



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

136035443 1

03INPL057N

[M] 2003 MARCHAND A-L.



UNITE MIXTE DE RECHERCHE
AGRONOMIE ET ENVIRONNEMENT
NANCY-COLMAR

Mémoire de thèse présenté pour l'obtention du
DIPLOME de DOCTORAT de l'INPL
Spécialité "Sciences Agronomiques"

par **Anne-Laure Marchand**

Etude de la rhizodéposition chez le maïs :
Influence de la distribution des photo-assimilats aux racines
et de la morphologie racinaire

Soutenu publiquement le 14 octobre 2003 devant la Commission d'examen

M. Jean-Bernard CLIQUET (Maître de Conférence, Université de Caen)
M. Emmanuel FROSSARD (Professeur, Ecole Polytechnique Fédérale de Zurich)
M. Philippe HINSINGER (Chargé de Recherche, INRA de Montpellier)
M. Christophe NGUYEN (Chargé de Recherche, INRA-ENSAIA Nancy)
M. Sylvain PLANTUREUX (Professeur, ENSAIA Nancy)
M. Christophe ROBIN (Chargé de Recherche, INRA-ENSAIA Nancy)

Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Examineur
Examineur

Service Commun de la Documentation
INPL
Nancy-Brabois

Remerciements

Je tiens à remercier en premier lieu le professeur **Armand Guckert**, Professeur Émérite de l'ENSAIA, qui m'a donné l'opportunité de réaliser cette thèse.

Merci également à **Sylvain Plantureux**, Professeur à l'ENSAIA, qui a pris la relève et qui m'a fait confiance en me donnant la possibilité d'enseigner l'écophysiologie végétale pendant une année au sein de l'ENSAIA. Qu'il trouve ici le témoignage de mon profond respect.

Merci à **Christophe Robin**, Chargé de Recherche à l'INRA de Champenoux et directeur de thèse pour l'ensemble de ces 4 années. Je lui suis très reconnaissante pour sa grande disponibilité et son écoute, ainsi que pour ses conseils et ses encouragements.

Je remercie tout particulièrement **Christophe Nguyen**, Chargé de Recherche à l'INRA de Champenoux et co-directeur de ma thèse. Sa base de données bibliographiques et ses conseils judicieux ont été une source d'inspiration constante tout au long de ma thèse. Je n'oublierai pas non plus sa bonne humeur et sa disponibilité pour discuter et/ou faire des analyses statistiques avec moi.

J'exprime toute ma gratitude à **M. Emmanuel Frossard**, Professeur à l'Ecole Polytechnique Fédérale de Zurich et à **M. Jean-Bernard Cliquet**, Maître de Conférence à l'Université de Caen, pour avoir accepté de juger ce manuscrit en tant que rapporteurs.

Merci à M. Philippe Hinsinger, Chargé de Recherche à l'INRA de Montpellier, d'avoir bien voulu juger ce travail en tant qu'examineur.

Je remercie vivement **Avan Fuad-Hassan** et **Frédéric Henry** pour leur aide lors des récoltes et des manipulations un peu lourdes à faire seule... ainsi que pour les discussions fructueuses lors des analyses statistiques de mes résultats. Merci également à **Patrice Marchal**, technicien du laboratoire, pour son aide lors des analyses des échantillons végétaux. Qu'ils acceptent ici le témoignage de mon amitié et de ma reconnaissance.

Un grand merci en particulier tous ceux qui m'ont initié à de nouvelles techniques :

- à **Emile Benizri**, professeur à l'ENSAIA, pour m'avoir initiée aux techniques de cultures hydroponiques stériles ;
- à **Marie-Béatrice Triboulot**, Chargé de Recherche à l'INRA de Champenoux, pour le prêt du dispositif MacRhizo® (analyse de la morphologie racinaire), et avoir pris le temps de m'expliquer le principe et le fonctionnement du logiciel;
- à **Gérard Burtin**, du CNRS de Nancy, pour m'avoir appris à quarter le sol utilisé dans mes expériences.

Je remercie aussi **Claude Bazard**, Chargé de Recherche à l'INRA de Mirecourt, qui a fourni à l'équipe le sol utilisé dans nos expériences.

Mes remerciements s'adressent également à :

- **Dominique Thiery** pour la fabrication des pots et les nombreux problèmes liés aux phytotrons,
- **Michel Philbert** pour les lyophilisations et la mise en place dans les serres des travaux pratiques que j'ai donné lors de ma dernière année de thèse. Il m'a permis de rédiger plus sereinement,
- **Phuy-Chhoy Vong** qui m'a conseillé en radioprotection lorsque les expériences le nécessitaient,
- **Thamara Olivier, Marie-France Susset et Anne-Marie Claude** pour leur soutien dans les tâches administratives et logistiques.

J'exprime toute ma sympathie à **Frank Pervanchon**, collègue et ami, qui a toujours été présent et disponible depuis le début de la thèse. Je tiens à le remercier ici pour le temps qu'il a su me consacrer, et la bonne humeur de notre bureau commun.

Pour la bonne humeur générale au sein du laboratoire, merci à **Ezékiel** et son cynisme débridé, à **Antoine** pour ses conversations cultivées, à **Séverine** et **Sophie** pour leur soutien pendant la rédaction, et enfin à **Fred** et **Sébastien** qui se sont lancés récemment dans l'élevage porcin virtuel.

Tous mes vœux de réussite aux doctorants du laboratoire, et particulièrement à **Fred, Vincent, Karine et Odile**. Bonne continuation !

A **mes parents**, qui m'ont soutenue moralement et financièrement jusqu'à ce que je puisse voler de mes propres ailes.

Enfin, un remerciement tout particulier à **Dimitri**, qui m'a soutenue pendant les moments les plus durs, à **Eglantine**, ma fille, qui est venue enrichir ma vie il y a déjà presque un an... et au prochain bébé qui sera là bientôt ! Tous les trois m'ont apporté une autre vision du monde et m'ont aidé à traverser plus sereinement les différentes épreuves de la thèse.

Sommaire

Remerciements	1
Sommaire	3
Introduction	7
Synthèse bibliographique	10
.I La rhizodéposition : aspects qualitatifs et quantitatifs	12
II..A Définitions	12
II..B Nature des rhizodépôts	12
.II.B.1 Les exsudats	13
Définition	13
Composition	15
Fonctions	15
Réabsorption	16
.II.B.2 Les sécrétions	18
Définition	18
Synthèse et sécrétion des mucilages	18
Composition	19
Fonctions	19
II..C Mesure de la rhizodéposition	20
.II.C.1 Dispositifs d'étude de la rhizodéposition	20
Etude en sol	22
Etudes en conditions stériles : caractérisation et quantification du flux de rhizodéposition	27
.II.C.2 Données quantitatives de rhizodéposition	28
.II.C.3 Facteurs modifiant la rhizodéposition	29
Stade de développement	31
Concentration atmosphérique en CO ₂	32
Fertilisation azotée	33
.II.C.4 Conclusion	34
.II Modélisation de la rhizodéposition	35
II..A Modélisation de l'exsudation et de la réabsorption des composés solubles dans des systèmes hydroponiques.	36
II..B Modélisation de la rhizodéposition <i>in situ</i> .	40
II..C Conclusion sur les modèles de rhizodéposition	43
II..D Variables potentielles pour modéliser la rhizodéposition	43
.II.D.1 La concentration en carbone soluble et la morphologie des racines	43

.II.D.2 Variables liées à la quantité de sucres solubles présente dans les parties aériennes	46
.II.D.3 Variables liées à la répartition des assimilats entre les parties aériennes et les racines	48
.III Conclusion et perspectives de recherche	55
Matériels et Méthodes	60
.I Matériel végétal et conditions de culture	60
I..A Matériel végétal	60
I..B Culture en sol	60
I..C Culture en hydroponie	62
.I.C.1 Premier dispositif : tube en verre	62
.I.C.2 Deuxième dispositif : pot en verre	65
.I.C.3 Stérilisation du dispositif expérimental et des semences :	65
Stérilisation des dispositifs de culture sur billes de verre	65
Désinfection des graines de maïs	65
.I.C.4 Conditions de développement	66
.II Réduction de l'allocation d'assimilats aux racines	68
II..A Choix de la méthode	68
II..B Mise au point de la destruction partielle des vaisseaux de phloème de la tige	68
Coupes fines à main levée	70
Conséquence de la brûlure sur le prélèvement d'eau par les parties aériennes	70
Etude de l'activité métabolique des racines des plantes brûlées en conditions stériles	71
.III Marquage ponctuel des parties aériennes au $^{14}\text{CO}_2$	73
III..A Séparation hermétique du compartiment souterrain	73
III..B Marquage ponctuel des parties aériennes	77
.III.B.1 Production du $^{14}\text{CO}_2$ dans l'atmosphère de l'enceinte	77
.III.B.2 Maintien de l'activité spécifique dans la chambre	79
.III.B.3 Fin du marquage	79
.IV Récolte après le marquage	79
IV..A Parties aériennes et racines	81
.IV.A.1 Parties aériennes	81
.IV.A.2 Racines	81
IV..B_ Extraction de la fraction de carbone soluble et de l'amidon contenus dans les feuilles et les racines	83
IV..C Analyse du sol	83
.IV.C.1 Protocoles de récolte du sol adhérent et du sol non adhérent	83
.IV.C.2 Mesure de la biomasse microbienne	84
IV..D Billes et solution nutritive	86
.V Cinétique d'exsudation du maïs en conditions stériles	86

.VI Analyses du ^{14}C et du C total des échantillons	88
VI..A Analyses du C total	88
.VI.A.1 Poudre des échantillons végétaux et de sol :	88
.VI.A.2 Solutions :	88
VI..B Analyses du ^{14}C	89
.VI.B.1 Echantillons végétaux :	89
.VI.B.2 Echantillons de sol :	89
.VI.B.3 Solutions :	90
VI..C Expression des résultats concernant la radioactivité des compartiments	91
.VI.C.1 $^{14}\text{C}_i$ (kBq)	91
.VI.C.2 % RTR _i	91
.VII Traitement des données	92
<i>Influence de l'allocation des assimilats aux racines sur la rhizodéposition carbonée</i>	93
.I Mise au point de la destruction partielle des cellules du phloème sur une tige de maïs et étude de ses conséquences sur la plante	96
I..A Temps d'application du jet de vapeur	96
I..B _____ Impact de la destruction partielle des cellules du phloème sur l'activité métabolique du système racinaire	97
.I.B.1 Biomasses végétales	99
.I.B.2 Respiration racinaire	99
.I.B.3 Activité réductrice des sels de tétrazolium des racines	100
I..C Impact de la destruction partielle des cellules du phloème sur le prélèvement d'eau des parties aériennes	100
.I.C.1 Biomasses végétales	102
.I.C.2 Humidité et potentiel hydrique foliaire	102
I..D Conclusion	102
.II _____ Conséquences d'une réduction d'allocation d'assimilats aux racines sur la rhizodéposition en sol.	104
II..A Introduction	104
II..B Résultats	104
.II.B.1 Biomasses des organes végétaux et teneur en amidon des racines	104
.II.B.2 Bilan carboné	107
II..C Discussion	112
II..D Conclusion	114
<i>Relations entre la concentration de composés solubles des racines, la morphologie racinaire et la rhizodéposition</i>	116
.I Introduction	116

.II Résultats	119
II..A Expérience 1	119
.II.A.1 Biomasses et données morphologiques des systèmes racinaires	119
.II.A.2 Assimilation du $^{14}\text{CO}_2$ et répartition des assimilats	123
.II.A.3 Relation entre la quantité de rhizodépôts retrouvés dans le système de culture et les variables racinaires.	126
II..B Expérience 2	131
.II.B.1 Biomasses et données morphologiques des systèmes racinaires	131
.II.B.2 Cinétique de rhizodéposition	133
.II.B.3 Relation entre le flux net de rhizodéposition et les variables racinaires.	137
II..C Discussion et perspectives en vue de modéliser la rhizodéposition	138
.II.C.1 Elaboration d'un modèle simple de rhizodéposition <i>in vitro</i>	139
.II.C.2 Paramétrage du modèle	142
.III Discussion	142
.IV Conclusion	145
Conclusions générales et perspectives	146
Références bibliographiques	150
Table des illustrations	163
.I Liste des figures	163
.II Listes des tableaux	169
.III Listes des photographies	172
Annexes	173

Introduction

La rhizosphère est définie comme étant le volume de sol soumis à l'influence des racines vivantes. Ce mot a pour origine *rhiza*, terme grec désignant la racine, et sphère, qui dénote un environnement ou une aire d'influence. Le concept de rhizosphère a été proposé dès 1904 par Lorentz Hiltner, professeur et microbiologiste du sol au Collège Technique de Munich en Allemagne, qui avait constaté un développement microbien plus important à proximité des racines par rapport au reste du sol. Le volume rhizosphérique représente une fraction très variable du sol, selon les écosystèmes considérés (Coleman *et al.*, 1978).

La libération des composés organiques par les racines vivantes dans le sol, désignée par le processus de rhizodéposition (Shamoot *et al.*, 1968), est spécifique à la rhizosphère et contribue notamment à enrichir le sol en matière organique (Lespinat *et al.*, 1975; Guckert *et al.*, 1992). Une analyse de la littérature indique que l'apport annuel au sol par cette voie représente de 0,8 à 2,2 tonnes de carbone par hectare et par an (Barber et Martin, 1976; Johnen et Sauerbeck, 1977; Merckx *et al.*, 1985; Keith *et al.*, 1986) et jusqu'à 40 % de l'assimilation nette de C par la plante (Whipps, 1987; Kuzyakov et Domanski, 2000). Ces composés organiques carbonés libérés par les racines sont désignés sous le terme générique de rhizodépôts. La quantité et la nature des rhizodépôts varient en fonction de nombreux facteurs comme le stade de développement des plantes, la zone racinaire considérée et les paramètres environnementaux (Curl et Truelove, 1986). D'après la littérature, ils sont essentiellement composés de sucres simples, d'acides aminés et organiques (90 %) et de polysaccharides (5 %) (Nguyen, 2003).

Les rhizodépôts ont un rôle trophique majeur car ils servent de substrats pour le développement de la microflore du sol. Ainsi, la densité et l'activité des microorganismes sont augmentées dans la rhizosphère (Hiltner, 1904; Curl et Truelove, 1986). Certains rhizodépôts en faible concentration ont un rôle structurant sur les communautés qui les identifient comme signaux moléculaires (Buée *et al.*, 2000; Debelle *et al.*, 2001; Savka *et al.*, 2002). Ainsi, les rhizodépôts favorisent le développement de bactéries de type PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria, (Kloepper et Schroth, 1978) qui stimulent la croissance végétale en produisant des substances de croissance ou en limitant l'action des agents phytopathogènes (Bally *et al.*, 1999). En stimulant l'activité microbienne tellurique, les rhizodépôts peuvent accélérer la

biodégradation des pesticides dans les sols (Erickson *et al.*, 1994; Buyanovsky *et al.*, 1995; Fang *et al.*, 2001a; Marchand *et al.*, 2002). Enfin, les rhizodépôts ont un rôle structurant pour le sol. Par exemple, les polysaccharides libérés par les racines augmentent la stabilité des agrégats (Guckert *et al.*, 1975). Ils contribuent de plus à l'augmentation de la capacité d'échange cationique et donc au stock de cations disponibles pour la plante et ils interviennent dans la complexation des métaux (Mench, 1985).

Les micro-organismes du sol étant les moteurs du fonctionnement des sols, leur stimulation par les rhizodépôts confère des enjeux agro-environnementaux très importants aux études sur la rhizosphère, comme la dynamique de la matière organique du sol ou la santé des plantes.

L'ensemble des travaux relatifs à la thèse s'est déroulé au sein de l'équipe « Rhizosphère » du laboratoire Agronomie et Environnement de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires de Nancy (U.M.R. 12/1121 INRA-INPL (ENSAIA)). La thèse s'inscrit dans une démarche plus globale de l'équipe dont l'objectif est de quantifier, caractériser et modéliser la rhizodéposition de plantes d'intérêt agronomique pour ensuite envisager de pouvoir orienter, *via* les rhizodépôts, le développement et le fonctionnement des communautés ou populations microbiennes. Il s'agit également de prendre en compte le fonctionnement rhizosphérique, permettant de définir ou d'affiner des pratiques agricoles respectueuses de la qualité des sols en entretenant le pool de matières organiques et de la biomasse microbienne (Guckert *et al.*, 1975; Boeuf *et al.*, 1993; Boeuf-Tremblay *et al.*, 1995; Nguyen *et al.*, 1999; Nguyen et Guckert, 2001; Todorovic *et al.*, 2001).

Actuellement, malgré la profusion de travaux relatifs à la rhizodéposition, les mécanismes de la rhizodéposition restent à clarifier. La multiplicité des études sur la rhizosphère va généralement de pair avec une hétérogénéité des conditions expérimentales et de l'expression des résultats. Aussi, aucune conclusion définitive n'a-t-elle été émise sur les processus intrinsèques à la plante qui régissent la rhizodéposition. Dans ce contexte, l'objectif de la thèse est de comprendre pourquoi un système racinaire libère des quantités variables de composés organiques. La démarche proposée consiste à identifier des variables relatives à la plante qui régissent la libération des rhizodépôts par les racines dans le sol. Enfin, une approche de modélisation de la rhizodéposition est proposée.

La plante modèle utilisée pour cette étude est le maïs au stade végétatif. Cette plante est choisie car elle a été beaucoup étudiée sur le plan agronomique, physiologique et écophysiologique et elle présente une forte rhizodéposition à ce stade de développement. De plus, le maïs constitue une des plantes modèles de l'équipe. Ainsi, il est possible de discuter les résultats obtenus à partir des connaissances déjà acquises par l'équipe ou disponibles dans la littérature scientifique.

Ce mémoire débute par un bilan des connaissances sur la rhizodéposition permettant d'étayer les hypothèses de notre travail. Les matériels et méthodes utilisés sont ensuite succinctement exposés. Enfin, les principaux résultats obtenus sont présentés puis discutés. Une conclusion générale synthétisant le travail et ses perspectives est proposée en fin de document.

Synthèse bibliographique

Depuis l'introduction du concept de rhizosphère par Hiltner, de nombreux travaux de recherche dans des disciplines variées (microbiologie, environnement, agronomie, physiologie, science du sol...) ont été conduits pour comprendre le fonctionnement de cette interface particulièrement complexe entre la plante, le sol, les micro-organismes et la microfaune. Même si, comme nous le verrons dans ce chapitre, les connaissances ont progressé, il n'en reste pas moins que des progrès doivent encore être accomplis sur le fonctionnement intégré de la rhizosphère. Ainsi, la quantification des flux de carbone vers la rhizosphère et les variables explicatives de la libération de C par les racines doivent être précisées pour maîtriser ces flux et pour orienter le fonctionnement rhizosphérique *via* les micro-organismes.

L'objectif de la synthèse bibliographique est de rassembler les connaissances actuelles sur la rhizodéposition afin d'exposer la problématique de la thèse et de formuler les hypothèses de travail. Dans un premier temps, nous aborderons les caractéristiques des rhizodépôts et les dispositifs expérimentaux qui permettent de les quantifier. Dans l'objectif d'élaborer un modèle de rhizodéposition, nous nous intéresserons ensuite aux variables racinaires qui peuvent modifier la quantité de rhizodépôts libérée dans le milieu extérieur.

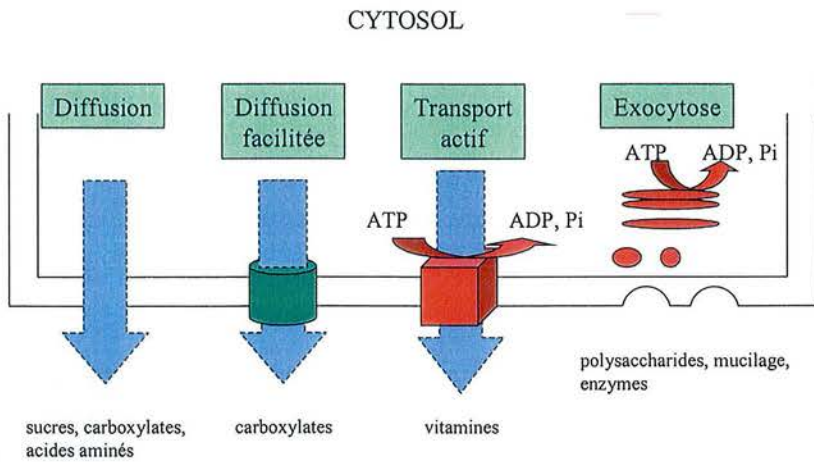


Figure 1 : Différents mécanismes impliqués dans la libération des rhizodépôts par les cellules racinaires vivantes, d'après Neumann et Römheld, 2001.

.I La rhizodéposition : aspects qualitatifs et quantitatifs

II..A Définitions

Une multitude de composés organiques est libérée par les racines vivantes dans la rhizosphère : ce sont les rhizodépôts *sensu stricto*. Le processus de libération des rhizodépôts est nommé rhizodéposition.

Certaines difficultés méthodologiques ne permettent pas de distinguer la fraction de rhizodépôts minéralisée par la microflore du sol. Aussi, certains auteurs emploient-ils le terme rhizodépôts en incluant la respiration rhizosphérique (respiration des racines + celle de la minéralisation des rhizodépôts).

Dans la suite de cet exposé, nous employerons les termes rhizodépôt et rhizodéposition dans leur strictes définitions. Lorsque la quantification des rhizodépôts inclut la respiration rhizosphérique, nous le préciserons.

Dans le paragraphe suivant, nous présentons les différentes catégories de rhizodépôts, leur mode de libération et leurs fonctions démontrées ou supposées. Au vu des difficultés rencontrées pour quantifier la rhizodéposition et ses composantes, nous insisterons sur les techniques permettant de mesurer ou estimer ces différents flux de C rhizosphérique (intérêt, limites...). Les facteurs qui modifient la rhizodéposition seront ensuite brièvement évoqués.

II..B Nature des rhizodépôts

La composition des rhizodépôts, leurs propriétés chimiques et leurs modes de libération sont divers (Figure 1), ce qui rend leur classification difficile. Nous nous basons sur la classification proposée par Rovira *et al.* (1979) qui distinguent les composés organiques libérés selon des mécanismes de transport actif ou passif et ceux qui résultent du renouvellement des cellules racinaires.

Cette classification distingue :

- les **exsudats *sensu stricto***. Les exsudats sont libérés passivement par les racines suivant une cinétique de diffusion en réponse à un gradient de concentration.
- les **sécrétions**, qui représentent les composés libérés par les racines de façon active selon un processus métabolique. Elles incluent les enzymes et des polysaccharides comme les **mucilages**.
- le **mucigel**. Il représente le matériel gélatineux présent à la surface des racines, au niveau de la zone d'élongation et d'absorption (Jenny et Grossenbacher, 1963). Le mucigel est constitué de mucilages racinaires dégradés par la microflore du sol, de cellules microbiennes et de produits de synthèse microbiennes, associés aux colloïdes du sol.
- les **lysats**, composés issus de l'autolyse des cellules racinaires sénescents.

