterisation and use in a radioimmunoassay for measuring abscisic acid in crude extract of cereal and lupin leaves. *Planta*, 173 : 330-9.
16. GRANIER C, TARDIEU F (1999). Leaf expansion and cell division are affected by reducing absorbed light before but not after the decline in cell division rate in the sunflower leaf. *Plant, Cell Environment*, in press.
17. CLOUGH BF, MILTHORPE FL (1975). Effect of water deficits on leaf development in tobacco. *Aust J Plant Physiol*, 2 : 291-300.
18. TARDIEU F, GRANIER C, MULLER B (1999). Modelling leaf expansion in a fluctuating environment : should we use equations describing carbon budget, tissue expansion or cell division ? *New Phytologist*,

143 : 33-43.

19. GRANIER C, TARDIEU F (1999a). Water deficit and spatial pattern of leaf development. Variability in responses can be simulated using a simple model of leaf development. *Plant Physiol*, 119 : 609-20.

20. BOYER JS (1970). Leaf enlargement and metabolic rates in corn, bean and sunflower at various leaf water potential. *Plant Physiol*, 46 : 233-5.

21. BARLOW EWR, BOERSMA L, YOUNG JL (1976). Root temperature and soil water potential effects on growth and soluble carbohydrate concentration of corn seedlings. *Crop Sciences*, 16 : 59-62.

22. MUNNS R, BRADY CJ, BARLOW EWR (1979). Solute accumulation in the apex and leaves of wheat during water stress. *Aust J Plant Physiol*, 6 : 379-89.

23. TURNER NC, BEGG JE, TONNET ML (1978). Osmotic adjustment of sorghum and sunflower crops in response to water deficits and its influence on the water potential at which stomata close. *Aust J Plant Physiol*, 5 : 597-608.

24. RAWSON HM, HINDMARSH JH (1982). Effects of temperature on leaf expansion in sunflower. *Aust J Plant Physiol*, 9 : 209-19.

25. GRANIER C, TARDIEU F (1998a). Spatial and temporal analyses of expansion and cell cycle in sunflower leaves. A common pattern of development for all zones of a leaf and different leaves of a plant. *Plant Physiol*, 116 : 991-1001.

26. TRAPANI N, HALL AJ (1996). Effects of leaf position and nitrogen supply on the expansion of leaves of field grown sunflower (*Helianthus annuus* L.) *Plant and Soil*, 184 : 331-40.

27. MUTSAERS HJW (1983). Leaf growth in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) 2. The influence of temperature, light, water stress and root restriction on the growth and initiation of leaves. *Ann Botany*, 51 : 521-9.

28. YEGAPPAN TM, PATON DM, GATES CT, MULLER WJ (1982). Water stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.). II. Effects on leaf cells and leaf area. *Ann Botany*, 49 : 63-8.

29. TURC O, LECCEUR J (1997). Leaf primordium initiation and expanded leaf production are coordinated through similar response to air temperature in pea (*Pisum sativum* L.) *Ann Botany*, 80 : 265-73.