La proportion de chaque type de rhizodépôts est variable en fonction de l'espèce, du stade phénologique et des conditions de culture employées. De plus, la plupart du temps, il est impossible de distinguer les sécrétions de faible poids moléculaire des exsudats. Néanmoins, on estime généralement qu'au stade végétatif, les rhizodépôts carbonés majoritaires sont les exsudats et les sécrétions (Nguyen, 2003). Par conséquent, seules les caractéristiques liées aux exsudats et aux sécrétions seront décrites dans cette partie.

.II.B.1 Les exsudats

Définition

Les exsudats, au sens strict du terme, sont des composés solubles dans l'eau et de faibles masses moléculaires, qui diffusent passivement vers le milieu extérieur. Ainsi, la quantité d'exsudats libérée par les racines dans le sol dépend directement du gradient de concentration de composés solubles entre l'intérieur et l'extérieur des racines. Ce gradient est maintenu à la fois par la fourniture de composés solubles aux tissus racinaires et par la dégradation des exsudats dans le sol.

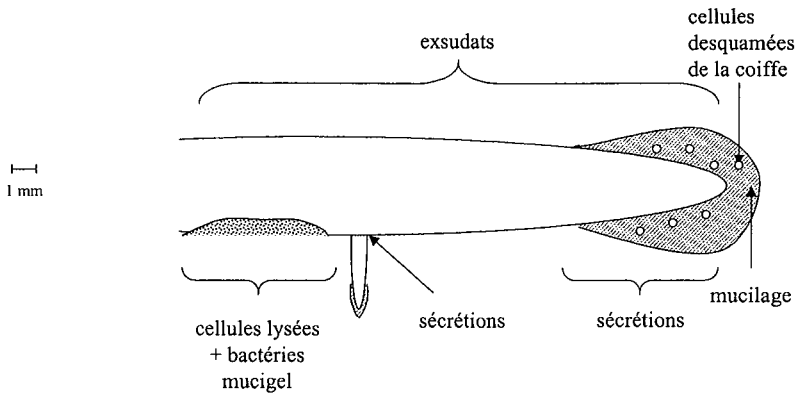


Figure 2 : Représentation simplifiée des sites de production des différentes classes de rhizodépôts le long d'une racine, d'après Rovira *et al.* (1979).

Les sites de libération des exsudats sont importants car ils déterminent la localisation et la distribution des micro-organismes dans la rhizosphère (Grayston *et al.*, 1996; Semenov *et al.*, 1999). Les exsudats se trouvent majoritairement à proximité des apex racinaires (Figure 2). En effet, la diffusion des exsudats s'effectue principalement à l'arrière de l'apex racinaire, au niveau de la zone d'élongation, des poils absorbants et des ramifications (McDougall et Rovira, 1970 ; McCully et Canny, 1985).

Composition

Les exsudats sont essentiellement constitués de sucres (Jones et Darrah, 1993b; Bret-Harte et Silk, 1994; Aulakh *et al.*, 2001). Les exsudats peuvent représenter de 0,3 à 0,8% du carbone provenant de l'assimilation nette, par plante et par jour (Rovira, 1969). La composition des exsudats varie en fonction des espèces végétales et des conditions environnementales.

A titre d'exemple, l'analyse des composés exsudés par le maïs dans de l'eau déminéralisée indique une proportion de 94% de glucides et 6% de protéines (Bacic *et al.*, 1986). Boeuf-Tremblay *et al.* (1995) trouvent une teneur en sucre de 4 à 5 mg par gramme de racine sèche, contre 1 à 2 mg par gramme de racine sèche d'acides aminés.

Fonctions

Les exsudats sont impliqués dans de nombreux processus, incluant l'acquisition de nutriments (Dinkelaker *et al.*, 1997; Neumann et Römheld, 1999; Rengel et Römheld, 2000), les associations plante/micro-organismes (Pinior *et al.*, 1999; Zhang *et al.*, 2000), la régulation de la croissance des plantes (Einhelling *et al.*, 1993), et la détermination des structures des communautés microbiennes dans la rhizosphère (Fang *et al.*, 2001b; Marschner *et al.*, 2001; Whipps, 2001).

A titre d'exemple, le rôle des acides organiques présents dans les exsudats ont été particulièrement étudiés (Ryan *et al.*, 2001). Il a été démontré qu'ils jouaient un rôle important dans l'acquisition du phosphore (Xu *et al.*, 1989; Lan *et al.*, 1995; Kamh *et al.*, 1998). Les acides organiques interviennent également dans la régulation de la biodisponibilité des métaux lourds dans le sol (Römheld et Awad, 2000), comme par exemple la complexation

de l'aluminium, processus qui réduit sa phytotoxicité (Luo *et al.*, 1999; Yang *et al.*, 2000; Kidd *et al.*, 2001).

Le transport des acides organiques de la racine vers le sol est encore mal compris. Récemment, il a été démontré qu'en cas de stress environnemental comme une carence en phosphore ou en fer, des transporteurs membranaires facilitent la diffusion des acides organiques du cytoplasme vers le milieu extérieur (Jones, 1998).

Réabsorption

Certains transporteurs membranaires couplés à des pompes à protons permettent à la plante de réabsorber à la fois des sucres et des acides aminés (Bush *et al.*, 1996). Ainsi, des plantes cultivées *in vitro* réabsorbent activement les sucres et les acides aminés présents dans la solution de culture (Soldal et Nissen, 1978; Xia et Saglio, 1988; Jones et Darrah, 1994;1996). Cet influx peut avoir une influence non négligeable sur le flux net d'exsudation lorsque les plantes sont cultivées en conditions hydroponiques stériles. Cet aspect sera détaillé lorsque nous aborderons les modèles de rhizodéposition en conditions stériles.

Néanmoins, l'impact de cette réabsorption en conditions non stériles, et *a fortiori* au champ, n'a pas été déterminé. Les avis sont partagés. Il semble toutefois que la réabsorption *in situ* soit un phénomène mineur. En effet, il existe :

- une forte réabsorption des rhizodépôts solubles en hydroponie. En effet, les composés libérés par les racines diffusent dans la solution de culture et sont activement réabsorbés par l'ensemble des racines.

- une biodégradation des rhizodépôts par les micro-organismes qui maintient le gradient de concentration entre la racine et la solution du sol et donc augmente le phénomène de diffusion des exsudats. En effet, il a déjà été montré que le prélèvement du glucose du sol par les micro-organismes est plus efficient que celui des racines (Nguyen et Guckert, 2001).

- une stabilisation des composés organiques sur les particules du sol (adsorption/complexation).

Dans tous les cas, l'ensemble des mesures effectuées dans ces conditions permet d'appréhender uniquement des flux net de rhizodéposition (*i.e.* efflux moins influx).

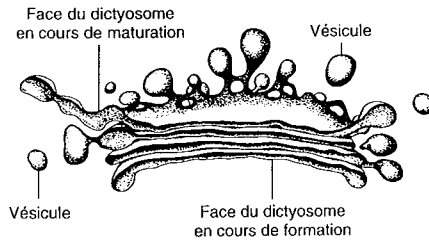


Figure 3 : Représentation schématique du système endomembranaire des cellules, d'après Raven *et al.* (2000).

.II.B.2 Les sécrétions

Définition

Ce terme regroupe les composés dont la libération hors de la racine met en jeu un transport actif. La quantité de sécrétions dépend de la capacité racinaire à fournir l'énergie nécessaire au processus actif de sécrétion. Les produits sécrétés comprennent à la fois des composés de faibles masses moléculaires (vitamines) et des composés de masses moléculaires élevées, comme des enzymes et des mucilages. Les mucilages sont sécrétés essentiellement par les cellules de la coiffe racinaire (Guckert *et al.*, 1975). Chez le sorgho, des mucilages sécrétés par les poils absorbants des racines ont également été mis en évidence (Werker et Kislev, 1978).

Synthèse et sécrétion des mucilages

La synthèse des mucilages est initiée dans le réticulum endoplasmique (Jones et Morré, 1967; Rougier, 1976). Les molécules sont ensuite transportées dans des vésicules de transition jusqu'au dictyosome (Figure 3). Différentes étapes de la synthèse de ces polysaccharides sont réalisées dans des citernes successives du dictyosome (Raven *et al.*, 2000). Ainsi, les polysaccharides sont transportés étape par étape jusqu'à la face de maturation à l'aide de vésicules navettes, puis sécrétés par des vésicules à la surface de la cellule. Le déplacement de ces vésicules du réseau *trans*-Golgi vers la membrane plasmique paraît dépendre de la présence de filaments d'actine (Raven *et al.*, 2000). Ainsi, une couche de mucilages est fréquemment observée sur la surface des racines (Oades, 1978), et plus particulièrement au niveau des apex (Samsevich, 1965; Read et Gregory, 1997). Cette sécrétion se situe essentiellement au niveau des racines ayant une croissance active (Oades, 1978). En moyenne, le taux de sécrétion des polysaccharides a été évalué chez le maïs au stade végétatif à 34 mmole par gramme de matière sèche racinaire et par heure (Jones et Darrah, 1995).

Composition

Les mucilages sont principalement constitués de polysaccharides polymérisés (Guckert *et al.*, 1975) constituant un réseau fibrillaire et granuleux (Guckert *et al.*, 1975; Foster, 1982), auxquels s'ajoutent des acides uroniques et des protéines (Rougier, 1981; Morel *et al.*, 1987). La composition des polysaccharides varie en fonction de l'espèce végétale. Ainsi, Cortez et Billes (1982) ont trouvé du galactose, du fucose, du glucose, du mannose, du ribose, du xylose et de l'arabinose dans le mucilage du maïs. Néanmoins, les proportions entre chaque sucre peuvent varier en fonction des conditions et des méthodes de culture différentes (Morel, 1985; Osborn *et al.*, 1999). Chez le maïs, les mucilages ont un poids moléculaire supérieur à 2.10^6 daltons et une densité de $1,6 \text{ g.cm}^3$ (Paull *et al.*, 1975). Ils ont une teneur en carbone de 39%, un rapport C/N de 64 (Mary *et al.*, 1993), et une forte teneur en fucose (Chaboud, 1983).

Du fait de sa structure, l'ensemble des mucilages est parfois considéré comme étant insoluble (Tremblay-Boeuf, 1995). Néanmoins, il semble qu'une grande partie du mucilage puisse se solubiliser (Chaboud et Rougier, 1981; Chaboud, 1983; Jones et Darrah, 1993a). En effet, la viscosité du mucilage de maïs est d'autant plus faible qu'il est peu concentré et que la température est élevée (Read et Gregory, 1997; Read *et al.*, 1999). Ainsi, à une concentration de $0,7 \text{ mg.mL}^{-1}$, la viscosité du mucilage est de $2,1 \text{ mPa s}$ à 20°C , contre $3,3$ à 5°C (Read et Gregory, 1997). Néanmoins, pour atteindre une telle concentration, le mucilage est collecté sur plusieurs apex de racicules, centrifugé puis concentré par évaporation. En conditions hydroponiques, la température de culture est généralement supérieure à 20°C et les concentrations de mucilage dans la solution nutritive sont de l'ordre du $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (Groleau-Renaud, 1998). Dans ce cas, la majorité du mucilage est solubilisé.

Fonctions

Des investigations suggèrent que les mucilages sont impliqués dans le maintien du contact racine-sol. D'une part, les groupements acides ($-\text{COO}^-$) présents dans les mucilages se fixent sur les cations, en particulier ceux des argiles (Jenny et Grossenbacher, 1963; Guckert *et al.*, 1975), ce qui favorise la stabilité des agrégats du sol (Czarnes *et al.*, 2000). D'autre part, les mucilages sont particulièrement importants lorsque la plante est soumise à des

conditions de sécheresse (Read *et al.*, 1999). Ainsi, les mucilages stabilisent le sol contre la déstructuration provoquée par les cycles d'humectation-dessiccation (Morel *et al.*, 1991; Traore *et al.*, 2000). Cette stabilisation est due à une augmentation des forces de liaison entre les particules et en diminuant la vitesse de dessiccation des sols (Read et Gregory, 1997; Czarnes *et al.*, 2000). En effet, la plasticité de l'hydratation des mucilages est importante. En conditions artificielles, la teneur en eau des mucilages peut atteindre jusqu'à 100000 % de leur poids sec (McCully et Boyer, 1997). Chez le maïs, l'hydratation du mucilage des racines nodales augmente de 450% lorsque le potentiel hydrique varie de -11 MPa à -0,01 MPa (McCully et Boyer, 1997).

Les mucilages facilitent aussi la diffusion des nutriments du sol vers la racine (Uren et Reisenauer, 1988; Uren, 2001). Enfin, les mucilages ont aussi une action lubrifiante, permettant ainsi à la racine de progresser dans le sol en limitant les blessures mécaniques causées par les particules de sol (Samsevich, 1965; Boeuf *et al.*, 1993; Boeuf-Tremblay *et al.*, 1995).

II.C Mesure de la rhizodéposition

Pour appréhender la quantité de rhizodépôts libérée par les racines dans la rhizosphère, différentes méthodes sont employées.

.II.C.1 Dispositifs d'étude de la rhizodéposition

Afin de doser et d'étudier la composition biochimique des rhizodépôts, de nombreux auteurs ont travaillé en conditions hydroponiques stériles. Ainsi, les rhizodépôts ne sont ni adsorbés sur les composants du sol comme les argiles (Guckert *et al.*, 1975), ni dégradés par les micro-organismes (Griffin *et al.*, 1976; Krafczyk *et al.*, 1984; Groleau-Renaud, 1998). Néanmoins, pour se rapprocher des conditions existant au champ, d'autres travaux ont été effectués en sol en conditions non stériles.

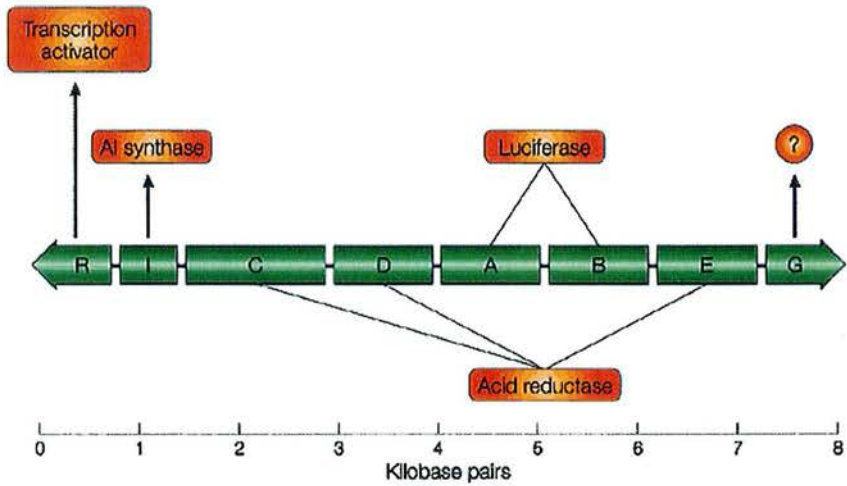


Figure 4 : Organisation de l'opéron *lux* issu de *Vibrio fischeri*. L'opéron contient *luxI* suivi de 5 gènes indispensables pour la production de lumière (*luxCDABE*) et d'un gène additionnel d'une fonction encore inconnue (*luxG*). Les gènes *luxA* et *luxB* codent les sous-unités α et β de la luciférase, respectivement.

Etude en sol

Actuellement, plusieurs méthodes sont utilisées dans le but de quantifier les rhizodépôts libérés *in situ*. Une méthode récente, qui reste prospective, consiste à inoculer des bactéries génétiquement modifiées pour rendre compte de la quantité d'un ou de plusieurs rhizodépôts dans la rhizosphère (Killham et Yeomans, 2001).

Un plasmide contenant l'opéron *lux* issu de *Vibrio fischeri* (Figure 4) est inséré dans des bactéries du genre *Pseudomonas*. Une fois les gènes *luxA* et *luxB* traduits, la luciférase produite se combine avec de la luciférine et réagit avec l'oxygène pour former l'oxyluciférine énergétiquement instable. Le retour à la stabilité passe par l'émission d'un photon, dont la longueur d'onde dépend de la structure du complexe luciférine/luciférase. La bioluminescence produite par les bactéries transformées est proportionnelle à la métabolisation des composés étudiés (Yeomans *et al.*, 1999). Ainsi, la quantité de ces rhizodépôts serait fortement corrélée à la quantité de fluorescence mesurée le long des racines (Darwent *et al.*, 2003). Une des limites de cette méthode est que les sucres dosés peuvent provenir de sources autres que les rhizodépôts, comme par exemple la dégradation des parois bactériennes.

Bien que de nouvelles méthodes soient prospectées, l'utilisation de marqueurs, comme le ^{14}C ou le ^{13}C , reste l'outil le plus utilisé pour différencier l'origine des composés carbonés présents dans le sol (Kuz'yakov et Domanski, 2000). Deux approches sont généralement utilisées pour tracer les rhizodépôts : l'analyse des variations de l'abondance naturelle au ^{13}C de la matière organique du sol (Cheng *et al.*, 2000; Kuz'yakov et Cheng, 2001) et le marquage des photoassimilats de la plante en enrichissant l'atmosphère par du $^{14}\text{CO}_2$ ou du $^{13}\text{CO}_2$ (Kuz'yakov et Domanski, 2000; Toal *et al.*, 2000; Warembourg et Estelrich, 2001).

1. Utilisation de l'abondance naturelle du ^{13}C .

Cette méthode repose sur l'existence d'une discrimination isotopique pour le ^{13}C dans les processus photosynthétiques entre les plantes de type C_3 et celles de type C_4 . Cette particularité induit une différence de composition isotopique relative ($\delta^{13}\text{C}$) de leur tissus végétaux (Smith et Epstein, 1971) et de leurs composés organiques libérés sous forme de rhizodépôts. Par conséquent, lorsqu'une plante de type C_4 est cultivée sur un sol ayant un antécédent cultural de type C_3 , le $\delta^{13}\text{C}$ de la matière organique du sol, initialement proche du $\delta^{13}\text{C}$ des plantes en C_3 se rapproche progressivement de celui des plantes en C_4 . En fonction

de la composition isotopique de la matière organique, il est donc possible d'estimer la quantité de carbone libéré par les racines dans le sol (Balesdent et Balabane, 1992; Quian et Doran, 1996; Rochette *et al.*, 1999). A titre d'exemple, à l'aide de cette technique, Quian et Doran (1996) estiment à 894 kg C.ha⁻¹ la quantité de carbone retrouvée dans le sol sous forme de résidus (rhizodépôts + débris racinaires) après 16 semaines de culture de maïs.

La plus grande limite de cette méthode est une faible résolution temporelle. Les plantes doivent être cultivées suffisamment longtemps pour induire une variation de composition isotopique relative, ce qui ne permet pas de travailler sur des pas de temps courts (Deleens *et al.*, 1994). Dans ce cas, il est nécessaire d'utiliser des traceurs isotopiques pour marquer les assimilats.

2. Marquage des assimilats de la plante.

Cette méthode consiste à incorporer un traceur dans les tissus végétaux par les processus de photosynthèse et de suivre son acheminement dans les organes de la plante, la respiration rhizosphérique, le sol et les micro-organismes. Le traceur permet ainsi de mettre en évidence la dynamique des assimilats dans le système plante/sol. Pour cela, les parties aériennes des plantes sont séparées du compartiment souterrain (sol et racines) et exposées à une atmosphère enrichie par l'un des isotopes du ¹²C : le ¹¹C, le ¹³C ou le ¹⁴C.

Le ¹¹CO₂ est peu utilisé puisque sa demi-vie est extrêmement courte, de l'ordre de 20 minutes, et ne permet pas de mesurer le flux de carbone sur du long terme.

Dans la plupart des cas, c'est le ¹⁴CO₂ qui est utilisé pour marquer les photo-assimilats. Cette utilisation courante est due :

- à sa demi-vie de 5730 ans, qui permet lorsque l'on calcule le bilan carboné de s'affranchir de la décroissance de la radioactivité au cours de l'expérience ;
- à une utilisation et une détection plus souple que le ¹³C et le ¹¹C, ainsi qu'à un faible coût des analyses suite au marquage.

Le ¹⁴C peut être incorporé par les parties aériennes dans les assimilats de façon continue sur une longue période (*i.e.* plusieurs semaines) pour marquer l'ensemble du carbone de la plante (Johansson, 1992b; Liljeroth *et al.*, 1994; Van der Krift *et al.*, 2001), ou de façon ponctuelle (*i.e.* quelques minutes ou quelques heures). Dans le cas d'un marquage ponctuel,

les résultats obtenus rendent compte de la dynamique du transfert d'assimilats récents dans le système plante/sol (Meharg et Killham, 1990; Swinnen, 1994). L'ensemble du carbone n'étant pas marqué uniformément, les mouvements de carbone provenant des réserves et du renouvellement des tissus dont l'origine est antérieure au marquage ne peuvent être étudiés dans ce cas. Il faut alors envisager des doubles marquages ($^{13}\text{CO}_2$ puis $^{14}\text{CO}_2$, ou inversement).

La quantité de radioactivité mesurée dans un compartiment (organes végétaux, sol, biomasse microbienne...) est exprimée en Bq. Elle traduit la force de puits du compartiment. D'autres paramètres sont également employés pour rendre compte de la radioactivité des différents compartiments :

- le coefficient de répartition du ^{14}C (%RTR) : c'est la quantité de radioactivité du compartiment rapportée à celle de radioactivité totale retrouvée dans l'ensemble du système plante/sol. Ce coefficient de répartition traduit la capacité d'un compartiment à mobiliser les assimilats. Il nous renseigne donc sur la force de puits relative du compartiment et dépend à la fois de la taille du compartiment et de son activité métabolique (Cralle et Heichel, 1985).
- l'activité spécifique (AS) : c'est la radioactivité du compartiment étudié rapportée à sa masse de carbone ($\text{Bq.mg}^{-1}\text{ C}$). Cette variable rend compte de l'activité métabolique du compartiment, comme la croissance et la mise en réserve des assimilats. Ce paramètre permet de comparer les vitesses de croissance ou l'activité métabolique de différentes parties d'une même plante (Warembourg et Kummerov, 1991).
- l'activité spécifique relative (ASR) : il s'agit dans ce cas de pondérer l'activité spécifique du compartiment par celle du système total. Ce paramètre, sans unité, est utilisé pour comparer l'activité métabolique de certains compartiments (feuilles, racines, sol...) de plantes ayant des tailles et/ou des assimilations différentes (Cralle et Heichel, 1985; Robin *et al.*, 1987; Todorovic *et al.*, 1999; Todorovic, 2000).