Illustrations

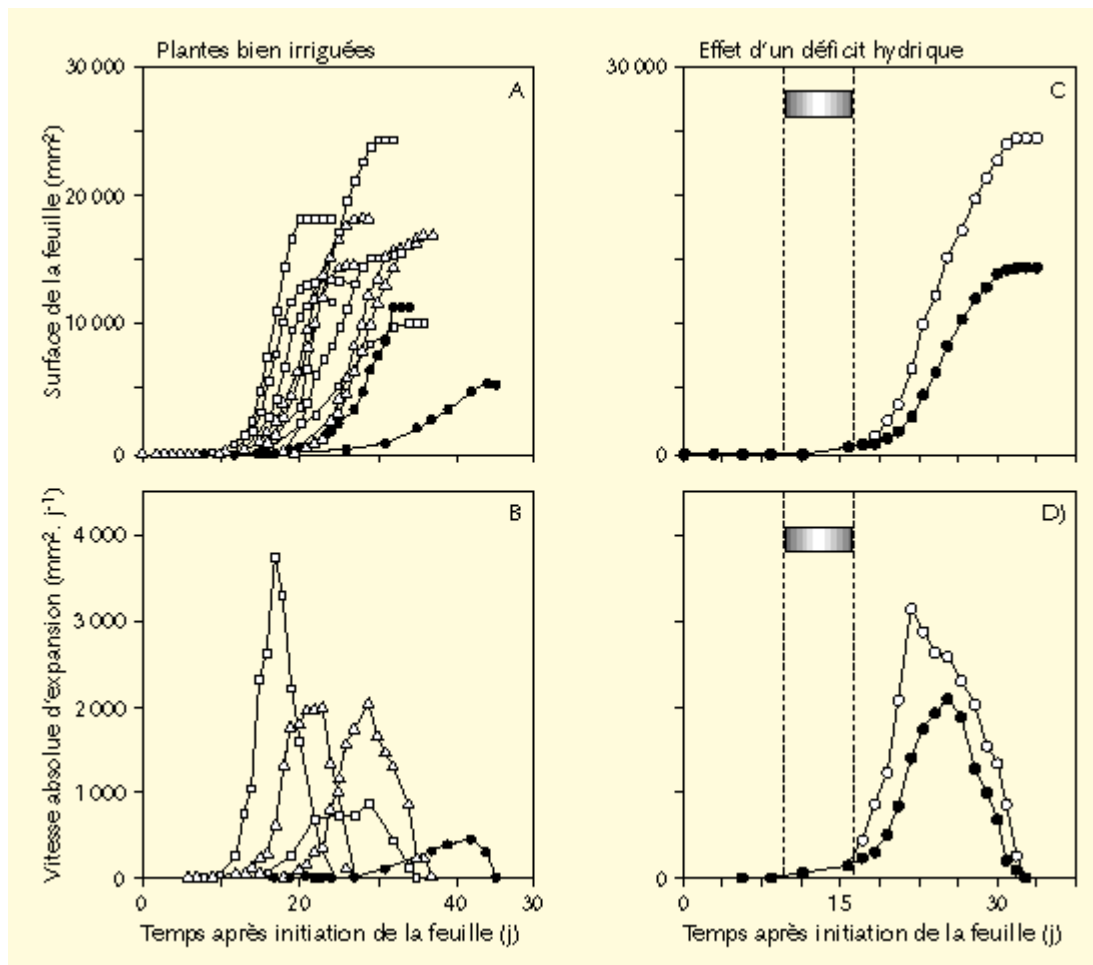


Figure 1. Évolution au cours du temps de la surface de feuilles 8 de plantes bien irriguées (A) ou subissant une contrainte hydrique (C). Les vitesses absolues d'expansion (LER) correspondantes sont représentées en (B) et (D).  
 (A, B) : Les symboles différencient les expérimentations au champ ( $\Delta$ ), en serre ( $\square$ ) et en chambre de culture ( $\bullet$ ).  
 (C, D) : les symboles différencient les feuilles 8 de plantes bien irriguées ( $\circ$ ) ou subissant une contrainte hydrique ( $\bullet$ ) au cours de l'expé. La période pendant laquelle le déficit hydrique est imposé est délimitée par des lignes verticales en pointillés.

Nombre de cellules épidermiques ( $10^6$ )

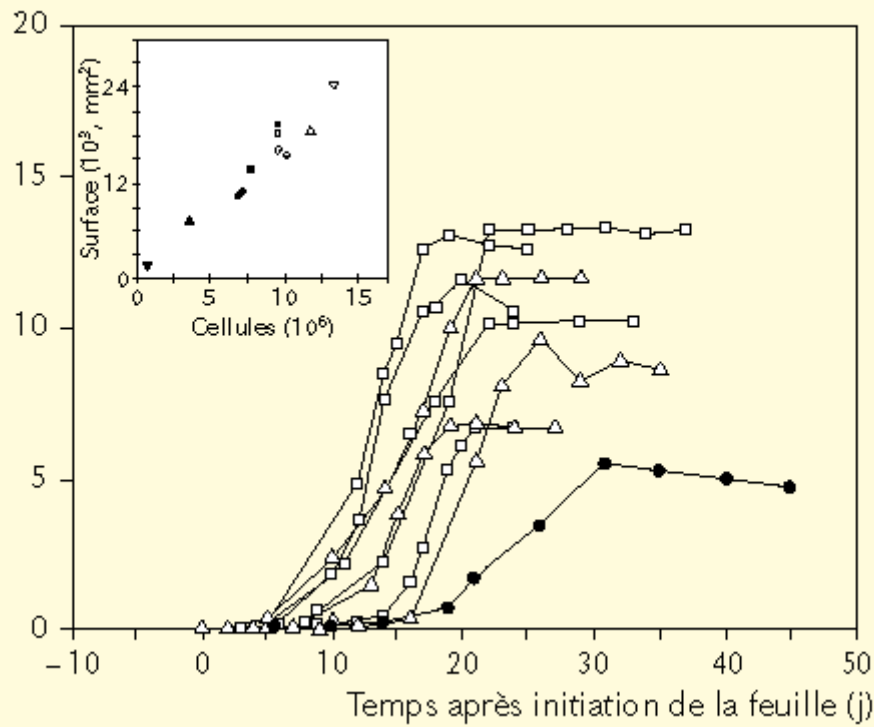


Figure 2. Évolution au cours du temps du nombre de cellules épidermiques par feuille 8 de plantes bien irriguées. Les symboles différencient les expérimentations au champ ( $\Delta$ ), en serre ( $\square$ ) et en chambre de culture ( $\bullet$ ). Insert : relation entre la surface finale d'une feuille 8 et son nombre de cellules épidermiques final.

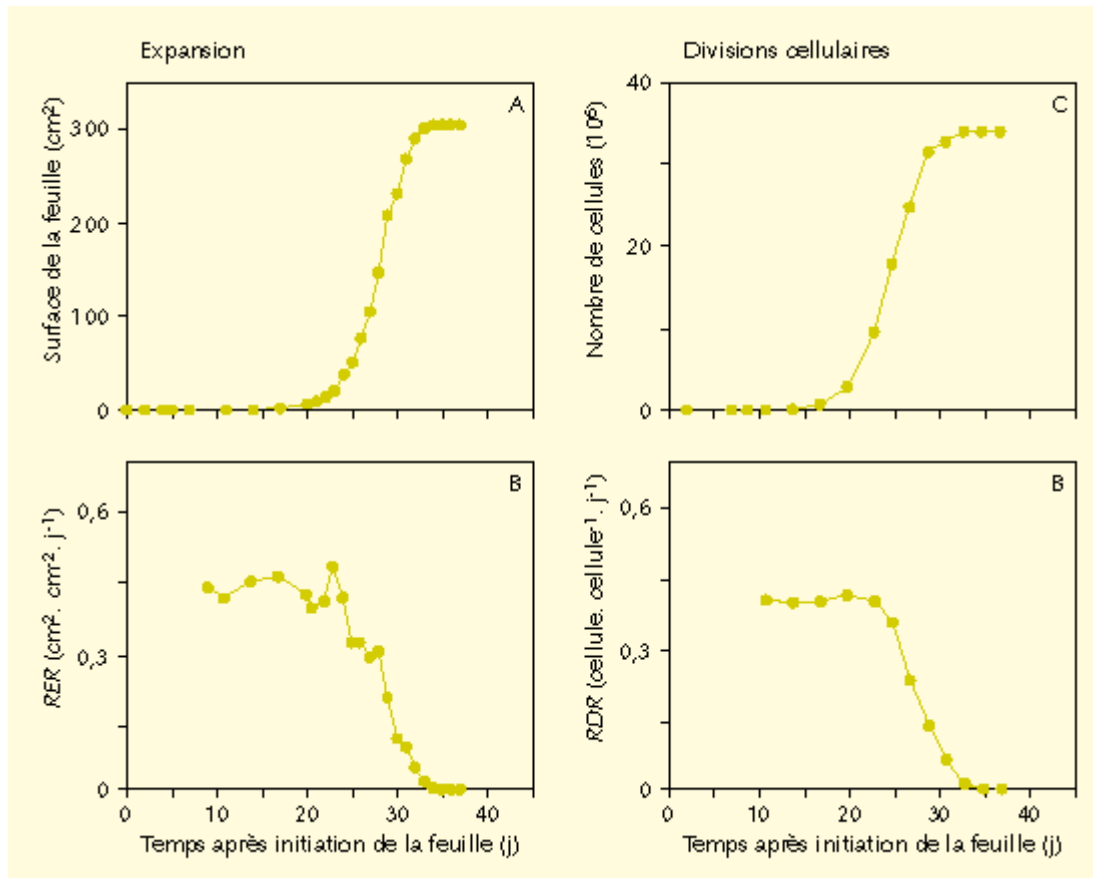


Figure 3. Évolution au cours du temps de la surface (A) et du nombre de cellules épidermiques (C) d'une feuille 16 de plantes bien irriguées. Les évolutions de la vitesse relative d'expansion (RER) et de la vitesse relative de division cellulaire (RDR) correspondantes sont représentées en (B) et (D).