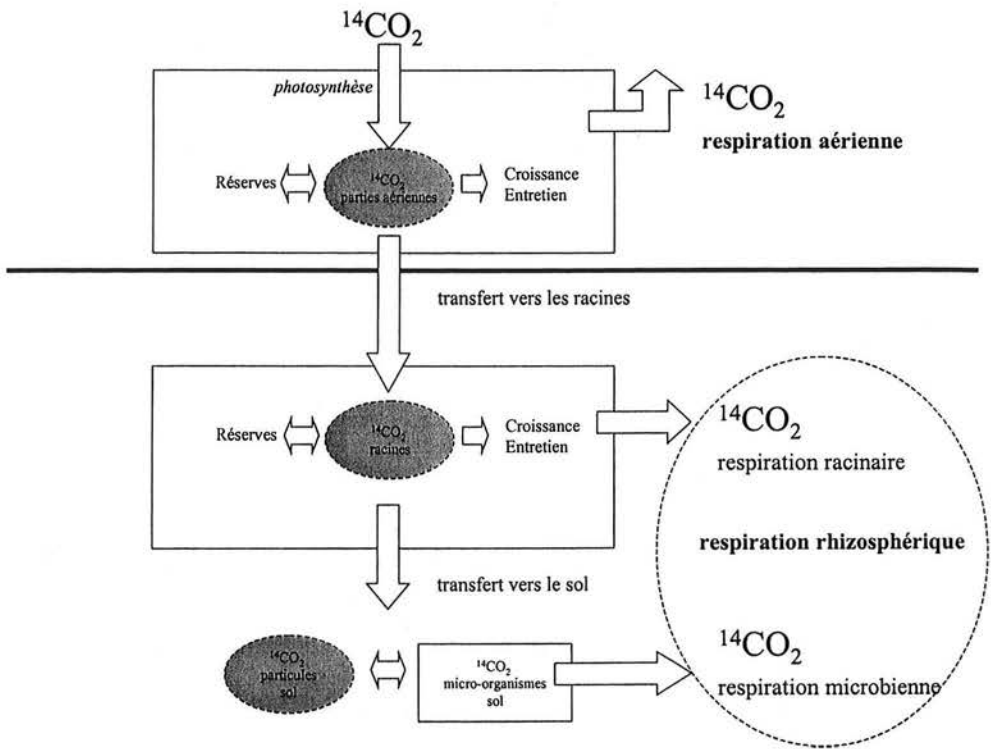


Figure 5 : Répartition du carbone marqué dans les différents compartiments du système plante/sol après son assimilation par les parties aériennes, d'après Swinnen (1994).

Il est difficile, voire impossible de quantifier les rhizodépôts puisque la fraction de rhizodépôts minéralisée par les micro-organismes du sol n'est pas distinguable de la respiration racinaire (Figure 5). De plus, cette fraction dépend à la fois des conditions environnementales et de la nature des rhizodépôts. Ainsi, une fraction des rhizodépôts facilement assimilable est immédiatement biodégradée (Barber et Lynch, 1977; Warembourg, 1982), alors qu'une autre fraction plus complexe présente une vitesse de minéralisation plus lente (Morel *et al.*, 1991) puisqu'elle doit être préalablement dégradée par des enzymes extracellulaires (Warembourg et Billes, 1979; Darrah, 1991b). Afin de résoudre ce problème, plusieurs auteurs ont tenté d'estimer la contribution relative des activités respiratoires racinaire et microbienne au sein de la respiration rhizosphérique (Paul et Warembourg, 1973; Helal et Sauerbeck, 1991; Johansson, 1992a; Cheng *et al.*, 1993; Swinnen, 1994; Todorovic, 2000; Todorovic *et al.*, 2001). Nous allons en détailler deux exemples.

Helal et Sauerbeck (1989;1991) ont inhibé l'activité microbienne à l'aide d'antibiotiques et mesuré ainsi la respiration racinaire. Comparé à un milieu de culture sans antibiotique, ils en déduisent la part relative de la respiration rhizo-microbienne. Les résultats obtenus montrent que cette respiration contribue à 76 % de la respiration rhizosphérique chez le haricot et à 84 % chez le maïs (Helal et Sauerbeck, 1989). Néanmoins, ces résultats sont discutables puisque :

- les antibiotiques n'éliminent pas la totalité des bactéries rhizosphériques,
- ils peuvent agir directement sur le métabolisme racinaire, et modifier par conséquent la respiration des racines.

Swinnen (1994) a simulé une rhizosphère modèle en suivant la minéralisation par la microflore rhizosphérique de composés plus ou moins dégradables qui simulent les rhizodépôts. En comparant la respiration de ces rhizodépôts modèles avec la respiration rhizosphérique, il en déduit que la respiration rhizo-microbienne représente entre 4 et 9 % de la respiration rhizosphérique chez le blé et entre 5 et 13 % chez l'orge. Néanmoins, le postulat selon lequel le fonctionnement de la rhizosphère n'est pas perturbé par l'ajout des rhizodépôts modèles est contestable (Todorovic, 2000).

Ces deux exemples montrent que l'estimation de la respiration rhizo-microbienne oscille entre 5 et 84 % de la respiration rhizosphérique. La variabilité des résultats obtenus n'est pas uniquement due à des différences de conditions expérimentales et d'espèces végétales utilisées. Quelles que soient les méthodes utilisées, beaucoup d'hypothèses sont énoncées sans qu'elles soient vérifiées expérimentalement.

Actuellement, aucune méthode ne permet de dissocier la respiration rhizo-microbienne de la respiration rhizosphérique.

Etudes en conditions stériles : caractérisation et quantification du flux de rhizodépôt carbonée

Les conditions stériles ont été principalement utilisées pour caractériser la nature des rhizodépôts tout en s'affranchissant de la métabolisation des rhizodépôts par les micro-organismes présents au niveau des racines (Warembourg et Billes, 1979; Krafczyk *et al.*, 1984; Kuzyakov et Domanski, 2000 ; Krafczyk *et al.*, 1984; Bret-Harte et Silk, 1994; Hodge *et al.*, 1996; Aulakh *et al.*, 2001; Fan *et al.*, 2001; Ryan *et al.*, 2001). Le plus souvent, les études en conditions stériles se font en milieu liquide pour éviter l'adsorption des rhizodépôts sur les composants du sol (Guckert *et al.*, 1975).

Cependant, les conditions de culture modifient à la fois la croissance végétale, la quantité et la nature des rhizodépôts libérés par les racines (Rovira, 1959; Boeuf-Tremblay *et al.*, 1995). Ces modifications peuvent avoir de multiples origines :

- la croissance racinaire est différente en conditions hydroponiques et en sol. En effet, si aucun support physique n'est présent dans la solution de culture, les racines cultivées en hydroponie ne rencontrent aucune résistance physique lors de leur développement. Cette absence de contact induit une croissance rapide des racines associée à une baisse de la production de mucilages (Tremblay-Boeuf, 1995).
- l'environnement racinaire des dispositifs utilisant des solutions nutritives stériles est très différent de celui correspondant au sol. En effet, la solution nutritive est en contact avec l'ensemble de la surface racinaire et les rhizodépôts ne sont pas métabolisés par la microflore tellurique. Ainsi, les composés solubles diffusent dans l'ensemble de la solution nutritive et y restent disponibles. En revanche, dans le sol, les rhizodépôts facilement assimilables sont sécrétés localement. Par conséquent, les

bactéries ne colonisent pas le système racinaire de manière homogène (Baudoin *et al.*, 2001). De plus, les rhizodépôts peuvent s'adsorber sur les particules de sol et être immobilisés (Jones et Edwards, 1998; Kaiser *et al.*, 2001; Quiquampoix *et al.*, 2001).

- Jones et Darrah (1992) ont montré l'importance du phénomène de réabsorption de certains composés de faible masse moléculaire dans des conditions de culture stériles. Dans des conditions optimales de croissance, la réabsorption du glucose et du mannose peut atteindre 70,5 et 40,2 μg par gramme de matière sèche racinaire et par heure, respectivement. Ces auteurs ont ainsi pu mettre au point un modèle d'exsudation et de réabsorption des composés solubles de maïs de 0 à 10 jours pour différentes conditions expérimentales : solution stérile sans renouvellement, solution non stérile sans renouvellement, et solution stérile renouvelée tous les jours (Jones et Darrah, 1993a). Les résultats montrent que les plants cultivés dans la solution stérile renouvelée quotidiennement exsudent plus de composés solubles. Ces résultats sont dus à une réabsorption réduite ainsi qu'au maintien d'un gradient de concentration important entre la racine et le milieu de culture du fait de son renouvellement. Dans le cas des cultures sans renouvellement, 98% des exsudats libérés par les racines sont réabsorbés après 10 jours de culture.

.II.C.2 Données quantitatives de rhizodéposition

Les données de la littérature concernant la répartition des assimilats dans le système plante/sol sont très hétérogènes, notamment en raison des difficultés expérimentales de quantification. De plus, la comparaison des travaux est rendue difficile par l'absence d'uniformité des méthodes de collecte et des expressions numériques (voir la synthèse de Nguyen, 2003). En effet, la quantification des rhizodépôts peut s'effectuer dans de multiples conditions. Par exemple, en conditions stériles ou en présence de micro-organismes, dans un milieu liquide ou sur un support physique comme le sol etc.

Si on considère les bilans carbonés obtenus après un marquage des assimilats, la rhizodéposition varie de 5 à 40% du carbone net assimilé par la voie de la photosynthèse, respiration racinaire comprise (Kuzakov et Domanski, 2000). La plupart de ces données ont été obtenues en conditions non stériles, à l'aide d'un marquage ponctuel des photoassimilats au ^{14}C du blé, d'orge ou de plantes pérennes comme le ray-grass. Une intégration des données sur le cycle cultural indique que l'apport annuel au sol par cette voie représente 0,8 à 2,2

tonnes de carbone par hectare et par an, respiration rhizosphérique comprise (Johnen et Sauerbeck, 1977; Keith *et al.*, 1986).

En considérant les différentes classes de rhizodépôts, une analyse de la littérature (Nguyen, 2003), montre dans le cas du maïs une production de :

- cellules desquamées d'environ 2 $\mu\text{g C}$ par jour et par racine (Iijima *et al.*, 2000) ;
- mucilages entre 11 et 34 μg de matière sèche par mg de matière sèche nouvellement formée par les racines (Vancura *et al.*, 1977; Chaboud et Rougier, 1991) ;
- exsudats entre 0,06 et 0,1% de la matière sèche de racine par jour (Krafczyk *et al.*, 1984).

La comparaison de ces données est difficile. En effet, les cultivars étudiés diffèrent, tout comme les conditions et le temps de culture des plantes. De plus, ces données résultent de mesures ponctuelles et ne permettent pas de quantifier la contribution de chaque classe de rhizodépôts sur un cycle de culture complet. Néanmoins, d'après l'ensemble des données de la littérature, il semble que la principale forme de carbone libérée par les racines est constituée par les exsudats (Jones et Darrah, 1993a; Nguyen, 2003).

La quantité et la composition des rhizodépôts varient en fonction de facteurs environnementaux d'une part et en fonction de facteurs intrinsèques à la plante d'autre part.

.II.C.3 Facteurs modifiant la rhizodéposition

La nature et la quantité des composés libérés par les racines sont soumises à l'influence de nombreux facteurs, dont certains sont liés à la plante et d'autres à son environnement.

Tableau 1 : Répartition des photoassimilats marqués au ^{14}C dans le système plante/sol. Différents facteurs sont étudiés : l'âge de la plante marquée, la stérilité ou non (S et NS, respectivement), la photopériode (PP) et l'intensité lumineuse (PAR), la fertilisation en azote (N), la concentration atmosphérique de CO_2 (CO_2). Les données sont exprimées en pourcentage du ^{14}C total assimilé retrouvé dans les parties aériennes (PA), les racines (RAC), la respiration souterraine (RAC) et le sol (SOL).

Plante	Marquage	Chasse	Age	Facteurs	PA	RAC	RESP	SOL	Références	
Blé	28 j		28 j	CO2 -	46	26	24	4	Billes <i>et al.</i> , 1993	
				N -	47	26	23	4		
				CO2	48	25	24	3		
				+ N +	53	23	22	2		
	1,5 h	28 h	50 j		67	17	16	0,4	Gregory et Atwell, 1991	
					72	22	5	1,4		
					91	6	3	0,1		
					91	5	3	0,2		
	1 j	21 j	42 j		50	13	29	8,2	Keith <i>et al.</i> , 1986	
					72	11	11	6,2		
					89	2	4	5,3		
					94	1	3	1,8		
	2 h	3 h	7 j	CO2 -	66	24	4	1,4	Paterson <i>et al.</i> , 1996	
				CO2	64	26	3	2,3		
Moyenne blé					67	18	11	4		
Ecart-type					16,1	9,4	9,4	2,7		
Maïs	0,5 h	92 h	35 j		73	13	11	3,5	Nguyen <i>et al.</i> , 1999	
		96 h	24 j	S	72	17	10	0,7	Todorovic <i>et al.</i> , 2001	
		96 h	24 j	NS	66	13	14	6,9		
Moyenne maïs					70	14	12	4		
Ecart-type					3,8	2,3	2,1	3,1		
Orge	1,5 h	24 h	49 j		45	28	25	1,8	Gregory et Atwell, 1991	
			70 j		86	10	4	0,9		
			105 j		95	3	2	0,2		
			126 j		95	2	2	0,2		
	49 j	-	49 j	N -	68	13	15	4,2	Johansson, 1992b	
			49 j	N +	73	12	12	3,3		
Moyenne orge					77	11	10	2		
Ecart-type					19,2	9,4	9,1	1,7		
Ray grass	2 h	3 h	21 j	PAR -	87	10	0,5	2,4	Hodge <i>et al.</i> , 1997	
				PAR +	82	14	1	3		
				7 j	CO2 -	61	30	5	2,1	Paterson <i>et al.</i> , 1996
					CO2 +	60	31	0,6	2,5	
Moyenne ray-grass					73	21	2	3		
Ecart-type					14,0	10,8	2,2	0,4		

Dans cette partie, nous évoquerons uniquement l'impact des facteurs modulant la proportion de carbone récemment assimilé libérée par les racines dans le sol (Tableau 1). La variation de la composition en fonction de différents facteurs ne sera pas détaillée (pour information, cf. Barber et Gunn, 1974; Krafczyk *et al.*, 1984; Gransee et Wittenmayer, 2000).

Les principaux facteurs biotiques qui affectent la rhizodéposition sont l'espèce, la variété et le stade de développement de la plante, ainsi que la présence ou non de micro-organismes. Les principaux facteurs abiotiques sont la température, le statut hydrique et nutritionnel du sol, les conditions d'éclairement, la concentration du CO₂ atmosphérique et la texture du sol. Ces facteurs agissent à la fois sur :

- l'acquisition du carbone par les feuilles, en particulier l'assimilation nette, et le transport des photoassimilats des parties aériennes aux racines,
- la morphologie et/ou le métabolisme des racines,
- le fonctionnement rhizosphérique (en modifiant par exemple l'activité microbienne et la physico-chimie du sol), et
- la présence de symbiotes.

Nous allons développer ici l'impact de trois facteurs pris comme exemple parmi les nombreux facteurs qui agissent sur la rhizodéposition : le stade de développement, la concentration atmosphérique en CO₂ et la fertilisation azotée du sol. Le choix de ces 3 facteurs est motivé notamment par le fait qu'ils agissent sur des processus au cœur de notre étude, à savoir sur l'allocation de carbone vers le système racinaire et/ou la morphologie des racines.

Stade de développement

La phénologie détermine la taille relative des différents organes de la plante, les compétitions entre organes puits pour les assimilats, modulant l'allocation de C aux racines et à la rhizodéposition. De plus, le développement de la plante favorise la colonisation spatiale du sol par les racines, constituant ainsi plus de sites potentiels de libération de C dans le sol.

Ainsi, la quantité de rhizodépôts libérés par les racines dans le sol diminue fortement aux stades reproducteurs (Keith *et al.*, 1986; Gregory et Atwell, 1991; Swinnen *et al.*, 1994b). Keith *et al.* (1986) observent que 17,4 % de la radioactivité assimilée est retrouvée dans le sol (respiration rhizosphérique comprise) lorsque le blé est en phase d'élongation, contre 2,2 % lorsqu'il est à maturité. Cette diminution est due à la mobilisation des assimilats vers les organes reproducteurs, puits devenu prioritaire quand la plante est en phase de reproduction (Swinnen *et al.*, 1994b). De plus, la croissance et l'activité des racines diminuent pendant cette période : leur force de puits est plus faible.

Concentration atmosphérique en CO₂

Elle modifie l'assimilation nette de CO₂ par les feuilles et la répartition des assimilats entre parties aériennes et les racines.

En raison du rejet de carbone fossile issu des activités industrielles, la concentration atmosphérique en CO₂ a augmenté de 280 vpm à 360 vpm en 90 ans. Cette augmentation continue actuellement à un taux de 1,5 vpm par an (Siegenthaler, 1990; Cheng *et al.*, 2000). Beaucoup de chercheurs ont étudié l'impact d'une augmentation de la concentration atmosphérique en CO₂ sur l'allocation de carbone aux racines (Whipps, 1985; Gifford *et al.*, 2000; Jastrow *et al.*, 2000; Tscherko *et al.*, 2001). En général, la croissance des plantes est stimulée par une augmentation de la quantité de carbone fixé par la photosynthèse (Grayston *et al.*, 1998; Poorter et Nagel, 2000). Aussi, cette augmentation se traduit-elle par une augmentation de la teneur en sucres dans les cellules et une exportation accrue des assimilats vers le compartiment souterrain (Grodzinski *et al.*, 1998). Les racines métabolisent ces assimilats et croissent plus rapidement. Par conséquent, l'augmentation de la quantité de carbone alloué au sous-sol se manifeste par un système racinaire plus gros, une production et un renouvellement plus rapide de fines racines (Grayston *et al.*, 1998). La morphologie est donc différente : plus de surface racinaire, nombre d'apex plus important.

Pour étudier la rhizodéposition en fonction de différentes concentrations en CO₂ atmosphériques, des marquages longs et des marquages ponctuels ont été utilisés sur des plantes en C3 (ray-grass, blé, arbres) mais aussi sur le maïs, plante en C4. Après avoir analysé statistiquement les données de l'ensemble des bilans carbonés de la littérature, (Nguyen, 2003) montre que dans le cas des marquages longs, le ¹⁴C retrouvé dans la respiration rhizosphérique augmente significativement de 36% lorsque la concentration en CO₂ est

élevée. Cette augmentation est probablement due à la forte respiration des micro-organismes du sol (Zak *et al.*, 2000).

Aussi, la quantité de rhizodépôts libérés dans le sol est-elle plus importante lorsque la plante est cultivée en conditions de $[\text{CO}_2]$ élevée (Whipps, 1985; Billès *et al.*, 1993; Paterson *et al.*, 1996). Néanmoins, cette augmentation semble essentiellement due au système racinaire qui est plus développé, et non pas à une quantité d'exsudats plus importante par racine.

Fertilisation azotée

Cette variable, directement liée à la gestion des sols, affecte la croissance de la plante par un effet direct dans l'élaboration de biomasse et modification du rapport PA/PR et par un effet indirect (boucle de rétroaction) *via* le développement et l'activité de la microflore tellurique (stimulation ou ralentissement des cycles des minéraux). Ainsi, le statut azoté du sol est un facteur important qui contrôle la croissance des plantes. Ingestad (1977) a montré que le taux de croissance relatif des plantes était étroitement corrélé à la teneur en azote de celle-ci. Cet accroissement de biomasse est dû à une augmentation du taux net de photosynthèse (Mohammad, 1997; Cechin, 1998). Néanmoins, l'augmentation de la biomasse des parties aériennes est proportionnellement plus grande que celle des racines, conduisant à un rapport PA/PR plus faible chez les plantes non fertilisées.

Certains auteurs observent une modification de la morphologie des racines : le système racinaire des plantes fertilisées est plus ramifié que celui des plantes témoins (Baligar *et al.*, 1998). Cependant, d'autres travaux effectués sur différentes espèces prairiales ne montrent aucun effet du statut azoté de la plante sur la morphologie des racines (Glimskär, 2000).

L'ensemble des données concernant l'impact de la fertilisation azotée sur la rhizodéposition, analysé par Nguyen (2003), indique une baisse significative du pourcentage de ^{14}C alloué aux racines (-14% et -35% pour les marquages longs et ponctuels, respectivement) lorsque les plantes sont fertilisées. L'analyse statistique de l'ensemble des bilans de ^{14}C ne montre aucun effet significatif général de l'azote sur la respiration rhizosphérique et les résidus marqués retrouvés dans le sol.

En considérant uniquement le bilan carboné des compartiments souterrains, le pourcentage de ^{14}C alloué à la respiration rhizosphérique et aux résidus du sol augmentent de 25% et de 82% respectivement lorsque le sol est fertilisé en azote (Nguyen, 2003). Ces

résultats montrent donc que relativement au pourcentage de carbone alloué au sous-sol, la rhizodéposition de la plante entière augmente. Deux hypothèses peuvent être posées pour expliquer ces résultats.

- Cette augmentation peut être liée au changement morphologique des racines induit par la fertilisation azotée : si le système racinaire est plus ramifié, le nombre de sites de rhizodéposition est augmenté.
- La présence d'azote modifie la quantité de composés solubles dans les racines, ce qui modifie l'exsudation racinaire.

Néanmoins, contrairement à l'effet de l'augmentation de la concentration en CO_2 de l'atmosphère, cette augmentation relative de la rhizodéposition ne se réduit sans doute pas à une modification métabolique et morphologique du système racinaire. Le statut azoté change aussi certains paramètres du sol en contact avec les racines, comme le pH. De plus, il a été démontré que les micro-organismes sont en compétition avec les racines des plantes pour l'azote minéral du sol (Korsaeth *et al.*, 2001). Par conséquent, un apport d'azote stimulerait la croissance microbienne. La microflore, métabolisant plus de rhizodépôts, induirait un fort gradient de concentration entre les racines et le sol, provoquant une exsudation plus importante.

.II.C.4 Conclusion

De nombreuses variables, comme la fertilisation azotée ou la concentration atmosphérique de CO_2 , agissent non seulement à différents niveaux (photosynthèse, allocation aux racines, morphologie racinaire...) mais peuvent aussi interagir entre elles (Matamala, 1999).

De plus, l'impact d'un seul facteur sur la rhizodéposition est complexe car il existe de nombreuses boucles de rétroaction. A titre d'exemple, un facteur qui favorise la rhizodéposition favorise aussi en aval la croissance de la biomasse microbienne. Cette augmentation de la biomasse microbienne peut à son tour modifier la croissance de la plante, son allocation carbonée aux racines et sa rhizodéposition. Ainsi, l'étude de l'impact des facteurs environnementaux sur la rhizodéposition est difficile.

Afin d'identifier, de prendre en compte et de hiérarchiser les différents facteurs qui modulent la rhizodéposition, certains auteurs ont initié la modélisation de ce processus. Nous détaillerons dans le paragraphe suivant les différents modèles de rhizodéposition élaborés, les facteurs pris en compte pour modéliser les différents processus de rhizodéposition et les limites des modèles proposés.