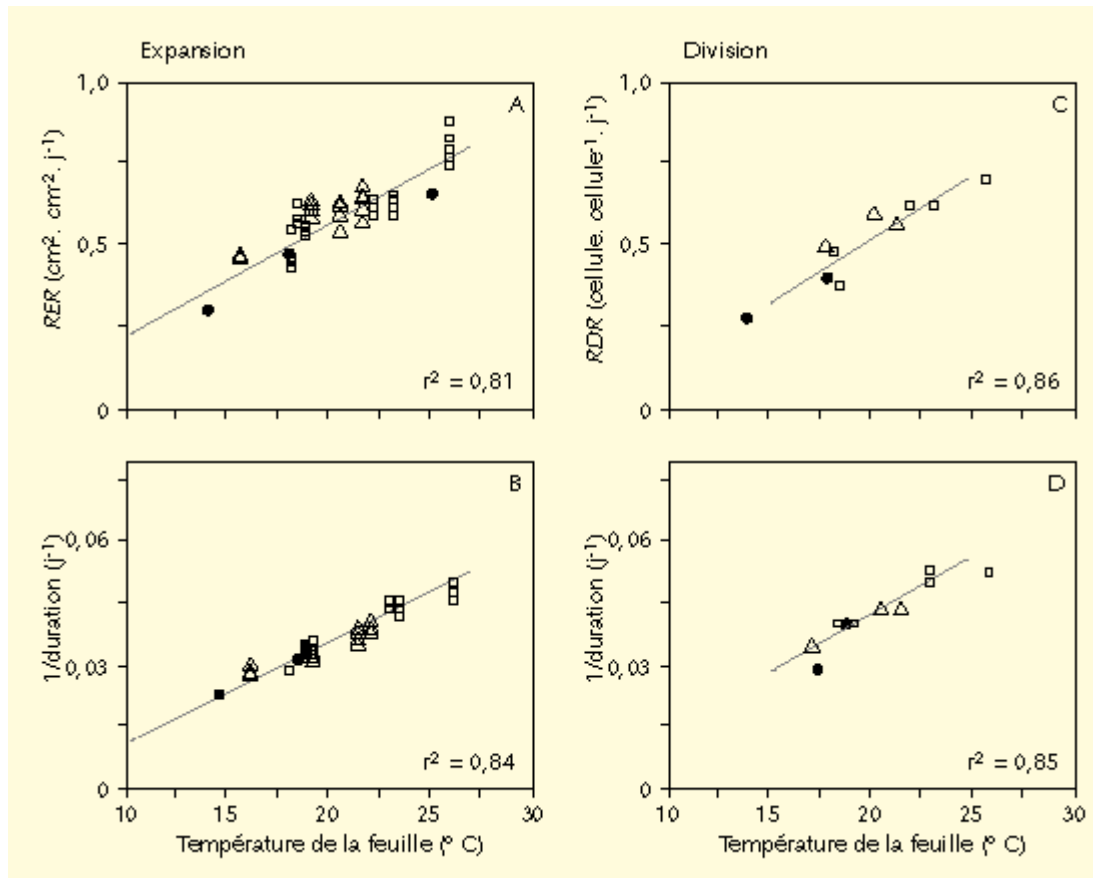


Figure 4. Relations entre la vitesse relative d'expansion de la feuille (RER) (A), la vitesse relative de division cellulaire (RDR) (C), l'inverse de la durée totale d'expansion de la feuille (B), ou l'inverse de la durée totale des divisions cellulaires (D) et la température moyenne de la feuille. Les droites sont des régressions linéaires obtenues sur toutes les données. Les  $r^2$  de chacune des régressions sont représentés. Les symboles différencient les expérimentations au champ ( $\Delta$ ), en serre ( $\square$ ) et en chambre de culture ( $\bullet$ ).



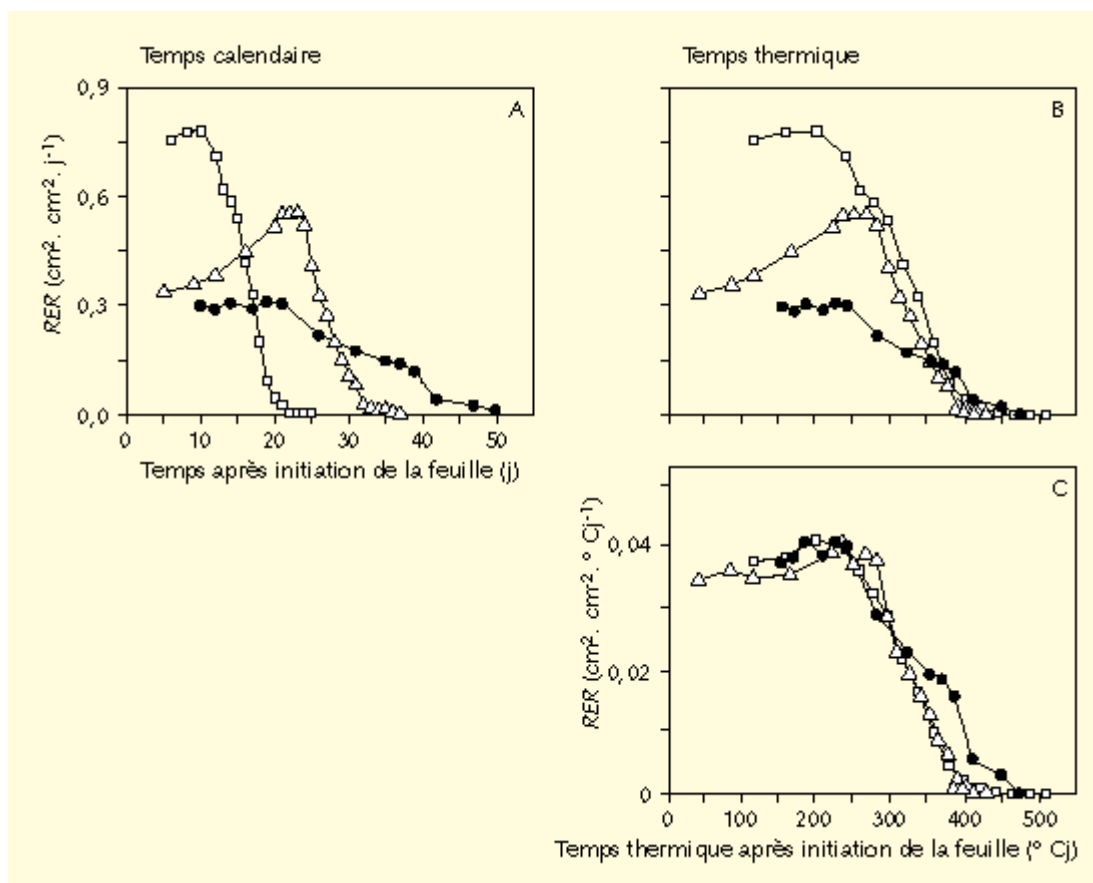


Figure 5. Évolutions au cours du temps de la vitesse relative d'expansion (RER) dans des feuilles 8 au cours de trois expérimentations en températures contrastées :

- température fluctuante, en serre, en juillet 1995 (température moyenne de 26 °C, □),
- température fluctuante, au champ, en mai 1995 (température moyenne de 18,5 °C, △),
- température stable, en chambre de culture (température de 14 °C, ●),

A : le temps et la vitesse relative d'expansion sont exprimés en temps calendaire.

B : le temps est exprimé en temps thermique et la vitesse relative d'expansion en temps calendaire.

C : le temps et la vitesse relative d'expansion sont exprimés en temps thermique.