.II Modélisation de la rhizodéposition

Cette partie rassemble les connaissances générales acquises sur les modèles de rhizodéposition. A partir de cet état des lieux, différentes pistes de réflexion seront évoquées pour identifier les variables qui peuvent influencer la rhizodéposition.

Dès 1973, Bowen et Rovira soulignent l'importance de la modélisation des processus rhizosphériques en vue de décrire à la fois la rhizodéposition des exsudats, des sécrétions et des débris cellulaires, et leur impact sur les micro-organismes et les nutriments du sol. Depuis, de nombreux modèles ont été construits (Toal *et al.*, 2000; Darrah et Roose, 2001). La plupart de ces modèles ont des objectifs pratiques qui vont au-delà de la simple modélisation de la rhizodéposition. Ainsi, ces modèles simulent :

- l'impact des rhizodépôts sur la disponibilité des éléments nutritifs dans le sol (Darrah et Staunton, 2000; Satnam et Sadana, 2002; Singh et Sadana, 2002),
- l'implication des rhizodépôts dans le turn-over de la matière organique du sol (Bottner *et al.*, 1999; Molina *et al.*, 2001).

Dans le cadre de cette étude, nous nous intéresserons uniquement aux modèles qui décrivent :

- les mécanismes d'exsudation et de réabsorption des rhizodépôts dans des systèmes de culture simplifiés (Jones et Darrah, 1993a),
- la répartition du carbone assimilé par les parties aériennes dans le système plante/sol en découplant la respiration des racines de celle de la microflore

tellurique (Swinnen, 1994; Swinnen *et al.*, 1994a; Kuzyakov et Domanski, 2002),

- la distribution des micro-organismes au contact des racines (Darrah, 1991a;b; Van Bruggen *et al.*, 2000; Zelenev *et al.*, 2000).

Ces modèles fondamentaux sont essentiels pour comprendre les différents processus impliqués dans la rhizodéposition. A long terme, ils seront sans doute utilisés pour des objectifs plus appliqués. Par exemple, une bonne connaissance de la distribution dynamique de la microflore tellurique le long de la racine pourra être utilisée pour optimiser l'inoculation de bactéries promouvant la croissance des plantes (Benizri *et al.*, 2001).

Nous aborderons dans un premier temps la modélisation de la rhizodéposition *in vitro*. Les modèles de rhizodéposition en sol seront ensuite exposés.

II..A Modélisation de l'exsudation et de la réabsorption des composés solubles dans des systèmes hydroponiques.

Nous allons détailler ici un modèle mécaniste de rhizodéposition carbonée de jeunes plantules de maïs élaboré par Jones et Darrah (1992;1993a). Seuls les rhizodépôts solubles (exsudats et sécrétions) sont considérés, puisque les cellules desquamées et les débris racinaires représentent de très faibles quantités au stade végétatif (Griffin *et al.*, 1976; Jones et Darrah, 1993a).

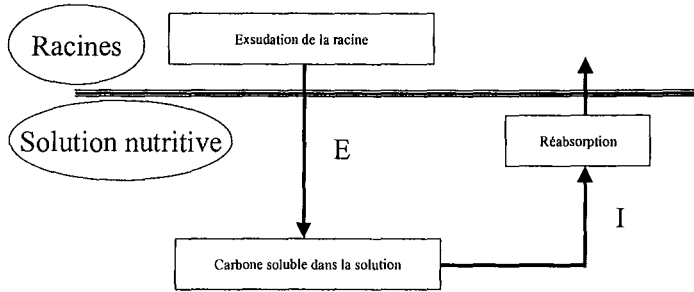


Figure 6 : Représentation schématique du flux de carbone dans le système plante/solution utilisée pour construire un modèle de rhizodéposition carbonée du maïs au stade végétatif, cultivé en conditions hydroponiques stériles, d'après Jones et Darrah, 1993a. E correspond à une fonction de rhizodéposition et I à une fonction de réabsorption racinaire. Les deux fonctions sont détaillées dans le texte.

Le schéma conceptuel du flux de carbone utilisé pour la construction du modèle est présenté dans la Figure 6.

La libération de carbone soluble en fonction du temps par les racines (E) est égale au taux de rhizodéposition de la graine (E_s), plus le taux de rhizodéposition des apex (E_t) multiplié par le nombre d'apex (N_t), plus le taux de rhizodéposition du reste de la racine (E_r) multiplié par la longueur des racines (L) :

$$E = E_s + E_t N_t + E_r L \quad (1)$$

Pour intégrer cette équation dans le modèle, deux équations traduisant le nombre d'apex et la longueur des racines en fonction du temps ont été établies. L'influx de carbone en fonction du temps (I), dû à la réabsorption, est un processus conforme à la cinétique de Michaelis-Menten (Jones et Darrah, 1992). Elle dépend d'un taux maximal d'influx ($I_{\max}$), de la concentration en carbone soluble de la solution de culture (C) et d'une constante d'affinité (I_{km}) :

$$I = I_{\max} \frac{C}{(C + I_{km})} L \quad (2)$$

Finalement, la quantité de carbone retrouvée dans le milieu de culture en fonction du temps est égale à :

$$\frac{dC}{dt} = \frac{E - I}{V} \quad (3)$$

V représente la variation du volume de la solution de culture en fonction de 1) l'eau utilisée pour la phase d'imbibition de la graine, 2) de la transpiration des parties aériennes, 3) de l'eau incorporée dans la biomasse des parties aériennes et des racines et 4) du volume de solution prélevé au cours de l'expérience.

Les paramètres du modèle concernant l'efflux du carbone dans la solution sont issus d'une recherche bibliographique. Ceux qui concernent l'influx proviennent d'études déjà effectuées par Jones et Darrah (Darrah, 1991b; Jones et Darrah, 1993a).

Ce modèle se base sur plusieurs hypothèses qui peuvent être discutées. La première concerne l'origine et le mode de libération des rhizodépôts dans la solution nutritive :

1. les rhizodépôts sont libérés par la graine, les apex et le reste de la racine. Les taux de rhizodéposition sont constants pour chaque compartiment, et ce, quelle que soit la concentration extérieure en carbone. Néanmoins, il est différent entre les trois compartiments. Par exemple, un apex libère 5 fois plus de carbone par heure qu'1 cm de racine.

Cette hypothèse peut être controversée. En effet, si l'on sait que l'apex libère beaucoup plus de rhizodépôts que le reste de la racine, peu de travaux portent sur le taux de rhizodéposition le long d'une racine. Les expérimentations sont en effet très lourdes à gérer et les mesures difficiles à faire car la racine croît au cours du temps. Par ailleurs, nous ne savons pas actuellement si un apex de gros diamètre libère plus de rhizodépôts qu'un apex de diamètre plus petit. Si c'est le cas, l'hypothèse 1 ne prend pas en compte cette variation. De façon plus évidente, les auteurs émettent l'hypothèse que le taux de rhizodéposition ne dépend pas de la concentration extérieure en carbone. Ils affirment donc de façon implicite que les exsudats représentent une fraction négligeable de rhizodépôts comparés aux sécrétions. A notre connaissance, rien ne prouve une telle affirmation.

2. une fois libéré dans la solution, le carbone est distribué uniformément.

La répartition des rhizodépôts dans la solution de culture n'est donc pas prise en compte. Pourtant, cette répartition n'est pas uniforme dès l'instant où les composés sont libérés par les racines. Elle est physiquement expliquée par les lois de diffusion, dont les coefficients dépendent du type de rhizodépôts. Par exemple, les mucilages s'uniformiseront moins rapidement que les exsudats constitués de molécules plus légères. Néanmoins, dans un petit volume, cette diffusion peut être négligeable.

3. la réabsorption du carbone soluble par les racines est un processus métabolique actif identique sur l'ensemble de la racine. Il dépend de la longueur racinaire et de la concentration en carbone de la solution de culture.

D'une part, si la réabsorption est démontrée pour des acides aminés (Jones et Darrah, 1992;1993a;b;1994;1995) et des sucres (Xia et Saglio, 1988; Jones et Darrah, 1992), la réabsorption des mucilages, composés ayant un haut poids moléculaire semble peu probable. D'autre part, les caractéristiques biochimiques de ces réabsorptions (comme la vitesse

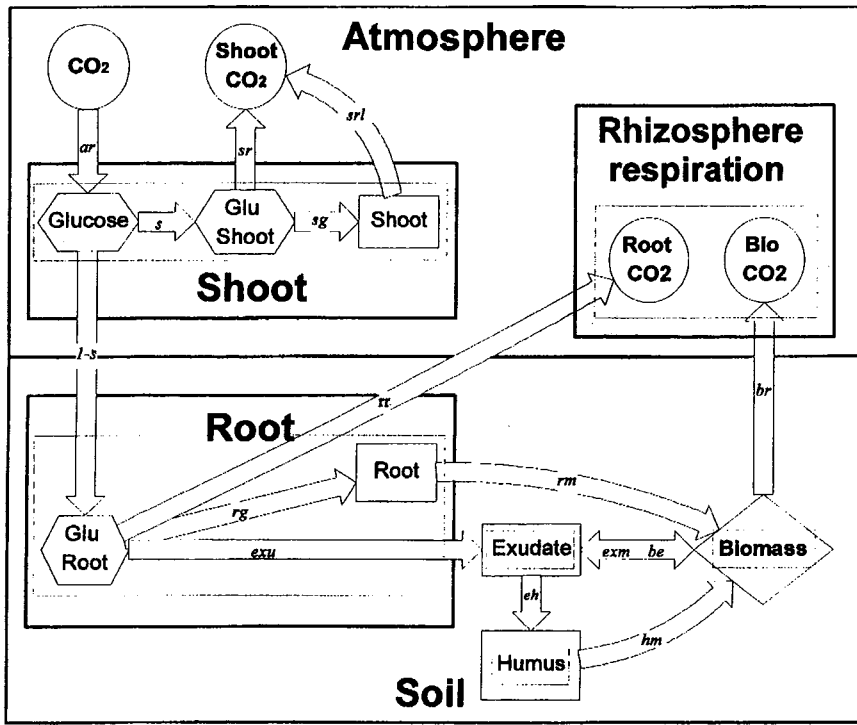


Figure 7 : Représentation schématique des compartiments et des flux de carbone entre les compartiments du modèle de Kuzyakov et Domanski (2002). Les paramètres du modèle sont les suivants : ar : taux d'assimilation ; s : répartition entre parties aériennes et racines ; sg : croissance des parties aériennes ; sr et srl : respiration des parties aériennes ; exu : taux d'exsudation ; exm : minéralisation des exsudats ; eh : humification des exsudats ; rg : croissance racinaire ; rr : respiration racinaire ; rm : minéralisation des racines ; br : respiration de la biomasse ; be : exsudation de la biomasse ; hm : minéralisation de l'humus.

Les rhizodépôts peuvent aussi se complexer avec d'autres molécules ou s'adsorber sur la phase solide du sol. Ce changement physico-chimique modifie les cinétiques de dégradation des rhizodépôts. Enfin, certains rhizodépôts, comme le glucose, les acides aminés (Paynel *et al.*, 2001) ou les acides organiques, peuvent être réabsorbés.

Nous allons détailler dans la suite de cet exposé le modèle de Kuzyakov et Domanski (2002) qui simule la répartition du ^{14}C assimilé par les parties aériennes de ray-grass lors d'un marquage ponctuel, en découplant la respiration des racines de celle de la microflore tellurique. La répartition des assimilats marqués est analysée après 6, 12, 24, 48, 96, 192 et 264 heures après le marquage.

Les différents compartiments du modèle et les flux de carbone radioactif entre ces compartiments sont représentés par la Figure 7. Les coefficients de répartition entre les différents compartiments sont paramétrés à partir des données expérimentales obtenues (activité des parties aériennes, des racines, de la biomasse microbienne, du sol et de la respiration rhizosphérique).

Nous analyserons plus particulièrement les modes d'allocation de carbone aux racines et de rhizodéposition.

Dans leur modèle, Kuzyakov et Domanski (2002) attribuent une fraction constante ($s=0,51$) entre la pool de glucose marqué des racines et celui des parties aériennes. Ce paramètre n'est pas modulable. Les modifications de l'assimilation et du mode d'allocation au cours de la croissance ne sont donc pas prises en compte par ce modèle. De la même façon, la rhizodéposition est une fraction constante du pourcentage de ^{14}C -glucose présent dans les racines, paramétrée à partir de la respiration rhizosphérique, de la biomasse microbienne et des résidus marqués présents dans le sol. Il est à noter que les pools de ^{14}C -glucose présentés dans le modèle ne sont pas directement analysés au cours des expérimentations qui déterminent le paramétrage du modèle.

Finalement, ce modèle suppose, comme celui de Jones et Darrah (1992), que la rhizodéposition est indépendante de la concentration en carbone à l'extérieur des racines. Néanmoins, contrairement au modèle de Jones et Darrah (1992), la morphologie racinaire n'est pas prise en compte par le modèle. La rhizodéposition dépend uniquement du pool de glucose présent dans les racines.

II..C Conclusion sur les modèles de rhizodéposition

La rhizodéposition est un phénomène complexe, délicat à modéliser. Même si ces hypothèses restent à vérifier, ces deux exemples montrent que les rhizodépôts seraient corrélés :

- à la quantité de glucose des racines et/ou
- à la longueur et/ou au nombre d'apex.

Par conséquent, le pool de carbone soluble des racines et la morphologie racinaire, sont des variables potentiellement importantes pour la modéliser la rhizodéposition carbonée. Nous allons détailler ces éléments dans le paragraphe suivant.

II..D Variables potentielles pour modéliser la rhizodéposition

II.D.1 La concentration en carbone soluble et la morphologie des racines

Comme nous l'avons décrit ci-dessus, les rhizodépôts des plantes au stade végétatif sont essentiellement constitués d'exsudats et de sécrétions.

L'exsudation est une diffusion passive entre le cytoplasme des cellules racinaires et la solution du sol. A concentration extérieure identique, l'exsudation sera plus forte là où la concentration en composés solubles de la racine est élevée. Les sécrétions sont quant à elles libérées de façon active dans le milieu extérieur. Plus les cellules sont métaboliquement actives, et plus elles ont la capacité de synthétiser des mucilages. La biosynthèse et la libération des mucilages sont des processus qui exigent de l'énergie.

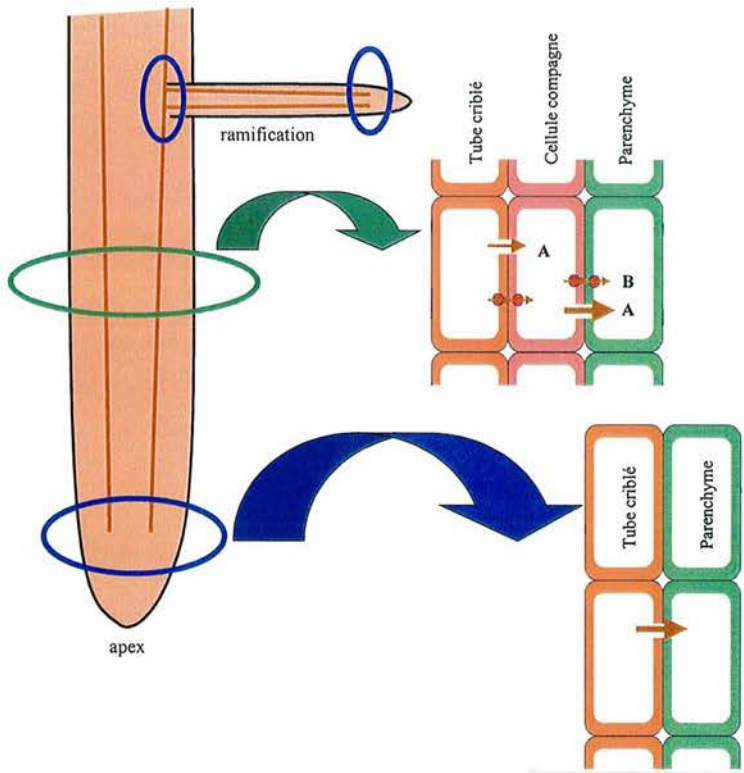


Figure 8 : Schéma synthétique représentant le déchargement du phloème dans une racine. Dans les tissus racinaires, les solutés passent des cellules compagnes au parenchyme essentiellement par voie symplasmique (à travers les plasmodesmes A). Les solutés peuvent aussi être déchargés via l'apoplasme (B). Au niveau des ramifications et des apex, les cellules compagnes et celles du phloème ne sont pas encore définitivement formées. Par conséquent, le déchargement s'effectue de façon passive dans le parenchyme.

Cette énergie est fournie par les sucres solubles présents dans le cytoplasme des cellules racinaires. Là aussi, les sécrétions seraient favorisées par une disponibilité élevée en composés solubles dans les racines.

La concentration en composés solubles est importante au niveau des sites de déchargement des vaisseaux de phloème. Ce déchargement s'effectue d'une part dans les parties mûres des racines et d'autre part aux extrémités du phloème, qui sont immatures et manquent de cellules compagnes (Fisher et Cash-Clark, 2000) :

- Dans les parties mûres

Le déchargement du phloème dans le parenchyme se fait généralement par voie symplasmique (Kühn *et al.*, 1999), *via* les plasmodesmes (Turgeon, 2000) (Figure 8). En effet, en exposant des racines de pois à un stress osmotique, un élargissement des plasmodesmes proportionnel à une augmentation du taux de déchargement des assimilats est observé (Schulz, 1995). Chez l'orge, plante annuelle qui n'a pas la capacité de stocker des réserves de carbone dans les racines, la plupart des assimilats déchargés transitent par voie symplasmique (Farrar, 1985).

Contrairement aux cellules des organes sources, les cellules dans lesquelles les assimilats sont déchargés n'accumulent généralement pas les sucres pour de longues périodes et à de fortes concentrations (Gamalei, 2002). Par conséquent, les assimilats déchargés dans les racines des plantes annuelles ne s'accumulent pas sous forme de réserves (Xia et Saglio, 1988) : ils sont rapidement utilisés et/ou transportés vers d'autres cellules puits.

- Au niveau des apex

Au niveau des apex, le déchargement se fait également par voie symplasmique comme décrit précédemment. La topographie des flux symplasmiques est aisément tracée par la distribution des plasmodesmes. Dans un apex de racine, leur densité diminue des tubes terminaux du phloème jusqu'au méristème (Zhu *et al.*, 1998). Une partie des assimilats est ainsi acheminée du phloème au méristème apical de la racine.

Néanmoins, les vaisseaux du phloème étant immatures au niveau des apex, la majeure partie des assimilats est déchargée par diffusion à travers l'apoplasme (Jones et Hodge, 1999) (Figure 8). Ainsi, les apex constituent des sites privilégiés de déchargement des tubes du phloème (Pritchard *et al.*, 2000).

En conclusion, une similitude existe entre les sites de la racines où le déchargement des assimilats carbonés est important, et ceux où la majorité des rhizodépôts est retrouvée. En effet, dès 1975, Van Egeraat identifie les apex primaires et secondaires comme les principaux sites de rhizodéposition. La rhizodéposition serait donc directement liée à la concentration en carbone soluble des racines.

Comme les racines de maïs sont pauvres en réserves, cette quantité dépend directement de la fourniture en assimilats par les parties aériennes des racines. Nous posons donc l'hypothèse que la rhizodéposition de jeunes plants de maïs est principalement corrélée à l'approvisionnement en substrats des racines. Il est donc nécessaire de synthétiser les connaissances sur les processus physiologiques de transport et l'acquisition des assimilats carbonés par les racines pour déterminer quelles sont les variables capables de rendre compte de la rhizodéposition, autres que le pool racinaire de composés solubles.

.II.D.2 Variables liées à la quantité de sucres solubles présente dans les parties aériennes

Les composés solubles présents dans un système racinaire ayant peu de réserves, comme celui d'une plante annuelle, proviennent :

- de la remobilisation des réserves de la graine si la plante est encore hétérotrophe, ou
- du carbone fixé au cours des réactions métaboliques de la photosynthèse lorsque la plante est autotrophe.

Les plantes sont qualifiées d'autotrophes pour le carbone lorsqu'elles synthétisent les composés organiques carbonés dont elles ont besoin directement à partir de sources minérales.

Lors des premiers stades de sa croissance, une plante est hétérotrophe : les structures lui permettant de convertir le CO_2 de l'air en composés organiques ne sont pas formées et ne permettent pas encore à la plante de croître.

Ainsi, la plantule franchit successivement 3 étapes (Barloy, 1984) :

- phase au cours de laquelle la plantule dépourvue d'assimilation chlorophyllienne, demeure tributaire des réserves de la semence ;
- phase de transition caractérisée par une double provenance énergétique : photosynthèse foliaire et réserves de la graine ;
- phase d'autotrophie qui débute quand la photosynthèse subvient en totalité aux besoins énergétiques de la plantule. En ce qui concerne le maïs, le début de cette autonomie intervient quand la troisième feuille atteint les deux tiers de la taille finale (Cooper et Mac Donald, 1970).

La photosynthèse permet aux espèces végétales de synthétiser des sucres simples à partir du CO_2 de l'atmosphère. Le saccharose est la forme la plus fréquente des glucides élaborés. La plus grande partie du carbone fixé est transformé soit en saccharose, principal sucre transporté dans les plantes, soit en amidon, principal glucide de réserve. La synthèse d'amidon permet ainsi d'absorber transitoirement l'excédent de glucides synthétisés le jour dans les chloroplastes ou de constituer une réserve durable dans les amyloplast. Le ratio saccharose/amidon varie considérablement entre différentes espèces végétales (Grodzinski *et al.*, 1998). La taille du pool d'amidon constitué pendant la journée est importante pour le maintien des taux d'exportation du saccharose pendant la nuit (Geiger *et al.*, 2000). Ainsi, lorsque la plante est mise à l'obscurité, l'exportation de sucres reste inchangée pendant plusieurs jours : l'amidon est remobilisé puis transporté vers les autres organes (Matt *et al.*, 1998).

En conclusion, connaître la quantité de CO_2 fixé par les parties aériennes ne permet pas pour autant de modéliser directement la quantité de sucres transportée vers les racines. Les réactions métaboliques de la photosynthèse, et les mécanismes de régulation de ces réactions sont complexes. Seule la quantité de carbone soluble exportée semble être une variable appropriée pour modéliser la quantité de carbone soluble fournie aux racines, et par conséquent la rhizodéposition. Néanmoins, le carbone soluble alloué aux racines ne dépend pas uniquement des parties aériennes. La répartition des assimilats entre les parties aériennes

et les racines a donné lieu à une multitude de concepts et de modèles. Il est à noter que les modèles écophysiologiques de répartition ne prennent que très rarement en compte l'efflux de carbone vers le sol (Lemaire et Millard, 1999; Farrar et Jones, 2000).