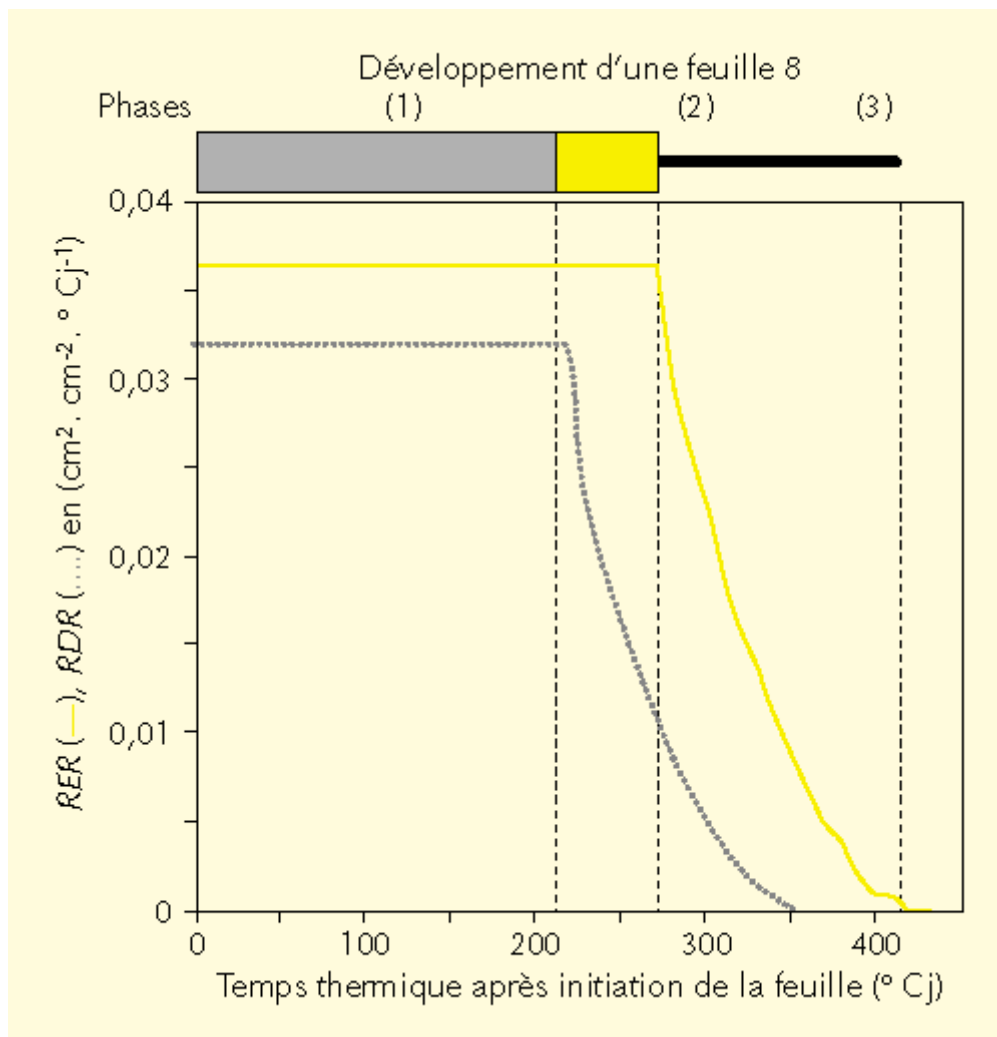


Figure 6. Cinétiques théoriques de la vitesse relative d'expansion (RER) et de la vitesse relative de division cellulaire (RDR) exprimées en temps thermique dans des feuilles 8. Ces cinétiques délimitent trois phases du développement de la feuille (phases 1, 2 et 3, voir texte).

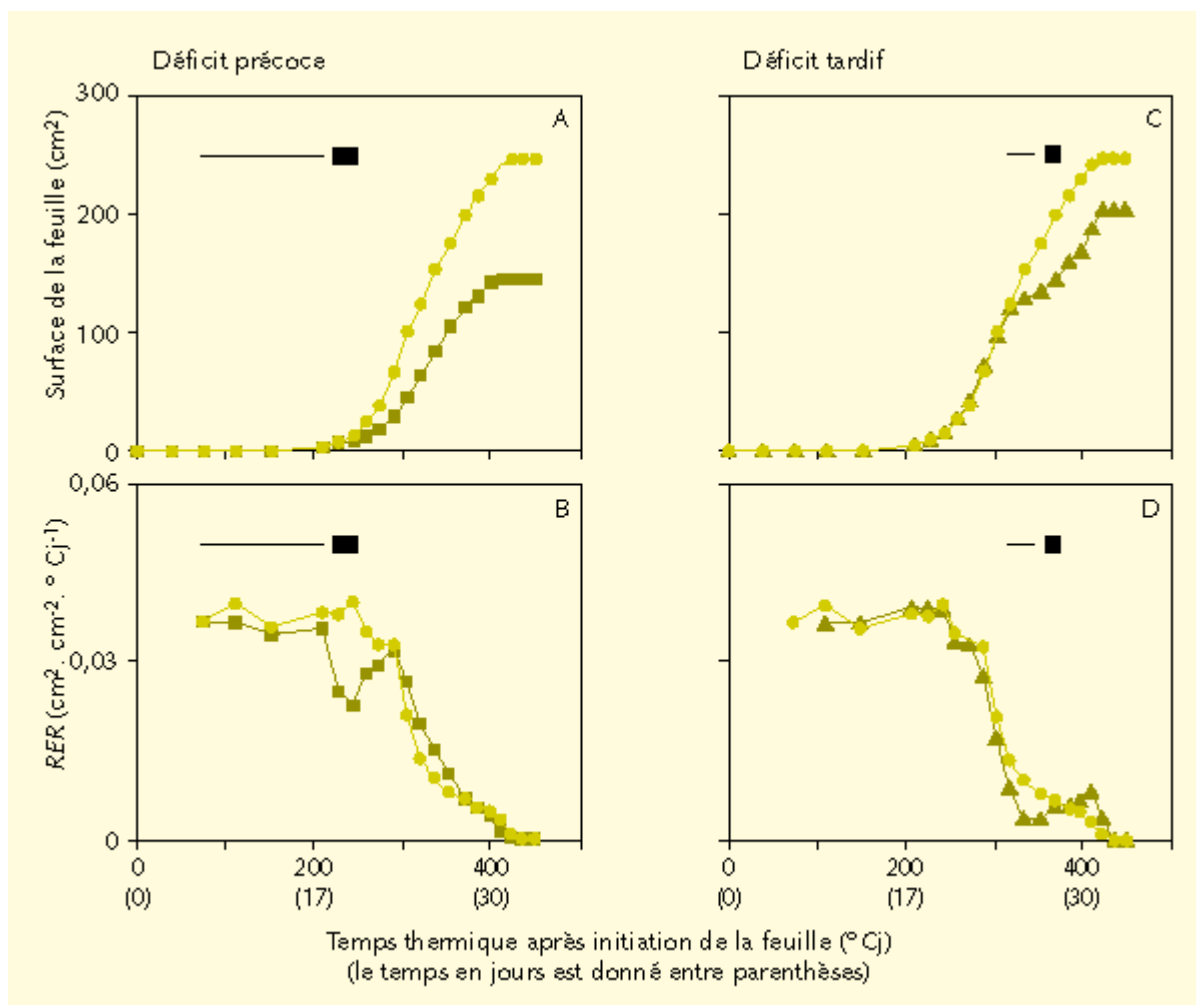


Figure 7. Évolution au cours du temps de la surface (A, C) de feuilles 8 de plantes bien irriguées (symboles verts) ou subissant une contrainte hydrique (symboles gris) précoce (A) ou tardive (C). Les évolutions des vitesses relatives d'expansion (RER) correspondantes sont représentées en (B) et (D). La période de déficit, précoce (A) ou tardive (C) est notée par un rectangle de la même façon que sur la figure 1C.