.II.D.3 Variables liées à la répartition des assimilats entre les parties aériennes et les racines

Les différentes approches de l'allocation des assimilats peuvent être résumées à :

- des approches empiriques, faisant intervenir des constantes ou des coefficients variables d'allocation ;

- des modèles simplifiés ayant un objectif précis, comme par exemple prédire la relation entre les parties aériennes et les racines ;

- des modèles mécanistes, qui représentent les organes « sources », le transport et l'arrivée des assimilats dans les organes « puits ». (Warren-Wilson, 1972) définit les sources comme des zones qui produisent les assimilats par photosynthèse ou mobilisation, et qui les exportent. Les puits importent les assimilats et les métabolisent ou les stockent. Un puits peut être caractérisé par sa force (« sink strength »), définie comme la vitesse de croissance des organes puits par unité de surface (Warren-Wilson, 1972). La force de puits en croissance est déterminée par la taille du puits et son activité métabolique. La force de puits, définie comme un flux de carbone dans un organe, est une description limitée de la capacité d'un puits à attirer les photoassimilats. En effet, le flux de carbone qui arrive dans l'organe puits n'est pas déterminé uniquement par le puits lui-même, mais aussi par la capacité des sources à synthétiser des assimilats, par le mode de transport et par la présence d'autres puits concurrents (Minchin et Thorpe, 1993; Minchin *et al.*, 1993).

Remarquons qu'un des points essentiels de l'attractivité d'un puits est généralement sa position par rapport à la source, relativement à celles des puits compétiteurs : une source subvient aux besoins des puits les plus proches (Wardlaw, 1990; Sprugel, 1991). Par exemple, Bertin (1995) montre que la croissance de différentes tomates dépend de leur position relative sur la plante : les tomates les plus éloignées commencent leur croissance quand les plus favorisées ralentissent la leur. Il est à noter que dans notre cas, les racines, et plus particulièrement les apex racinaires, représentent les compartiments les plus éloignés des parties aériennes.

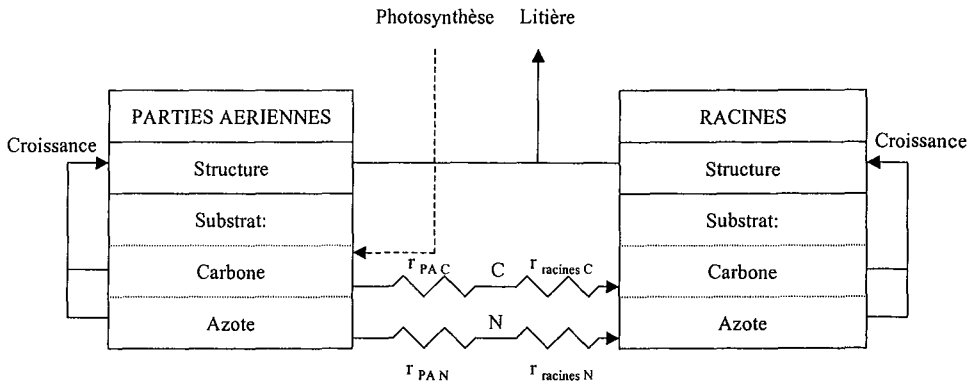


Figure 9 : Modèle d'allocation de substrats carbonés et azotés aux parties aériennes (PA) et aux racines, d'après Thornley (1998). Les résistances au transport du carbone et de l'azote dans les PA et les racines sont représentées par r_{PA} et $r_{racines}$ respectivement. Le transport du carbone est égal à la différence de concentration entre les PA et les racines, divisée par la somme des résistances relatives aux PA et aux racines.

Généralement, afin de modéliser l'allocation des assimilats des sources aux puits, le pool de saccharose des sources est connecté à celui des puits *via* une voie de transport ayant une certaine résistance (Figure 9).

Une fois arrivés dans les organes puits, les assimilats sont déchargés puis utilisés dans des processus métaboliques. Wann *et al.* (1978) et Wann et Raper (1984) ont utilisé un modèle basé sur ces principes pour simuler la croissance de plants de tabac. Ce modèle a aussi été utilisé pour modéliser les plantations forestières et les écosystèmes prairiaux.

Néanmoins, d'autres modèles plus complexes faisant intervenir la théorie de Münch, les lois de diffusion ou de flux de masse sont aussi utilisés (voir la synthèse de Deleuze, 1996).

Comme nous l'avons précisé précédemment, la plupart de ces modèles de répartition ne prennent pas en compte l'efflux de carbone vers le sol. Seuls Lemaire et Millard (1999) ont élaboré un modèle conceptuel de répartition des assimilats carbonés dans la plante couplé à une sortie d'exsudats *sensu stricto* et de sécrétions. Dans ce modèle, comme dans celui de Kuzyakov et Domanski (2002), la quantité de ces composés libérés dans le sol serait corrélée à la quantité de substrats carbonés disponible dans le système racinaire. Les variations du mode de répartition des assimilats, dues à différentes conditions écophysiologiques, sont également abordées. Par exemple, une diminution de l'assimilation induit une proportion plus importante d'assimilats carbonés allouée aux parties aériennes comparée au compartiment souterrain (Lemaire et Millard, 1999). D'après les modèles qui intègrent des résistances au transport des assimilats entre les différents compartiments végétaux (Figure 9), tout se passe comme si la résistance diminuait entre les sources et les puits des parties aériennes, mais augmentait entre les sources et les puits racinaires (Minchin *et al.*, 1993). Cette modification de répartition des assimilats expliquerait ainsi la baisse de la quantité de rhizodépôts observée lorsque la plante est soumise à une intensité lumineuse moins importante (Hodge *et al.*, 1997; Lemaire et Millard, 1999).

En conclusion, la répartition des assimilats dans la plante, et en particulier aux racines, semble être, de par son impact sur le pool de composés solubles des racines, une variable déterminante pour modéliser la rhizodéposition. Toutefois, les modèles écophysiologiques existants ne sont pas à notre connaissance reliés à ce processus. Seuls Lemaire et Millard (1999) proposent la conceptualisation d'un tel modèle, et celui-ci n'est malheureusement ni

mis en équation, ni paramétré, ni validé. Dans ce modèle, la répartition des assimilats varie en fonction de certaines conditions écophysiologiques, mais aucune hypothèse n'est proposée pour expliquer et pouvoir ainsi modéliser l'allocation carbonée aux racines et à la rhizosphère.

Actuellement, les hypothèses de répartition entre les parties aériennes et les racines sont diverses et encore sujettes à controverse. Dans la suite de cet exposé, nous présentons les 4 hypothèses majeures ainsi que leurs conséquences sur le choix des variables capables de moduler la quantité de carbone soluble allouée aux racines, et qui, par conséquent, régiraient la rhizodéposition.

- Hypothèse 1 : l'acquisition de carbone par les racines est déterminée par l'équilibre fonctionnel entre les parties aériennes et le système racinaire.

La balance fonctionnelle est une relation empirique proposée par Brouwer (1962) et Davidson (1969) en faisant varier les conditions de croissance des racines (*via* la température) ou des feuilles (*via* la luminosité) de différentes plantes. Cet équilibre s'écrit :

$$\sigma_f \times W_f = \eta \times \sigma_r \times W_r$$

W_f et W_r sont la biomasse foliaire et racinaire, respectivement ; σ_f est l'efficacité photosynthétique (exprimée en kg de biomasse sèche produite par unité de biomasse foliaire) ; σ_r est le taux d'absorption racinaire de l'azote (en kg d'azote absorbé par unité de biomasse racinaire) et η la constante de proportionnalité (Deleuze, 1996).

D'un point de vue adaptatif, cette allocation s'explique bien puisque la plante va favoriser les compartiments qui absorbent l'élément limitant. Par exemple, une déficience en azote induit un investissement plus important du carbone dans la croissance des racines. Inversement, l'ombrage des parties aériennes provoque une diminution du pourcentage d'assimilats alloués au système racinaire. Toutefois, cette hypothèse ne traduit pas l'hétérogénéité de l'allocation de carbone aux racines entre différentes espèces. Par ailleurs, elle décrit la plupart des situations, mais elle ne les explique pas.

- Hypothèse 2 : l'acquisition de carbone par les racines est déterminée par le flux provenant des parties aériennes (« push » hypothesis).

Cette hypothèse propose que l'allocation de carbone aux racines est entièrement déterminée par les parties aériennes. La croissance des racines serait donc due aux facteurs qui contrôlent l'exportation de carbone des parties aériennes vers le système racinaire.

Cette hypothèse est confortée par différentes expériences. Ainsi, lorsque les conditions nutritives ne sont pas limitantes et que les plantes sont cultivées avec une intensité lumineuse ou une concentration en CO₂ atmosphérique élevées, leur système racinaire croît plus rapidement (Jastrow *et al.*, 2000; Derner *et al.*, 2001). Néanmoins, dans ces expériences, aucune variable directement corrélée à l'exportation des assimilats par les parties aériennes est étudiée (Farrar et Jones, 2000). Les auteurs mesurent uniquement le taux de photosynthèse. Or, aucune relation simple ne peut être observée entre le taux de photosynthèse et le taux d'exportation du saccharose, probablement à cause de l'effet tampon de l'amidon des feuilles. Par conséquent, aucune relation *directe* entre le taux d'exportation des assimilats et la croissance racinaire n'a pu être observée.

D'un autre côté, des régions autres que les organes sources peuvent modifier le taux d'exportation des assimilats aux racines (Moore *et al.*, 1999; Stitt et Krapp, 1999). Ainsi, la taille et l'activité métabolique des puits altèrent le taux et la capacité de photosynthèse (Marcelis, 1996). Lorsque la température est basse au niveau d'un puits, ce qui réduit généralement son activité métabolique et par conséquent sa force de puits, le taux d'exportation diminue à court terme (Minchin *et al.*, 1994) et à long terme (Plum et Farrar, 1996). Il est donc difficile de soutenir que l'acquisition de carbone est uniquement déterminée par les parties aériennes (Farrar et Jones, 2000).

- Hypothèse 3 : l'acquisition de carbone est déterminée par la demande des racines (« pull » hypothesis).

Cette hypothèse, émise par Harper (1977), suggère que les parties aériennes surproduisent des glucides de façon à toujours satisfaire la demande en assimilats des racines.

Néanmoins, le terme de « demande » nécessite d'être clairement explicité. Nous employons ce terme pour le carbone nécessaire à la croissance, la respiration, les assimilats

utilisés par les symbiotes et le carbone libéré sous forme de rhizodépôts (Farrar *et al.*, 1995). Les composantes conventionnelles de cette demande, c'est-à-dire la croissance et la respiration racinaire, sont bien étudiées. Cependant, celles qui font intervenir la libération de carbone dans le sol ou la consommation des composés carbonés dans la relation symbiotique exigent plus d'attention : dépendent-ils d'éléments extérieurs à la plante ou une fraction du carbone assimilé est-elle sécrétée à un taux constant quelles que soient les conditions environnementales ? Certaines études ont montré que la libération de composés carbonés par le système racinaire dans le sol pouvait être partiellement régulée par des mécanismes de réabsorption racinaire (Xia et Saglio, 1988; Jones et Darrah, 1993b; 1994; Jones et Edwards, 1998; Ryan *et al.*, 2001). Par conséquent, ce composant de la demande racinaire découlerait à la fois de la racine et des conditions rhizosphériques (Farrar et Jones, 2000).

Lorsque les plantes sont soumises à une obscurité prolongée, la respiration et le taux de croissance des racines restent inchangés pendant plusieurs jours. Les teneurs en sucres, amidon et protéines déclinent seulement après quelques jours, et ce, alors que la quantité de réserves carbonées dans le système racinaire est trop faible pour maintenir le métabolisme pendant plusieurs heures. Ceci illustre que les parties aériennes continuent à exporter des assimilats pendant plusieurs jours en puisant dans leurs stocks d'amidon. Par conséquent, la demande des racines joue bien un rôle sur l'acquisition de carbone provenant des parties aériennes.

Néanmoins, cette hypothèse n'explique pas l'augmentation de la croissance des racines suite à une augmentation du taux de photosynthèse. Aussi, Farrar et Jones (2000) ont-ils émis une quatrième hypothèse réconciliant les hypothèses « push » et « pull ».

- Hypothèse 4 : l'acquisition de carbone est déterminée à la fois par les racines et par les parties aériennes (« shared control » hypothesis)

Le contrôle de l'acquisition des assimilats carbonés par les racines réside partiellement dans les racines et partiellement dans les parties aériennes. Chaque étape du transport de carbone dans la plante peut être régulée.

Pour déterminer quelles étapes contrôlent le flux de carbone, Farrar et Jones, (2000) ont utilisé des plants de soja ayant une feuille et une racine croissant à un taux constant. Ce sont des systèmes simplifiés qui comportent une source et un puits. Ainsi, 80% du contrôle a pu être attribué à la source, contre 20% pour la racine. Ces auteurs ont aussi calculé des

coefficients de réponse pour des plants partiellement défoliés. Le principe de cette méthode est basée sur le fait que lorsque la photosynthèse est réduite de 40%, le taux de croissance des racines devrait être lui aussi réduit de 40% si la photosynthèse contrôle à elle seule l'acquisition de carbone par les racine (« push » hypothesis). Le coefficient de réponse, rapport entre ces deux pourcentages indique donc quelle part de contrôle est régie par les parties aériennes. Pour cette étude, Farrar et Jones (2000) ont utilisé des plants de fétuque et de pâquerette. Après une culture à différentes concentrations de CO₂, les plantes sont partiellement défoliées et le coefficient de réponse est calculé. Ce dernier est différent entre les plants ayant poussé à une concentration en CO₂ de 700 vpm et ceux s'étant développé à 350 vpm : la réduction de croissance, plus faible que la baisse du taux de photosynthèse, est moindre lorsque les plants ont été soumis à une concentration en CO₂ de 700 vpm. L'hypothèse émise pour expliquer ces résultats est que les puits limitent la croissance des plantes et que cette limitation est plus marquée lorsque le taux de photosynthèse est plus élevé. Il apparaît donc que le contrôle de la croissance est partagé entre les feuilles, organes sources, et les racines, organes puits.

A partir de ces hypothèses, quelles variables peuvent être choisies pour modéliser la rhizodéposition ?

Chez les plantes annuelles comme le maïs, qui ont peu de réserves racinaires, la rhizodéposition serait étroitement corrélée avec la quantité d'assimilats qui provient des parties aériennes. Nous avons vu que cette acquisition de carbone par le système racinaire dépend des parties aériennes (« push hypothesis »), des racines (« pull hypothesis »), ou d'une interaction complexe entre les parties aériennes et le système racinaire (hypothèse de l'équilibre fonctionnel et « shared control hypothesis »).

Dans le cas de l'hypothèse « push », les variables régissant la rhizodéposition seraient donc uniquement des variables relatives à l'assimilation du CO₂ et au taux d'exportation des assimilats dans le phloème.

Au contraire, dans le cas de l'hypothèse « pull », ces variables pourraient être la croissance et la respiration racinaire, et éventuellement des facteurs environnementaux qui accentuent la demande des racines, tels que la présence de micro-organismes autour des racines.

Enfin, dans le cas d'un contrôle partagé entre parties aériennes et racines, hypothèse la plus probable, les variables relatives à la croissance et au fonctionnement des parties aériennes (biomasse des feuilles, taux de photosynthèse) ainsi que celles du système racinaire (taille des racines, concentration en azote disponible dans le sol) seraient des variables pertinentes à observer pour pouvoir les corrélérer ou non à la quantité de rhizodépôts selon le degré de contrôle des processus de rhizodéposition par la plante.

Dans la suite de ce travail, l'ensemble des variables est étudié. Nous nous intéressons à la fois aux variables du système racinaire comme la morphologie et l'activité métabolique des racines, mais aussi à la concentration en carbone soluble du système racinaire, variable intégrant le contrôle possible des parties aériennes sur la répartition du carbone dans la plante.

.III Conclusion et perspectives de recherche

Cette synthèse bibliographique montre qu'il existe une multitude de travaux relatifs à la rhizosphère et aux nombreux processus qui s'y déroulent. Les auteurs qui analysent plus spécifiquement la libération de composés organiques dans le sol en fonction des conditions environnementales ont travaillé sur de nombreuses plantes et utilisé des protocoles très différents. Ainsi, l'hétérogénéité de ces conditions couplée à celle de l'expression des résultats ne permet pas de comparer les données obtenues et d'en tirer des conclusions générales.

Afin d'identifier et de hiérarchiser les différents facteurs qui modulent la rhizodéposition, de nombreux modèles ont été proposés. Néanmoins, lorsque les modèles intègrent les différents processus de libération des rhizodépôts dans le sol, les variables prises en compte pour modéliser la rhizodéposition ne sont pas directement mesurées ou le modèle n'est pas validé.

Nous avons centré notre travail sur l'étude des variables qui régissent la rhizodéposition. En effet, leur identification est primordiale pour maîtriser la rhizodéposition, et par conséquent moduler les flux de rhizodépôts en vue d'orienter le fonctionnement rhizosphérique. Comme nous l'avons dit précédemment, dans cette étude, la rhizodéposition est étudiée sur des plants de maïs au stade végétatif. Dans ces conditions, les rhizodépôts sont essentiellement constitués d'exsudats et de mucilages.

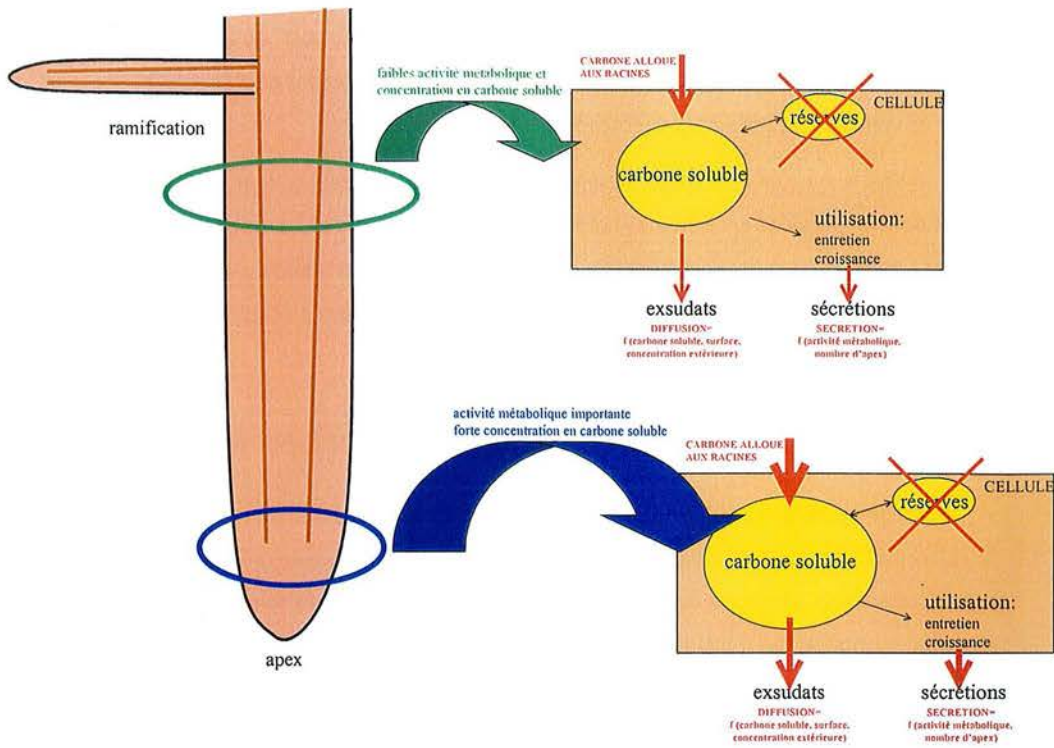


Figure 10 : Représentation schématique simplifiée de nos hypothèses de travail. La rhizodéposition serait corrélée à la morphologie racinaire, et notamment au nombre d'apex. En effet, c'est à ce niveau que la concentration en carbone soluble des cellules semble être la plus élevée. La diffusion y serait donc importante. De plus, l'activité métabolique des racines est également très importante à l'extrémité des racines. La sécrétion de mucilage, corrélée à cette activité, serait donc favorisée.

L'exsudation est une diffusion passive entre le cytoplasme des cellules racinaires et la solution du sol. D'une manière générale, l'exsudation serait directement liée à la concentration en carbone soluble des racines. Comme les racines de maïs sont pauvres en réserves, nous pouvons donc supposer que l'exsudation de jeunes plants de maïs est principalement corrélée à l'approvisionnement en substrats carbonés des racines. D'après la littérature, la concentration en carbone soluble des cellules est très élevée dans la zone de déchargement du phloème, située au niveau des apex racinaires.

Le mucilage est quant à lui sécrété de façon active. La biosynthèse et la libération des mucilages sont des processus qui exigent de l'énergie. Cette énergie est fournie par les composés solubles présents dans le cytoplasme des cellules racinaires. Là aussi, la concentration en composés solubles et les apex seraient des variables privilégiées pour rendre compte de la sécrétion.

Finalement, nous posons les hypothèses suivantes :

- la quantité d'exsudats dépend du pool de carbone soluble des racines, de la surface racinaire et de la concentration extérieure en carbone ;
- la quantité de sécrétions dépend essentiellement de l'activité métabolique et du nombre d'apex du système racinaire.

Pour tester ces hypothèses, les relations entre ces différentes variables ont été analysées. Nos expérimentations ont voulu répondre aux questions suivantes (Figure 10) :

1. Quelle est la relation entre la rhizodéposition et l'approvisionnement en substrats carbonés des racines ?
2. La morphologie racinaire, et en particulier le nombre d'apex, influe-t-elle sur la rhizodéposition ?

Enfin, l'ensemble de nos données expérimentales a été analysé pour dégager les principales variables régissant la rhizodéposition, conceptualiser un modèle simple de rhizodéposition en fonction de ces variables, et proposer différentes pistes de recherche pour élaborer un modèle de rhizodéposition des plantes annuelles.

Les protocoles expérimentaux mis en place pour tester ces hypothèses sont détaillés dans le chapitre suivant.

Les résultats rapportés dans ce mémoire ont fait à ce jour l'objet de :

- Une publication :

Marchand A. L., Robin C. et Nguyen C. 2004. Is root-released C directly correlated with the shoot C-supply to the roots ? (en préparation).

- Deux participations à des rencontres de jeunes chercheurs :

Marchand A. L., Robin C. et Nguyen C. 2002. Etude du fonctionnement de la rhizosphère : relation entre rhizodéposition carbonée et les variables morphologiques du système racinaire. *Séminaire 2002 de l'Ecole Doctorale « Science et Ingénierie des Ressources, Procédés, Produits et Environnement », Nancy, France, 17 janvier 2002.* ISBN 2-9518564-0-7.