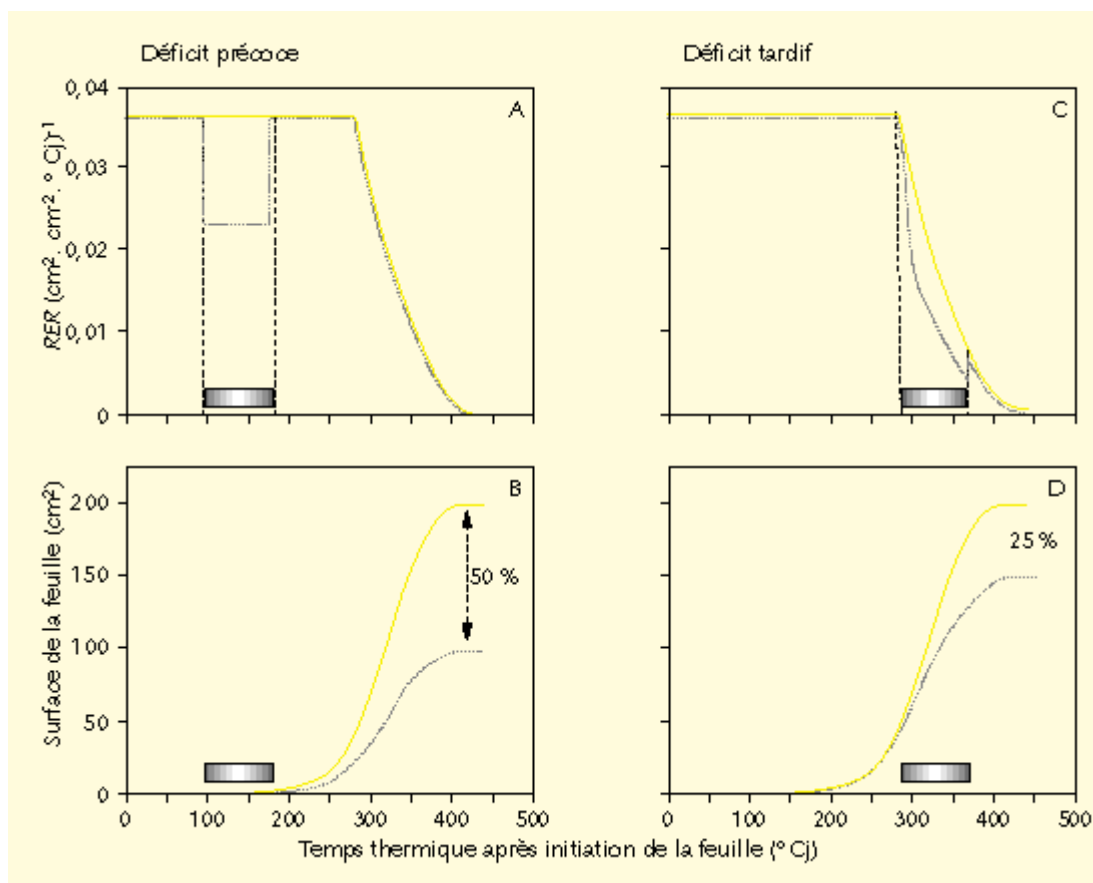


Figure 8. Simulation de l'effet d'une période de contrainte hydrique de 75 °Cj, imposée précocement (A) ou tardivement (C) par rapport au développement d'une feuille 8. Ces contraintes affectent la vitesse relative d'expansion de 36 % pendant qu'elles sont imposées. Les effets de cette réduction de la vitesse relative d'expansion sur la surface de la feuille 8 sont reportés respectivement en (C, D). La période de déficit, précoce (A) ou tardive (C), est notée par un rectangle de la même façon que sur la figure 7. Le trait plein représente les évolutions de la vitesse relative d'expansion et de la surface des feuilles 8 de plantes témoins, le trait en pointillé représente les évolutions correspondantes des feuilles 8 de plantes en déficit hydrique.

Exp.	Température de l'air jour/nuit (°C)	PPFD cumulé sur 24 h (mol m <sup>-2</sup> .j <sup>-1</sup> )	Durée de l'expansion avec VPD > 3kPa (% du total)	Photopériode (h)
Cha-Avr 95	18,0/11,5	32,0	0,1	14,0
Cha-Mai 95	19,0/13,0	39,5	0,5	14,5
Cha-Mai 96	26,3/18,2	50,1	9,0	15,0
Cha-Jun 96	25,9/17,5	50,0	15,0	15,5
Ser-Fev 95	20,0/17,1	11,3	0	14,0*
Ser-Avr 95	22,0/15,9	18,1	0	14,5*
Ser-Jul 95	29,0/22,5	26,6	11,3	15,0
Ser-Sep 95	25,9/21,3	19,7	0,2	13,5
Ser-Mar 96	20,5/15,2	16,5	0	15,0*
Ser-Jul 96	26,5/22,4	26,7	1,4	15,0
CDC-14 °C	13,9/13,8	14	0	16,0
CDC-18 °C	18,0/17,8	14	0	16,0
CDC-25 °C	25,0/25,0	14	0	16,0

Tableau 1. Conditions environnementales. Les moyennes sont calculées pendant la durée totale de l'expansion de la feuille 8. La durée d'expansion pendant laquelle le VPD est supérieur à 3 kPa a été calculée en pourcentage de la durée totale d'expansion

\* Indique que de la lumière artificielle a été apportée aux plantes.

Exp.	Défiat	Arrêt de l'irrigation (°C <sub>i</sub> , (j))	Défiat constant (°C <sub>i</sub> , (j))	Remise en eau (°C <sub>i</sub> , (j))	Ψ <sub>base</sub> (MPa)	[ABA] <sub>xyl</sub> (nmol)
Ser-Avr 95	1	53 (4)	200 (15)	268 (19)	-0,68	78
Ser-Jul 96	2	143 (10)	193 (12)	286 (16)	-0,68	*
Ser-Jul 95	3	178 (9)	211 (10)	305 (14)	-0,65	80
Ser-Sep 95	4	243 (13)	288 (15)	336 (18)	-0,62	*
Ser-Avr 95	5	299 (21)	337 (24)	395 (27)	-0,60	60
Ser-Jul 95	6	323 (15)	351 (17)	449 (21)	-0,68	83

Tableau 2. *Caractéristiques des déficits hydriques au cours de chacune des expérimentations en serre. Les dates d'arrêt d'irrigation, de début de période avec un déficit constant et de remise en eau sont données en temps thermique et en temps calendaire (parenthèse) après initiation de la feuille 8. L'intensité des déficits est caractérisée par le potentiel hydrique foliaire de base (psibase) et la concentration en ABA du xylème ([ABA]<sub>xyl</sub>)*

\* Indique que la concentration en ABA du xylème n'a pas été mesurée dans ces expérimentations.

Exp.	Défiat	Réduction de la surface finale (% du témoin)	Réduction du nombre final de cellules (% du témoin)	Réduction de la RER (% du témoin)	Réduction de la RDR (% du témoin)
Ser-Avr 95	1	41	40	40	40
Ser-Jul 96	2	44	45	36	36
Ser-Jul 95	3	30	25	30	42
Ser-Sep 95	4	34	20	36	40
Ser-Avr 95	5	18	0	30	0
Ser-Jul 95	6	10	0	40	0

Tableau 3. *Les réductions de la surface finale des feuilles 8, du nombre final de cellules, de la vitesse relative d'expansion (RER) et de la vitesse relative de divisions cellulaires (RDR) causées par le déficit hydrique sont données en pourcentage de réduction par rapport au « témoin » de la même expérimentation*