Marchand A. L., Robin C. et Nguyen C. 2000. Comment la libération du carbone par les racines est-elle régulée ? Poster présenté aux *Doctoriales de Lorraine, La Bresse, France, 6-13 octobre 2000.*

- Une communication à un colloque national :

Marchand A. L., Robin C. et Nguyen C. 2001. La rhizodéposition carbonée du maïs est-elle reliée aux variables morphologiques du système racinaire ? *3^{ième} Colloque Rhizosphère, Dijon, France, 26-28 novembre 2001.*

- Deux communications à des colloque internationaux :

Marchand A. L., Robin C., Nguyen C. 2002. Towards a simplified model of rhizodeposition of hydroponically grown maize. Poster présenté à l'*Action COST 631, Vienne, Autriche, 11-13 octobre 2002.*

Marchand A. L., Robin C., Nguyen C. et Grieu P. 2001. Does relative sink strength control rhizodeposition? Poster présenté au *6th International Society of Root Research Symposium, Nagoya, Japon, 11-15 novembre 2001.*

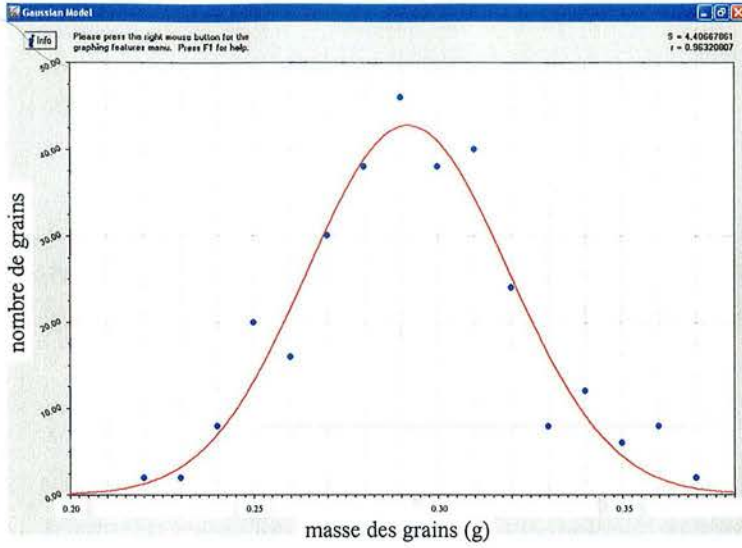


Figure 11 : Répartition des grains de maïs en fonction de leur masse. Une courbe de Gauss de type $y = a \times \exp[-(x-b)^2/2c^2]$ est ajustée sur les points obtenus (les constantes de la courbe sont $a=42,7$; $b=0,29$ et $c=0,027$; $r^2=0,92$).

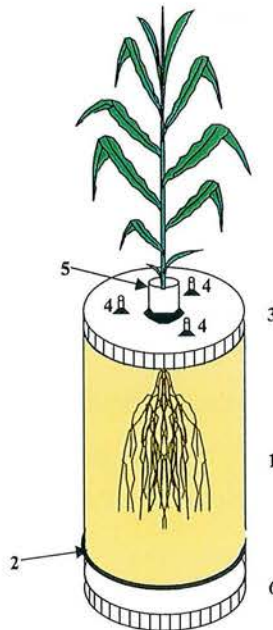


Figure 12 : Dispositif de culture en sol pour le marquage des assimilats au ^{14}C . Les références sont expliquées dans le texte.

Matériels et Méthodes

.I Matériel végétal et conditions de culture

I..A Matériel végétal

Nous utilisons une variété demi-précoce de maïs (*Zea mays* L. cv DEA) distribuée par Pioneer (France) pour réaliser cette étude. Les graines n'ont subi aucun traitement. Nous avons pesé 300 graines prises au hasard dans le sac de semence afin de définir quel était la masse moyenne d'un grain (Figure 11). Afin de réduire la variabilité phénotypique, les graines sélectionnées pour les expériences ont un poids compris entre 280 et 300 mg.

I..B Culture en sol

Le semis est effectué dans des pots de culture à 2 cm de la surface du sol à raison d'un grain de maïs par pot. Le sol utilisé est un mélange de terre tamisée à 5 mm de texture sablo-limono-sableuse (Annexe 1) et de sable tamisé à 2 mm, dans la proportion 2/3, 1/3 (v/v), respectivement. Il est utilisé avec une densité de $1,3 \text{ kg L}^{-1}$. Le pot de culture est constitué de 3 parties (Figure 12) :

- un tube central en polychlorure de vnyle (94 mm de diamètre interne et 373 mm de longueur) avec un pas de vis à chaque extrémité (1). Un dispositif a été soudé à l'intérieur du tube pour pouvoir disposer un rond de tissu sur une maille en plastique et retenir ainsi le sol dans le tube (2).
- un couvercle supérieur (3) qui a 3 orifices utilisés pour l'apport quotidien de solution nutritive (4). Un quatrième orifice central de 32 mm de diamètre comporte un cylindre en plastique (5) qui permet le passage de la tige. Ce couvercle est mis en place lors de la germination des grains sur les pots des plantes destinées à être marquées au ^{14}C .

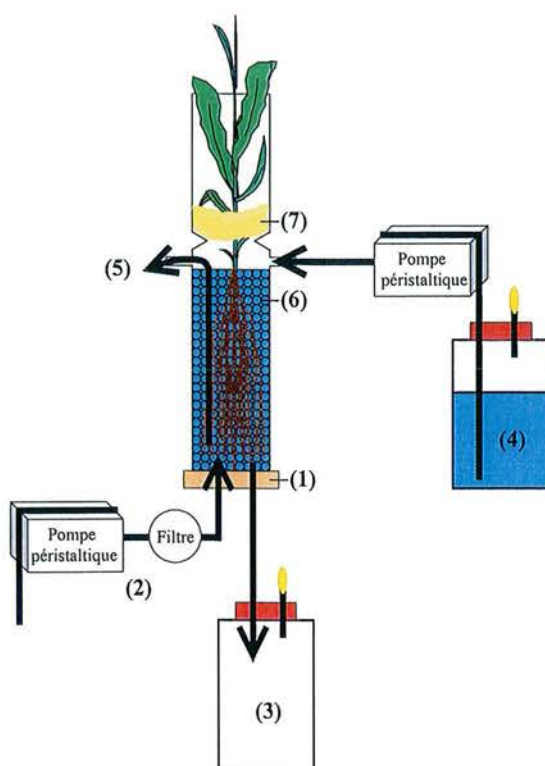


Figure 13 : Dispositif de culture hydroponique des maïs au stade végétatif (4 ou 6 feuilles visibles), cultivés dans des tubes en verre remplis de billes. Ce dispositif est mis en place pour suivre la cinétique de rhizodéposition. Les références sont expliquées dans le texte.

- un couvercle inférieur (6) qui est exclusivement utilisé pendant le marquage pour assurer l'étanchéité du compartiment souterrain.

Deux fois par jour, l'humidité du sol est ajustée à 70% de la capacité au champ (5 kPa) avec de l'eau distillée et de la solution nutritive d'Hoagland et Arnon (1950) modifiée (Annexe 2). Les plantes sont cultivées pendant 4 semaines dans un phytotron où les conditions de température, d'éclairement et d'humidité sont régulées selon les consignes suivantes :

- température : $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ à la lumière et $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ à l'obscurité ;
- photopériode : 16 heures d'éclairement et 8 heures d'obscurité ;
- éclairement photonique utile à la photosynthèse (Photosynthetic Photon Flux Density, PPFD) : $450 \mu\text{mole m}^{-2} \text{s}^{-1}$ dans le PAR au niveau des feuilles.

I..C Culture en hydroponie

Deux types de dispositifs ont été employés pour cultiver des plants de maïs en hydroponie avec le système racinaire en axénie. Le premier dispositif est utilisé pour suivre pendant 24 heures la cinétique de libération des composés solubles dans le milieu de culture, le deuxième pour réaliser un marquage ponctuel des plants en fin de culture.

.I.C.1 Premier dispositif : tube en verre

Ce dispositif permet de cultiver des plantes jeunes (20 jours de culture maximum) dans un tube en verre (Pyrex) de 300 mm de hauteur et de 38 mm de diamètre intérieur (Figure 13) (Benizri *et al.*, 1995; Boeuf-Tremblay *et al.*, 1995; Benizri *et al.*, 2002).

Chaque tube est ouvert à ses deux extrémités. La partie inférieure du tube est obturée par un bouchon à jupe en silicone (1) qui comporte deux ouvertures dans lesquelles sont insérées des tuyaux de silicone (diamètre interne de 3 mm, diamètre externe de 6 mm). Le premier tuyau permet d'établir un bullage d'air filtré ($0,2 \mu\text{m}$, Sartorius) stérile à l'intérieur du tube à l'aide d'une pompe péristaltique (2), à un débit de 100 mL par minute environ. Le

deuxième tuyau est relié à une bouteille vide de 2,5 L (3). Il permet d'évacuer la solution nutritive lorsque celle-ci est renouvelée.

A 210 mm de la base du tube, deux ouvertures sont pratiquées dans la paroi de verre. Une ouverture, reliée à une bouteille contenant 2 L de solution nutritive (4), permet de renouveler cette dernière dans le tube, à l'aide d'une deuxième pompe péristaltique. L'autre ouverture permet la sortie d'un tuyau de silicone d'un diamètre intérieur de 1 mm provenant du fond du tube de culture (5). Ce tuyau permet de récupérer à l'aide d'une seringue stérile des aliquotes de solution nutritive au moment des prélèvements lors de l'étude de la cinétique d'exsudation.

Une contrainte mécanique est simulée au niveau des racines par des billes en verre (diamètre 4 mm) qui remplissent le tube de la base jusqu'aux deux ouvertures du tube, soit 330 g de billes en moyenne (6). La taille des pores est de 1,14 mm et la porosité totale de 25,2 %. Pour se développer dans le pot, les racines doivent exercer une force mécanique. Cette force doit être plus forte au fond du pot car la masse des billes de verre détermine une plus forte contrainte en bas par rapport au sommet (Groleau-Renaud, 1998). Le choix du diamètre des billes s'est basé sur des travaux antérieurs effectués au sein du laboratoire (Tremblay-Boeuf, 1995).

Nous avons choisi de travailler avec une contrainte mécanique faible pour permettre une bonne croissance racinaire tout en conservant un volume non négligeable de solution nutritive dans le pot, soit 60 mL environ. En utilisant des billes plus fines, le volume de solution nutritive est réduit : la réabsorption des rhizodépôts solubles et les variations de volume dues à l'absorption de l'eau par les racines sont trop importantes pour pouvoir étudier finement les processus de rhizodéposition.

La partie supérieure du tube est obturée par du coton cardé (7) et recouverte par du papier aluminium. Les tuyaux sont fermés hermétiquement à l'aide de pinces afin d'assurer la stérilité du système.

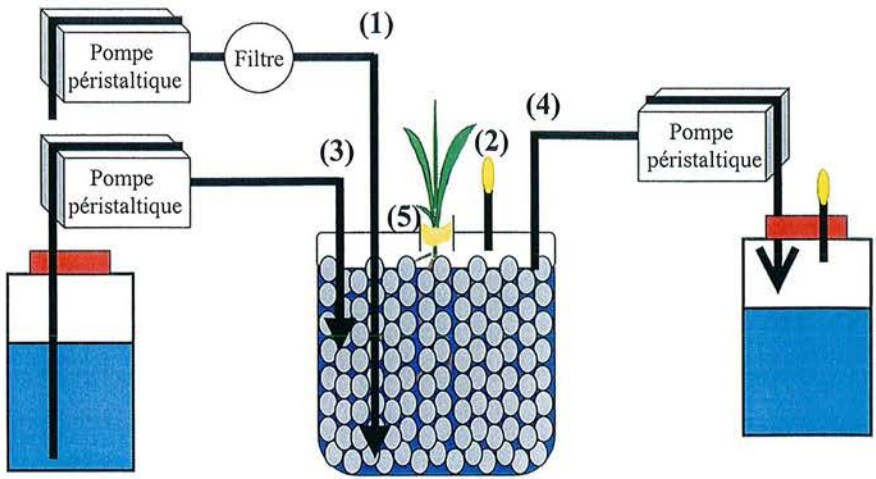


Figure 14 : Dispositif de culture hydroponique des maïs dans des pots en verre d'1L remplis de billes de verre. Ce dispositif est mis en place pour marquer les assimilats au ^{14}C après différents temps de culture. Les références sont expliquées dans le texte.

.I.C.2 Deuxième dispositif : pot en verre

Ce dispositif est basé sur le même concept que le premier, mais il est adapté à un temps de culture plus long (20 à 30 jours) et à un marquage des parties aériennes du maïs.

Le pot de culture est un pot en verre d'un litre sur lequel se fixe un couvercle en polycarbonate ayant 5 orifices (Figure 14). Quatre d'entre eux ont un diamètre de 5 mm. Ils sont connectés à des tuyaux en silicone de 2mm de diamètre intérieur et de 4 mm de diamètre extérieur. Deux orifices permettent l'entrée (1) et la sortie (2) d'air filtré à 0,2 μ m (Sartorius) pour garder le dispositif stérile. Les deux autres sont utilisés pour apporter régulièrement la solution nutritive stérile (3) et récupérer le trop plein (4). Un cylindre en plastique, placé dans l'orifice central de 30 mm de diamètre, permet aux parties aériennes de se développer (5). L'extrémité supérieure du cylindre est obturée par du coton cardé protégé par une feuille d'aluminium. L'étanchéité entre le couvercle et le cylindre central est effectuée en ajoutant du mastic de bourrage (3MTM Ref.08568). Le pot est rempli de billes de verre de 4mm de diamètre. Le volume de solution nutritive du pot est de 250 mL en moyenne.

.I.C.3 Stérilisation du dispositif expérimental et des semences :

Stérilisation des dispositifs de culture sur billes de verre

A fin d'éviter toute contamination microbienne, l'ensemble du dispositif de culture est placé dans un autoclave (121°C, 20 min, 10⁵ Pa). Cette opération est réalisée pour chaque dispositif.

Désinfection des graines de maïs

Les semences sont plongées pendant 30 secondes dans une solution d'acide sulfurique 95 % pour fragiliser les téguments de la graine et faciliter la stérilisation (Benizri *et al.*, 1995). Elles sont rincées abondamment dans de l'eau distillée puis immergées pendant 15 minutes dans une solution d'hypochlorite de calcium (7% m/v). Les grains sont ensuite manipulés sous hotte à flux laminaire vertical pour prévenir toute contamination. Ils sont rincés 6 fois dans 200 mL d'eau distillée stérile. Chaque grain est ensuite placé dans une boîte de Pétri

contenant un milieu nutritif gélosé (Annexe 3). Les boîtes sont mises à incuber pendant 72 heures à 25°C pour permettre la germination tout en contrôlant la stérilité.

J.C.4 Conditions de développement

Les graines germées présentant une radicule de 3 cm environ et ne montrant aucune contamination sur la gélose sont sélectionnées pour la mise en culture. Sous la hotte à flux vertical, un grain est placé avec une pince stérile à l'intérieur du tube ou du cylindre central selon le dispositif utilisé. Du coton cardé stérile est ensuite ajouté à l'extrémité supérieure du tube ou du cylindre central, pour éviter les contaminations. Les dispositifs de culture sont ensuite transférés dans une chambre climatisée placée dans les conditions suivantes :

	tubes	pots
photopériode (h)	16	16
température (°C)	25	25 jour/20 nuit
Humidité relative (%)	80%	non contrôlée
PPFD ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	350	400

Les différences concernant l'éclairement photonique utile à la photosynthèse et l'humidité relative sont dues à l'utilisation de deux chambres climatisées distinctes. Les maïs cultivés pour étudier la cinétique de rhizodéposition pendant 24 heures (tubes du dispositif 1) sont disposés dans un phytotron ayant une température identique jour et nuit pour minimiser les variations de rhizodéposition dues à l'effet de la température sur l'activité de la plante pendant l'étude de la cinétique d'exsudation.

Les tubes et les pots de culture sont remplis avec de la solution nutritive d'Hoagland et Arnon modifiée (1950) sans carbone puisque le fer est apporté sous forme FeCl_3 et non pas sous forme de FeEDTA . Dans le cas des tubes en verre, la solution est renouvelée tous les 3 jours. Dans le cas des pots, la solution est apportée tout au long de la culture à l'aide d'une pompe péristaltique.

Lorsque les feuilles du maïs sont suffisamment développées pour toucher le coton situé à l'extrémité supérieure du tube ou du cylindre plastique, il est nécessaire de les libérer pour assurer leur développement tout en maintenant la stérilité des racines et de la solution nutritive. Pour cela, les dispositifs de culture sont transportés sous hotte, le bouchon de coton est retiré puis remplacé par des morceaux de coton stérile ajustés autour de la tige.

Un suivi du nombre total de feuilles visibles et du nombre de feuilles déployées est effectué sur l'ensemble des plantes tout au long de la culture. Une feuille est considérée comme déployée lorsque la ligule est visible (

Photo 1).



Photo 1 : Chez le maïs, la base de la feuille forme une gaine autour de la tige. La ligule est la mince languette de tissu qui dépasse au-dessus de la gaine.

Le nombre de plants utilisés dans les expériences, ainsi que leur nombre de feuilles visibles déployées ou non, sera spécifié au début de chaque partie concernée. Néanmoins, toutes les expériences sont réalisées sur des plants de maïs au stade végétatif. Le choix d'étudier particulièrement ce stade de croissance est dû à un taux de rhizodéposition plus important. En effet, la rhizodéposition est notoirement plus importante lors de la mise en place du système racinaire d'une part, et le maïs, qui n'a pas encore formé d'organes reproducteurs, alloue plus d'assimilats aux racines (les assimilats ne sont pas encore mobilisés pour la formation de réserves des graines).

.II Réduction de l'allocation d'assimilats aux racines

II..A Choix de la méthode

Plusieurs méthodes sont envisageables pour moduler la quantité d'assimilats photosynthétisés allouée aux racines. Elles s'appliquent sur :

- les sources, en modifiant la quantité de carbone assimilé, et donc la disponibilité en assimilats des parties aériennes (défoliation, variation de l'intensité lumineuse) ;
- le mécanisme de transport aux racines (froid appliqué sur la tige, brûlure des cellules constituant le phloème) ou ;
- l'ensemble de la plante (différents stades phénologiques).

Afin de ne pas perturber directement la physiologie des organes sources, nous avons choisi de modifier l'allocation de carbone aux racines en brûlant une partie du phloème de la tige ou en étudiant la répartition du carbone à différentes étapes du stade végétatif.

La destruction partielle des cellules du phloème au niveau de la tige est choisie car elle semble la moins perturbante pour réduire l'allocation carbonée aux racines à systèmes racinaires comparables (âge, morphologie). En effet, la défoliation induit une modification des équilibres sources-puits pour le carbone et l'azote. Les réserves de la plante sont remobilisées (Avice *et al.*, 1997) et la photosynthèse des feuilles restantes augmente (Anten et Ackerly, 2001), ce qui peut compenser le déficit en carbone de la défoliation. De plus, la défoliation peut modifier l'absorption des éléments minéraux par les racines, et perturber l'environnement rhizosphérique. .

II..B Mise au point de la destruction partielle des vaisseaux de phloème de la tige

Cette technique consiste à tuer partiellement les cellules qui constituent les vaisseaux de phloème en les brûlant. La brûlure peut être faite en appliquant un jet d'azote liquide, de la vapeur d'eau à 80-90 °C ou un instrument très chaud sur les tissus visés. Tous les tissus brûlés sont détruits.

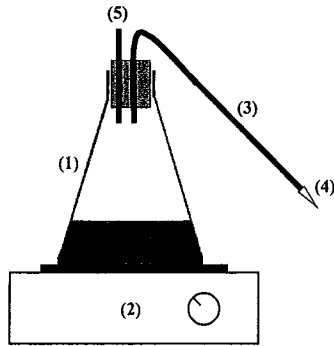


Figure 15 : Dispositif utilisé pour appliquer un jet de vapeur sur les tiges de maïs. Ce dispositif est constitué d'un erlen en verre contenant de l'eau distillée (1) posé sur une plaque chauffante (2). Lorsque l'eau bout, la vapeur est canalisée par un tuyau de silicone (3) et un embout de pipette (4) pour être appliquée sur la tige. Le diamètre de l'embout de sortie est d'1 mm. Une valve de sécurité (5) s'ouvre lorsque la pression est trop forte dans l'erlen.



Figure 16 : Point d'impact du jet de vapeur appliqué sur la tige des plants de maïs. Le point d'impact est indiqué par une flèche sur un schéma représentant les parties aériennes du maïs.

Néanmoins, comme le xylème est déjà constitué de cellules mortes, et que les feuilles continuent de transpirer, le transport du xylème n'est normalement pas affecté par la brûlure. Cette technique est régulièrement employée sur les arbres fruitiers dans le but de réduire l'allocation d'assimilats aux racines et de favoriser la croissance des fruits (Mataa *et al.*, 1998; Verreyne *et al.*, 2001). Elle a également été utilisée comme outil de recherche pour discriminer la respiration rhizosphérique de la respiration de la matière organique du sol (Högberg *et al.*, 2001; Högberg *et al.*, 2002).

Pour des facilités méthodologiques, nous travaillons avec un jet de vapeur. Le système utilisé est présenté par la Figure 15.

Des expériences préliminaires sont réalisées pour déterminer le temps d'application en fonction du pourcentage de tissus de la tige détruits. Les expériences sont réalisées sur du maïs âgé de 3 semaines (12 feuilles visibles), cultivé en sol dans les conditions précédemment décrites. Afin d'avoir de pouvoir reproduire le traitement de façon identique sur chaque plante, le jet de vapeur de 90°C est appliqué à 1 cm du sol, sur les gaines de la deuxième et de la troisième feuille (Figure 16). Différents temps sont testés, chacun sur un lot de 3 maïs : 0 ; 0,5 ; 1 ; 2 ; 3 ; 6 ; 9 et 12 minutes. Après 16 heures, la tige est prélevée.

Coupes fines à main levée

Des coupes à main levée sont réalisées à différents niveaux de la brûlure. Les coupes sont ensuite mises à incuber pendant 1 heures à 24°C dans 200 mL d'une solution de chlorure de tétrazolium (0,1% m/v) stérile. La coloration des cellules en violet indique une réduction enzymatique des tissus végétaux vivants du sel de tétrazolium en formazan insoluble (Smith, 1951). La vitalité des cellules est ensuite observée au microscope photonique.

Conséquence de la brûlure sur le prélèvement d'eau par les parties aériennes

Nous utilisons cette méthode pour altérer les vaisseaux de phloème, qui permettent le transport des assimilats aux racines. Afin de tester le bon approvisionnement en eau des parties aériennes, *via* les vaisseaux de xylème, les conséquences de la brûlure sur l'alimentation hydrique des feuilles sont étudiées.

Les maïs ont été cultivés en sol de la façon précédemment décrite. Après 21 jours de cultures, le maïs de 12 feuilles visibles (déployées ou non) est dépoté. Le système racinaire est séparé du sol avec précaution et rincé à l'eau. Les maïs sont ensuite transférés dans des cuves d'eau aérées par un bullage d'air comprimé. Le jet de vapeur est appliqué pendant 12 minutes pour tuer l'ensemble des cellules du phloème du segment de tige. Le lendemain, les racines sont mises à incuber pendant 2 heures dans une solution de bleu de méthylène (0,1% m/v). Des coupes à main levée sont réalisées sur la partie supérieure de la tige brûlée et au milieu de chaque feuille visible. Elles sont ensuite observées au microscope photonique. La présence de bleu de méthylène est évaluée dans chaque faisceau de xylème.

Le potentiel hydrique de chaque feuille est déterminé à la lumière. Il traduit l'état de liaison de l'eau à l'intérieur des tissus végétaux. Sa mesure s'opère dans une chambre de pression, où l'on introduit la feuille fraîchement coupée avec une des extrémités arrivant à l'air libre à travers un joint d'étanchéité. La valeur de la pression à exercer pour voir apparaître une gouttelette à la surface sectionnée de la feuille est ensuite observée.

La matière fraîche des feuilles est mesurée. La matière sèche des feuilles est pesée après un séchage de 48 heures à 80°C.

Etude de l'activité métabolique des racines des plantes brûlées en conditions stériles

Deux séries d'expériences sont mises en place pour étudier l'impact de la brûlure sur l'activité métabolique des racines.

1. Respiration racinaire

Une expérimentation est effectuée sur des plants de maïs cultivés en hydroponie stérile dans des pots remplis de billes de verre (Figure 14) pour étudier l'impact de la brûlure de la tige sur la respiration des racines.

Lorsque le maïs présente 12 feuilles visibles, l'atmosphère des racines est séparée de celle des parties aériennes. De la silicone liquide (RTV 585, Rhône Poulenc, France) est coulée sur le coton cardé qui entoure la tige dans le cylindre central en plastique. Après durcissement, une cartouche de chaux sodée est placée à l'entrée du système de bullage, puis le bullage est remis en place. L'étanchéité est testée en immergeant chaque dispositif dans l'eau.

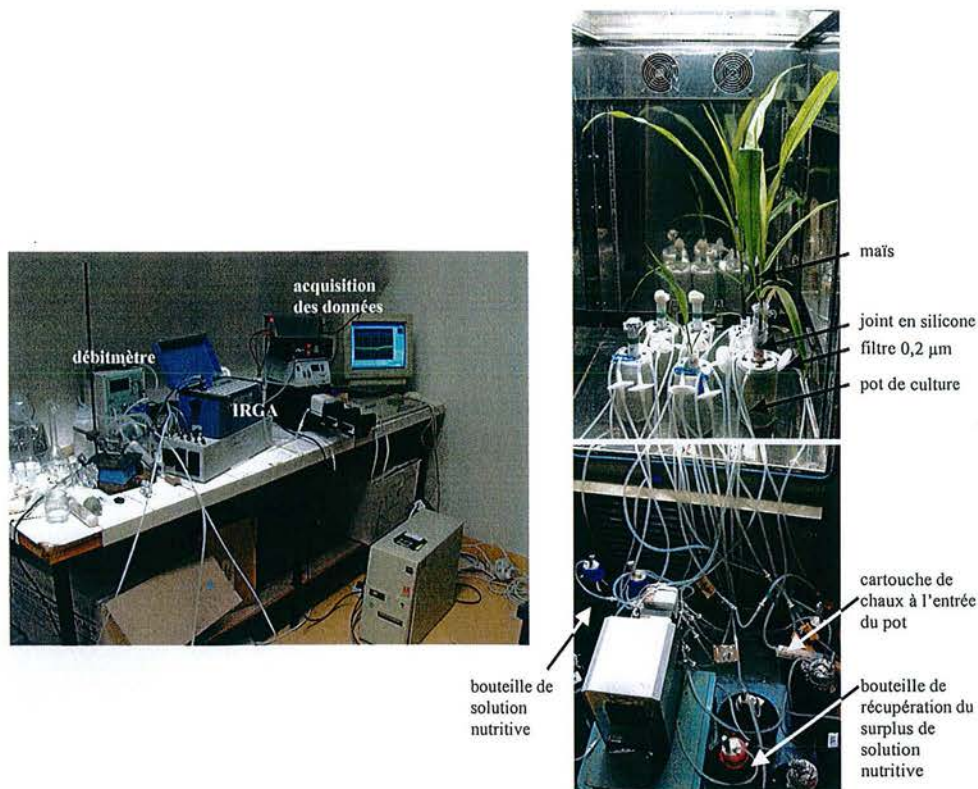


Photo 2 : Dispositif de mesure de la respiration racinaire. A gauche, le système utilisé pour mesurer la concentration en CO_2 et le débit d'air dans le pot de culture. A droite, le plant de maïs cultivé en conditions hydroponiques stériles, dont la tige est brûlée pendant 9 minutes.

Les tiges sont brûlées pendant 9 minutes à la limite du joint de silicone, à une hauteur de 3 cm du collet environ.

La concentration en CO₂ provenant de la respiration racinaire est mesurée toutes les minutes pendant 2 jours en couplant un analyseur de gaz à infrarouge (IRGA, Li-Cor LI-6200, Lincoln, USA), un débitmètre et un ordinateur (Photo 2).

2. Capacité d'oxydation des racines

Après les mesures de respiration, les racines sont récoltées sous la hotte à flux laminaire et en conditions stériles. Elles sont mises à incuber pendant 22 heures à 24°C dans 200 mL d'une solution de chlorure de tétrazolium (0,1% m/v) stérile. L'impact de la brûlure sur l'activité métabolique des racines est évalué visuellement : une racine est considérée comme étant métaboliquement active lorsqu'elle est violette (Dekker et Chandler, 1985) et métaboliquement morte lorsque aucune coloration ne s'est développée. La matière sèche des racines et des parties aériennes est mesurée après un séchage de 48 heures à 80°C.

.III Marquage ponctuel des parties aériennes au ¹⁴CO₂

III..A Séparation hermétique du compartiment souterrain

Les parties aériennes du maïs sont isolées hermétiquement des racines et de leur support (sol, billes et solution nutritive) en vue du marquage.

Pour les maïs cultivés en hydroponie stérile, l'étanchéité est assurée par de la silicone liquide comme il a été décrit précédemment.

Pour les maïs cultivés en sol, les deux couvercles sont vissés à chaque extrémité du tube de culture.

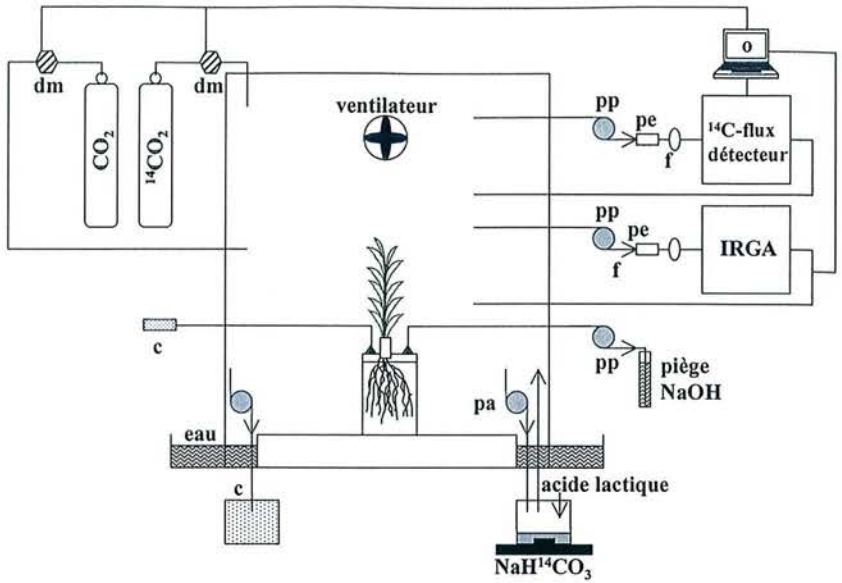


Figure 17 : Dispositif utilisé pour l'exposition ponctuelle des parties aériennes de 9 plants de maïs cultivés en sol à une atmosphère enrichie en $^{14}\text{CO}_2$. (c) chaux sodée, (dm) débitmètre massique, (f) filtre 0,2 μm , (o) ordinateur, (pa) pompe aquarium, (pe) piège à eau, (pp) pompe péristaltique.

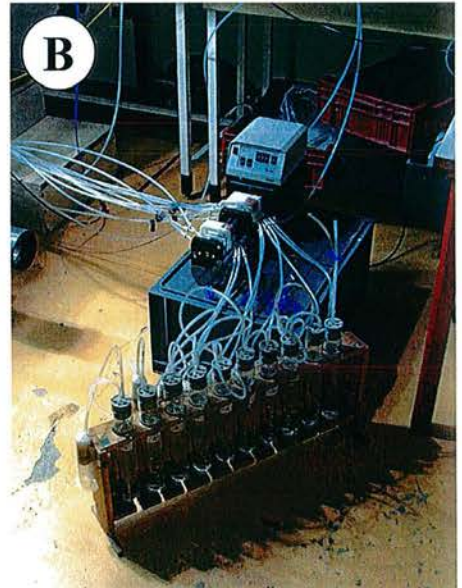
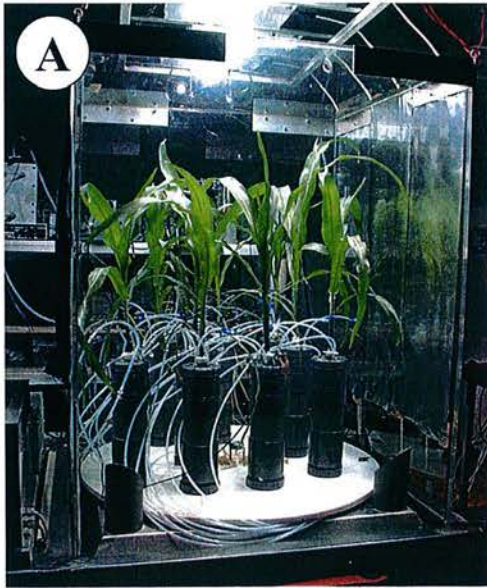


Photo 3 : Marquage de 9 plants de maïs dont la tige est brûlée pendant 0, 6, et 9 minutes. A gauche, les plants dans l'enceinte de marquage. A droite, les pièges à soude permettant de mesurer la respiration rhizosphérique.

L'étanchéité totale du dispositif est assurée par l'ajout de silicone liquide (RTV 585, Rhône Poulenc, France) coulée dans le tube en plastique entourant la tige. L'absence de fuite est contrôlée lorsque la silicone a durci : le compartiment souterrain est immergé dans l'eau et balayé par un flux d'air à une pression de 10^5 Pa.

Dans les deux cas, le compartiment souterrain est continuellement balayé par un flux d'air sans CO_2 ($100 \pm 10 \text{ mL min}^{-1}$) en utilisant deux orifices du couvercle supérieur du tube pendant le marquage et la chasse. Cette circulation d'air permet :

- d'aérer le compartiment souterrain et
- de collecter le CO_2 dégagé par la respiration du sol et des racines en faisant buller l'air en sortie de tube dans 200 mL de soude 1N (Warembourg et Billes, 1979; Todorovic *et al.*, 1999).

Un troisième orifice du couvercle est utilisé pour apporter quotidiennement la solution nutritive.

Les plants sont transférés la veille dans l'enceinte de marquage. Les enceintes en altuglass sont différentes pour les maïs cultivés en sol de ceux cultivés en hydroponie stérile :

- dans le cas des plants cultivés en sol, l'enceinte a un volume de 2500 litres. L'intérieur de la chambre est régulé en éclairage, en température et en hygrométrie avec des paramètres identiques aux valeurs précédemment décrites.
- dans le cas des plants cultivés en hydroponie stérile, l'enceinte est de 220 litres (80 cm x 55 cm x 50 cm ; épaisseur des parois : 4 mm). Elle-ci est placée dans un phytotron pour que la température soit régulée. Néanmoins, l'humidité relative de l'air n'est plus contrôlée.

Les deux enceintes sont disposées dans une rigole contenant de l'eau à $\text{pH}=5$. L'acidité de l'eau empêche la formation de carbonates radioactifs et assure un joint d'étanchéité qui isole l'atmosphère de l'enceinte.

Pour mesurer l'évolution de l'activité spécifique de l'atmosphère de la chambre, un analyseur de radioactivité β^- en flux continu (A500TR, Packard Instrument, Co. Inc., CT, USA) est couplé avec un analyseur de gaz à infrarouge (IRGA; ADC 225 MK3, Hoddesdon, United Kingdom) et deux ordinateurs (Photo 3 et Figure 17).

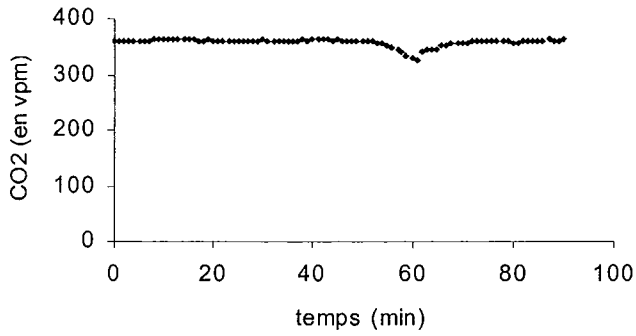


Figure 18 : Concentration en CO_2 de la chambre pendant le marquage des plants de maïs de 12 feuilles cultivés en sol en conditions contrôlées. Le marquage débute au temps $t=0$ min et se termine à $t=60$ min.

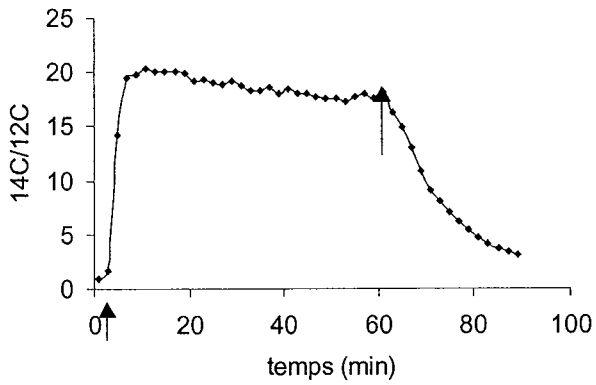


Figure 19 : Activité spécifique de la chambre pendant le marquage de 9 plants de maïs cultivés en sol en conditions contrôlées. Les flèches indiquent le début et la fin du marquage.

L'ensemble du système permet de réguler très finement à la fois l'activité ^{14}C et la concentration en CO_2 de la chambre de marquage. Pendant la phase d'acclimatation, le marquage et la chasse, la concentration en CO_2 est automatiquement régulée à $352 \pm 9 \mu\text{l L}^{-1}$ pour les plantes cultivées en sol, et à $358 \pm 6 \mu\text{l L}^{-1}$ pour les plantes cultivées en hydroponie stérile.

III..B Marquage ponctuel des parties aériennes

Le marquage dure 1 heure, le temps de chasse 48 heures. Pendant le marquage, l'activité spécifique de l'atmosphère en ^{14}C est régulée à $46,5 \pm 3,85 \text{ kBq mg}^{-1} \text{ C}$ en moyenne pour les plantes cultivées en sol, et à $54,3 \pm 4,3 \text{ kBq mg}^{-1} \text{ C}$ en moyenne pour les plantes cultivées en hydroponie stérile.

.III.B.1 Production du $^{14}\text{CO}_2$ dans l'enceinte de l'enceinte

Le dégagement de $^{14}\text{CO}_2$ est obtenu en ajoutant de l'acide lactique 1 M dans un flacon de 100 mL ("réacteur") contenant une solution de $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ (activité spécifique: $18,5 \text{ MBq.mL}^{-1}$). Le mélange est agité par un barreau aimanté tout au long du marquage.

Le flacon est continuellement balayé par de l'air prélevé dans l'enceinte de marquage à l'aide d'une pompe à aquarium d'un débit de 1 L min^{-1} . L'air enrichi en $^{14}\text{CO}_2$ retourne dans l'enceinte où il barbote dans de l'eau acidifiée. Cette opération permet de contrôler en permanence la circulation de l'air entre le "réacteur" et l'enceinte durant le marquage. L'activité spécifique du $^{14}\text{CO}_2$ dégagé au sein du réacteur est très élevée.

Par conséquent, l'introduction du $^{14}\text{CO}_2$ dans l'enceinte permet une augmentation rapide de l'activité spécifique dans la chambre de marquage, sans en modifier significativement la concentration en CO_2 totale (Figure 18 et Figure 19). Ces précautions sont prises afin de ne pas perturber la photosynthèse au moment du marquage.

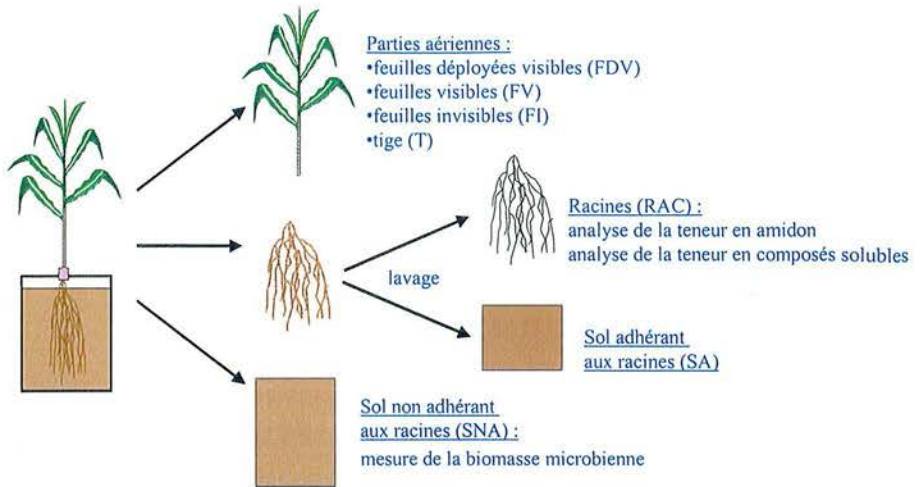


Figure 20 : Représentation schématique de la récolte d'un pot de maïs cultivé en sol. Le nom des différents compartiments analysés est noté entre parenthèses.

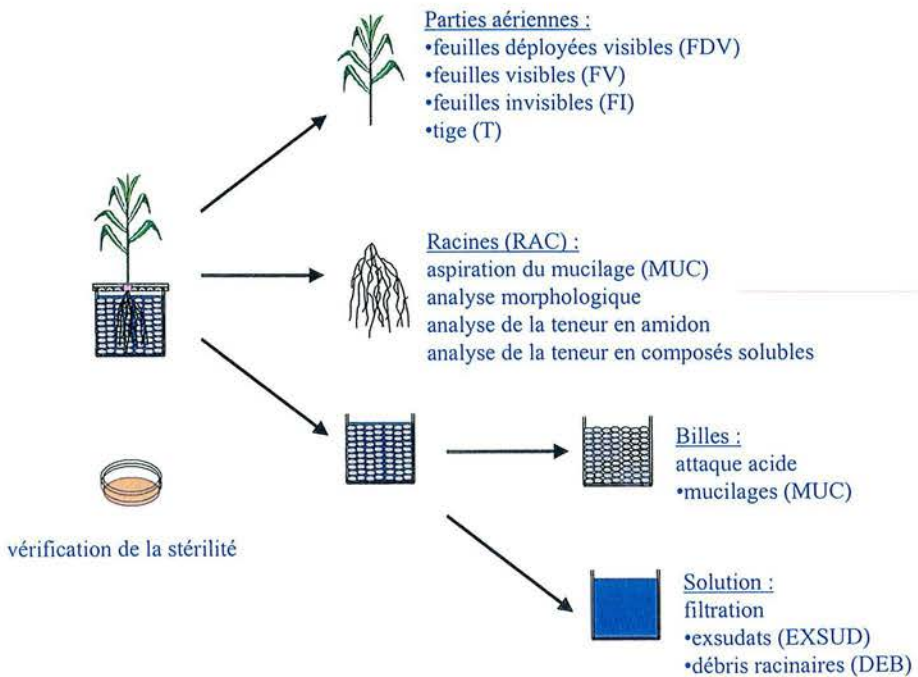


Figure 21 : Représentation schématique de la récolte d'un pot de maïs cultivé en hydroponie dans des conditions stériles. Le nom des différents compartiments analysés est noté entre parenthèses.

.III.B.2 Maintien de l'activité spécifique dans la chambre

Les plantes assimilent le CO_2 présent dans l'atmosphère de la chambre. Pour maintenir la concentration en CO_2 et l'activité spécifique de l'atmosphère, de l'air ayant les mêmes caractéristiques que l'atmosphère de la chambre est injecté pour compenser l'assimilation des plantes. Cet air a deux origines en fonction des plants marqués :

- une bouteille de $^{14}\text{CO}_2$ qui a la même activité spécifique que l'air de la chambre de marquage dans le cas des plants cultivés en sol.
- une pompe péristaltique, connectée au système informatique gérant l'ensemble des régulations dans l'enceinte, qui délivre une solution de carbonate de sodium d'activité spécifique identique à l'atmosphère de l'enceinte dans une solution d'acide lactique 1M en fonction de l'assimilation des plantes.

.III.B.3 Fin du marquage

A la fin du marquage, une pompe force l'air de l'enceinte à passer à travers un piège à CO_2 de chaux sodée. Parallèlement, une bouteille injecte du $^{12}\text{CO}_2$ pour maintenir la concentration en CO_2 constante. Ce procédé permet de faire chuter l'activité spécifique du ^{14}C de l'air sans variation de la concentration en CO_2 dans la chambre de marquage.

.IV Récolte après le marquage

L'ensemble de la récolte s'effectue 48 heures après le marquage, sous une hotte et avec des gants pour éviter tout contact direct avec les échantillons marqués et le $^{14}\text{CO}_2$ provenant de la respiration des plantes. Le temps de chasse est choisi en fonction de travaux antérieurs effectués au sein du laboratoire, de façon à ce que l'ensemble des assimilats soient répartis dans les différents compartiments plante/sol (Todorovic, 2000). Les différentes étapes des récoltes sont représentées par la Figure 20 et la Figure 21.

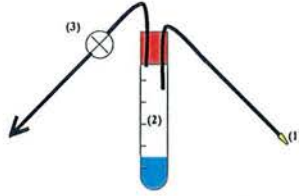


Figure 22 : Dispositif utilisé pour aspirer le mucilage adhérent aux apex racinaires. L'embout plastique (1) est appliqué sur les apex racinaires. Le mucilage est récolté dans un tube en PVC de 20 mL (2). L'aspiration dans le tube s'effectue à l'aide d'une pompe à vide (3).

IV..A Parties aériennes et racines

.IV.A.1 Parties aériennes

La plante est coupée au niveau du collet. Les parties aériennes sont divisées en plusieurs compartiments :

- les feuilles déployées visibles (FDV),
- les feuilles non déployées visibles (FV),
- les feuilles non déployées invisibles sans dissection (FI), et
- la tige (T).

Tous les échantillons sont immédiatement congelés dans de l'azote liquide et stockés à -30°C . Ils sont ensuite lyophilisés, pesés pour déterminer la masse sèche et broyés jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine. Le contenu en carbone et en ^{14}C est déterminé à partir d'une aliquote des poudres sèches.

.IV.A.2 Racines

Dans le cas des cultures stériles, les racines (RAC) sont facilement récoltées puisque la plante est cultivée en hydroponie. Elles sont ensuite disposées dans une cuve transparente remplie d'une solution de CaCl_2 0,5 M pour pouvoir les scanner. La solution de CaCl_2 est utilisée à la place de l'eau pour éviter tout choc osmotique qui fragiliserait les structures du système racinaire. Du fait de sa pression osmotique, elle limite aussi les efflux d'exsudats lors de l'analyse du système racinaire. Après avoir scanné l'ensemble des racines, celles-ci sont récupérées et stockées à -30°C . Elles sont ensuite lyophilisées, pesées et broyées jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine. Le contenu en carbone total et en ^{14}C est déterminé à partir d'une aliquote des poudres sèches.

Afin de récolter les mucilages qui adhèrent aux apex des racines, un système d'aspiration à faible pression est élaboré (Figure 22). Il est appliqué sur l'apex et la zone d'élongation des racines les plus volumineuses. Les racines de faible diamètre ne sont pas aspirées pour éviter de détruire les structures encore fragiles. Les mucilages sont centrifugés à 4000 g pendant 15 minutes. A l'issue de cette centrifugation, le surnageant contenant les

mucilages est récupéré. Les débris cellulaires constituent le culot. Leur teneur en carbone total et en ^{14}C est déterminée.

La morphologie des racines est analysée à l'aide du logiciel MacRHIZO®, mis à notre disposition par l'UMR d'Ecologie et d'Ecophysiologie Forestière de l'INRA de Champenoux. Ce logiciel analyse automatiquement l'image scannée. Il considère tout pixel ayant un niveau de gris supérieur à celui fixé au début de l'analyse comme étant une portion de racine. Il analyse ensuite la position des pixels entre eux pour définir la racine en entier et ses embranchements. Ainsi, on obtient la longueur, la surface et le volume total des racines. Le nombre total d'extrémités racinaires, ainsi que d'embranchements est également déterminé. De plus, le logiciel évalue le diamètre de chaque portion de racine. Cette évaluation est indiquée par l'apparition d'un squelette de couleur sur l'image analysée (Photo 4).

Une couleur indique une classe de diamètre dans laquelle la partie de la racine a été classifiée. On peut donc obtenir la longueur, la surface et le volume des racines dont le diamètre est compris dans différentes classes préalablement définies par l'utilisateur.

La vérification de la calibration de l'appareil a été effectuée en scannant différentes longueurs de fils métalliques de diamètres variés et connus.

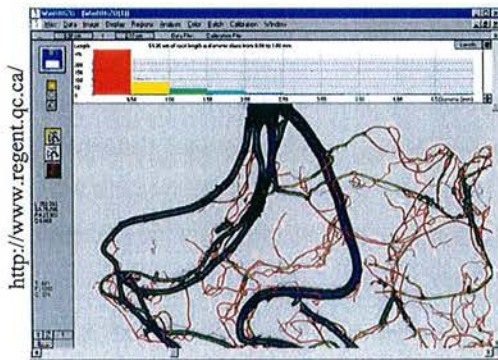


Photo 4 : Résultat graphique d'une analyse de racines par le logiciel MacRHIZO®.

IV..B Extraction de la fraction de carbone soluble et de l'amidon contenus dans les feuilles et les racines

Deux protocoles sont utilisés. Le premier est appliqué sur les échantillons végétaux dont la biomasse est supérieure à 100 mg, c'est-à-dire sur les échantillons des plantes cultivées en sol (Annexe 4) (Todorovic, 2000).

Dans le cas des plantes cultivées en hydroponie, la biomasse des racines est faible. L'extraction de la fraction de carbone soluble et de l'amidon se fait sur un échantillon de 20 mg environ (Annexe 5) (Castelan-Estrada, 2001).

Dans tous les cas, les protocoles d'extraction se décomposent en deux étapes successives :

- l'extraction à l'éthanol de la fraction de carbone soluble, principalement constituée de sucres,
- l'extraction de l'amidon qui est ensuite hydrolysé en glucose et dosé à l'aide d'un kit enzymatique (kit amidon Boehringer®, commercialisé par Roche Diagnostic, réf. 207 748) (Annexe 6).

IV..C Analyse du sol

.IV.C.1 Protocoles de récolte du sol adhérent et du sol non adhérent

Les protocoles utilisés pour obtenir du sol adhérent (SA) et du sol non adhérent (SNA) aux racines sont ceux définis par Todorovic (2000). Le système racinaire est délicatement secoué 10 fois pour enlever le sol faiblement adhérent aux racines. Il est mélangé avec le reste du sol et constitue le compartiment SNA.

Le sol rhizosphérique (SA), fortement adhérent, est récupéré en lavant le système racinaire avec 200 mL d'une solution de K_2SO_4 0,5 M.

Lors de la récolte, un tri méticuleux est effectué pour éliminer le maximum de fragments de racines dans chaque fraction de sol. Les racines sont stockées à $-30^{\circ}C$ et analysées de la même façon que les autres échantillons végétaux.

Le sol est conservé à 4°C pour préserver la microflore tellurique et mesurer la biomasse microbienne.

.IV.C.2 Mesure de la biomasse microbienne

La biomasse microbienne est déterminée par la méthode de fumigation-extraction (Annexe 7). Cette méthode est utilisée pour estimer la teneur en carbone microbien d'un sol (Vance *et al.*, 1987; Chaussod *et al.*, 1988). Pour cela, les micro-organismes du sol sont tués par des vapeurs de chloroforme (fumigation). Les cellules mortes sont détruites et libèrent leurs contenus en carbone soluble dans le sol. Ainsi, en extrayant le carbone soluble d'un échantillon de sol témoin et d'un échantillon de sol fumigé (extraction), on peut estimer la quantité de carbone libérée par la microflore d'un sol.

Avant cette analyse, les échantillons de sol subissent une pré-extraction du carbone soluble. Cette étape est effectuée pour éliminer la part de carbone soluble d'origine non microbienne ainsi que les fragments de racines invisibles à l'œil nu, mais dont les membranes seraient également détruites par le chloroforme.

La teneur en carbone total de la biomasse microbienne C_{BM} est déterminée par la formule suivante :

$$C_{BM} = \frac{C_{sol\text{fumigé}} - C_{sol\text{non fumigé}}}{K_{EC}}$$

où :

- C_{sol} est la quantité de carbone soluble extraite par la solution de K_2SO_4 0,5 M, exprimée en $\mu\text{g C g}^{-1}$ sol.

- K_{EC} correspond à la fraction du carbone total microbien, libérée par la fumigation et extraite par la solution de K_2SO_4 . Une valeur de 0,45 est prise pour l'ensemble des calculs (Wu *et al.*, 1990; Marchand *et al.*, 2002).

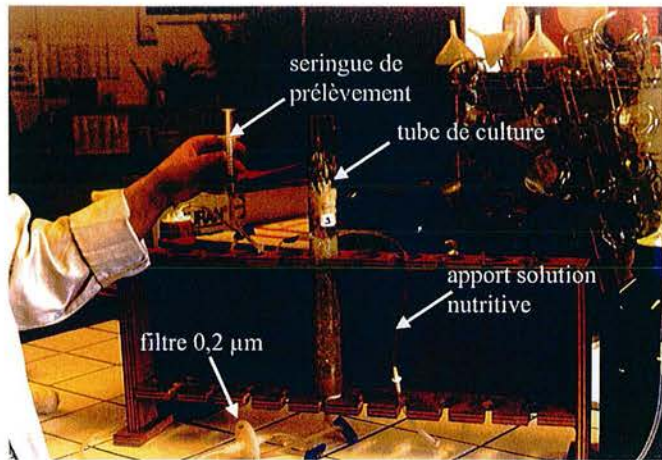


Photo 5 : Prélèvement d'une aliquote de solution nutritive lors de l'étude de la cinétique d'exsudation. Les maïs de 4 ou 6 feuilles sont cultivés dans des tubes remplis de billes de verre. Le système racinaire est maintenu stérile tout au long de la culture. Les aliquotes de solution nutritive sont prélevées 0, 8, 16 et 24 heures après la vidange du tube, à l'aide d'une seringue stérile.

IV..D Billes et solution nutritive

La solution nutritive contenue dans le pot de culture est récupérée. Son volume est mesuré, puis elle est filtrée sous vide sur une membrane de porosité 0,45 μm . Cette filtration permet d'éliminer les cellules desquamées.

Une fraction des mucilages adhère aux billes. Pour la récupérer, les billes sont placées dans de l'eau déminéralisée stérile à 80°C pendant 24 heures. Les composés résiduels adhérant aux billes de verre sont extraits par une attaque d'acide sulfurique 3N à 80°C pendant 24 heures (Groleau-Renaud, 1998).

.V Cinétique d'exsudation du maïs en conditions stériles

Les plants sont cultivés en conditions hydroponiques stériles dans les tubes en verre décrit précédemment (Figure 13). Lorsque les parties aériennes atteignent le stade de récolte, soit 4 feuilles ou 6 feuilles visibles, elles sont maintenues à l'obscurité pour éviter toute transpiration capable de faire significativement varier le volume de solution nutritive.

La solution nutritive du tube est totalement renouvelée. Une aliquote de 2 mL de la solution nutritive est prélevée sur chaque tube de façon stérile. Une nouvelle seringue stérile est placée à l'extrémité du tuyau (Photo 5) pour les prélèvements suivants qui ont lieu 8, 16 et 24 heures après le renouvellement de la solution nutritive.

Les aliquotes sont conservées à -30°C, après avoir étalé sous hotte 50 μL de cette solution sur un milieu nutritif gélosé pour vérifier la stérilité des racines après 48 heures. Après le dernier prélèvement effectué en conditions stériles, la solution nutritive du tube de culture est récupérée dans des flacons en plastique (Nalgene).

La récolte s'effectue suivant les mêmes étapes que celles des pots (Figure 21).

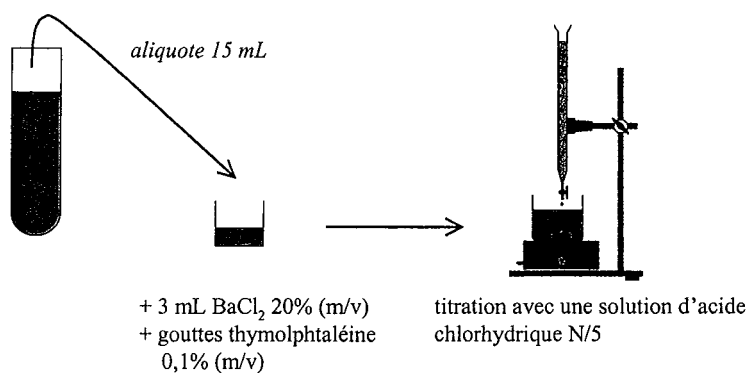


Figure 23 : Protocole de dosage du carbone total piégé dans la solution de NaOH 1M des pièges à soude.

.VI Analyses du ^{14}C et du C total des échantillons

VI..A Analyses du C total

.VI.A.1 Poudre des échantillons végétaux et de sol :

La teneur en C total est dosée en chromatographie en phase gazeuse par un autoanalyseur carbone/azote (Na 1500 Nitrogen/Carbon/Sulphur analyser, Carlo Erba). Une aliquote de poudre végétale (5 ± 2 mg) ou de sol (20 ± 5 mg) est pesée exactement dans une nacelle en étain. La nacelle subit une combustion à 1030°C sous un flux d'oxygène et d'hélium (débits de 220 mL min^{-1} et 120 mL min^{-1} , respectivement). Le flux d'hélium, gaz vecteur, transporte le CO_2 , les oxydes d'azote et l'eau et traverse une colonne de cuivre à 650°C qui fixe l'oxygène en excès et réduit les oxydes d'azote. Une colonne de perchlorate de magnésium, placée en série, permet de piéger les molécules d'eau. Finalement, une colonne de chromatographie en phase gazeuse sépare les gaz N_2 et CO_2 , qui sont détectés par un catharomètre.

La teneur en carbone de l'échantillon est calculée à partir d'une calibration de l'appareil réalisée au préalable avec un étalon d'atropine. Cette molécule présente un rapport C/N voisin de celui du matériel végétal.

.VI.A.2 Solutions :

En ce qui concerne les pièges à soude, le carbone respiré par le compartiment souterrain a été dosé de façon indirecte par titration (Figure 23) jusqu'à l'acquisition récente d'un analyseur de carbone en solution par le laboratoire.

Actuellement, l'appareil disponible au laboratoire est un Shimadzu modèle 500A. Selon le mode de fonctionnement choisi, on peut analyser le carbone total, le carbone organique ou le carbone inorganique. Le principe de fonctionnement de l'appareil consiste en une combustion à 680°C effectuée en présence d'un catalyseur qui optimise la réaction d'oxydation de la matière organique en gaz carbonique. La combustion à cette température offre l'avantage de pouvoir analyser des échantillons ayant des matrices complexes, comme les solutions chargées en sels. Un détecteur à infrarouge est employé pour mesurer le gaz carbonique produit par l'oxydation de l'échantillon. Combiné avec un catalyseur de

combustion à grande capacité, ce détecteur permet une limite de détection de l'ordre de 10 ppb de carbone total.

Le volume de certains échantillons, comme celui des aliquotes prélevées au cours de la cinétique d'exsudation, sont trop faibles pour effectuer un dosage direct de la solution. Les échantillons sont donc dilués au 10^{ème} pour avoir un volume suffisant pour effectuer les analyses.

VI..B Analyses du ¹⁴C

.VI.B.1 Echantillons végétaux :

Après avoir brûlé la matière organique, la radioactivité des organes végétaux est dosée par comptage en scintillation. Cette technique consiste à relier un détecteur de radioactivité β^- en flux continu (A500TR, Packard Instrument, Co. Inc., CT, USA) à la sortie d'un autoanalyseur C/N (Benoit *et al.*, 1994).

La combustion d'un échantillon marqué produit un pic de ¹⁴CO₂ enregistré par le détecteur sous la forme de pic dont l'aire est calculée. L'activité ¹⁴C des échantillons est déterminée d'après une gamme étalon effectuée avec des échantillons marqués dont l'activité ¹⁴C est connue.

Le couplage en ligne de l'analyseur C/N et du compteur en flux continu permet la mesure simultanée du carbone total et du ¹⁴C. Cependant, elle ne peut s'appliquer que lorsque la radioactivité des échantillons introduits dans l'appareil est supérieure à 1000 dpm. En effet, étant donné la faible quantité de poudre brûlée (quelques milligrammes) et le faible rendement du détecteur couplé à l'analyseur (environ 40 %) (Todorovic, 2000), une quantité de radioactivité inférieure n'est pas mesurable avec suffisamment de précision.

.VI.B.2 Echantillons de sol :

Le principe de cette analyse est d'oxyder la matière organique et de piéger le CO₂ issu de la combustion dans une solution dont la radioactivité est ensuite dosée en scintillation liquide.

Environ trois grammes de sol sec sont pesés exactement dans une nacelle en porcelaine. Cette nacelle est ensuite introduite dans un tube en porcelaine placé dans un four à 900°C sous flux continu d'oxygène à un débit de 350 mL min⁻¹. L'échantillon subit une combustion pendant 10 minutes. A la sortie du four, le ¹⁴CO₂ est piégé en bullant dans 2 colonnes de verre reliées en série, contenant chacune 15 mL d'un mélange d'éther monoéthylique de l'éthylène glycol et d'éthanolamine (80/20 v/v). Des billes de verre de 4 mm de diamètre permettent d'augmenter la surface de contact entre le CO₂ et la solution piège.

La radioactivité est comptée pendant 10 min en scintillation liquide à partir de 10 mL du mélange piégeant de chacune des colonnes auxquels sont ajoutés 10 mL de liquide scintillant (Emusifier Scintillator Plus).

Le rendement de combustion et de piégeage de cette méthode est déterminé en dosant la radioactivité retrouvée de 100 µL d'une solution de ¹⁴C-glucose (AS = 17,8 kBq mL⁻¹) déposés sur un sol non radioactif. Le rendement de l'analyse est de 82 ± 5 %.

.VI.B.3 Solutions :

L'activité ¹⁴C des solutions est dosée pendant 10 min en scintillation liquide à partir de 1 mL de chaque solution auquel est ajouté 10 mL de liquide scintillant (Ultima Gold).

Le ¹⁴C émet un rayonnement qui excite des molécules de solvant organique¹. Le solvant émet de la lumière mais dont la longueur d'onde est trop courte pour être bien détectée. On provoque l'absorption de cette lumière émise par un soluté (scintillant) qui réémet de la lumière à une autre longueur d'onde captée par des photomultiplicateurs. Ceux-ci transforment les photons en impulsion électrique qu'ils amplifient. Les impulsions sont ensuite acquises par un ordinateur équipé d'un logiciel de gestion.

¹ Pour avoir un ordre de grandeur: 1 particule β⁻ provenant de ¹⁴C, contenant une énergie approximative de 50 keV, fournira environ 500 photons de fluorescence. Compte tenu du rendement du scintillant (10 à 20%), ceci donnera environ 50 électrons à la cathode du photomultiplicateur, soit, après une amplification de 10⁶, un nombre d'électrons de 5.10⁷ soit 8.10⁻¹² cb (1e⁻ = 1,6.10⁻¹⁹ Cb) ce qui peut être transformé en impulsion électrique d'environ 0,1-0,2 V.

VI..C Expression des résultats concernant la radioactivité des compartiments

La quantité de radioactivité totale retrouvée dans le système plante/sol correspond à la somme du ^{14}C qui est retrouvée dans chacun des compartiments analysés. Elle représente la quantité de ^{14}C assimilée pendant le marquage à laquelle est soustraite la quantité de ^{14}C respirée par les parties aériennes de la plante pendant la période de chasse et les défauts de bilan.

Pour un compartiment donné, l'activité du ^{14}C est exprimée de différentes façons :

.VI.C.1 $^{14}\text{C}_i$ (kBq)

C'est la quantité de radioactivité retrouvée dans un compartiment i donné. Cette variable exprime la quantité nette d'assimilats récemment formés qui est allouée au compartiment. En d'autres termes, elle rend compte de la quantité d'assimilats attribuée au compartiment pendant le temps de chasse, donc de la force de puits de ce compartiment (Todorovic, 2000).

.VI.C.2 % RTR_i

C'est le pourcentage de Radioactivité Totale Retrouvée dans le système plante/sol. Il rend compte de la distribution relative du ^{14}C dans le compartiment étudié. Le coefficient de répartition du ^{14}C traduit la capacité d'un compartiment à mobiliser les assimilats par rapport aux autres compartiments. Cette variable est donc comparable à la force de puits relative de ce compartiment, donc au produit de la taille et de l'activité métabolique du compartiment.

$$\% \text{RTR}_i = \frac{{}^{14}\text{C} \text{ retrouvé dans le compartiment } i \text{ (en Bq)}}{{}^{14}\text{C} \text{ total retrouvé dans le système plante - sol (en Bq)}} \times 100$$

.VII Traitement des données

L'analyse statistique des données obtenues dans le cadre de ces travaux s'appuie sur des analyses de variances ($\alpha=0,05$) en randomisation totale, effectuées avec le logiciel Statbox (Grimmersoft, France) ou SAS version 8.02 (SAS Institute Inc., USA). Les moyennes sont classées sur la base d'un test de Tukey. Une même lettre indique que les moyennes ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 %.

Les matrices de corrélations et les analyses en composantes principales sont effectuées avec le logiciel SAS ou ADE4 (Thioulouse *et al.*, 1997).

Influence de l'allocation des assimilats aux racines sur la rhizodéposition carbonée

Les racines libèrent un large éventail de composés organiques dans le sol (Neumann et Römheld, 2001) : les exsudats hydrosolubles, le mucilage, les cellules desquamées et les tissus morts de racine (Hogh-Jensen et Schjoerring, 2001). Dans la rhizosphère, cette libération de composés organiques des racines influe sur la croissance, le développement et l'activité des populations microbiennes impliquées dans les processus principaux du sol tels que la dynamique de la matière organique (Bottner *et al.*, 1999; Rochette *et al.*, 1999; Nardi *et al.*, 2000; Molina *et al.*, 2001) et le cycle des éléments nutritifs (Jones et Edwards, 1998; Van der Krift *et al.*, 2001). En conséquence, il est essentiel d'étudier les facteurs régissant la rhizodéposition carbonée pour comprendre les processus rhizosphérique et de ce fait, le fonctionnement des sols.

De nombreuses études ont démontré que la quantité de rhizodépôts libérés dans le sol est affectée par des facteurs multiples, tels que l'intensité de la lumière (Hodge *et al.*, 1997), la température (Whipps, 1990), la défoliation ou le statut nutritif des plantes (Paterson et Sim, 1999; Van der Krift *et al.*, 2001; Warembourg et Estelrich, 2001). Toutefois, ces études indirectes ne permettent pas de déterminer dans quelles mesures les flux de carbone vers la rhizosphère sont dirigés par des variables relatives au transport des assimilats carbonés jusqu'aux racines, comme la taille des racines et/ou des feuilles, la respiration racinaire, la disponibilité en éléments minéraux ou la présence de micro-organismes, en fonction des différentes hypothèses de répartition entre les parties aériennes et les racines (cf. paragraphe Erreur ! Source du renvoi introuvable.3). Or, comme nous l'avons vu dans la synthèse bibliographique, ces variables peuvent être déterminantes.

En effet, une relation directe entre l'approvisionnement en substrat carboné des racines et la rhizodéposition peut être suggérée (Kuz'yakov et Cheng, 2001). Quel type de relation existe-t-il ? Existe-t-il des mécanismes de régulation de la rhizodéposition ?

Pour répondre à ces questions, la technique de destruction partielle des cellules de phloème a été sélectionnée afin de réduire l'apport d'assimilats carbonés aux racines, sans modifier directement l'assimilation des parties aériennes. Cette technique permet de modifier

le transport de la sève élaborée vers les racines en jugulant certains vaisseaux de phloème (Walsh *et al.*, 1987; Prioul, 1996). Ainsi, cette réduction d'allocation carbonée aux racines diminuerait la concentration en sucres solubles des cellules racinaires et par conséquent l'activité métabolique des racines, ce qui permettrait d'observer s'il existe une corrélation entre la quantité de composés solubles des racines et la rhizodéposition.

Cette technique est généralement utilisée en routine sur des arbres fruitiers pour améliorer la production de fruits. Plus récemment, elle a été employée pour séparer la respiration rhizosphérique de la respiration globale d'une forêt (Högberg *et al.*, 2001; Högberg *et al.*, 2002).

Cette technique de destruction partielle des cellules de phloème nécessite cependant d'être mise au point sur les tiges de maïs pour :

1. déterminer le temps d'application du jet de vapeur pour contrôler la profondeur de la brûlure, et
2. étudier son impact sur l'activité métabolique du système racinaire.

En effet, il faut vérifier que la réduction d'allocation de composés carbonés induit une diminution générale de l'activité métabolique des racines.

Nous avons réalisé des expériences préliminaires consistant à vérifier que le transport de la sève brute vers les parties aériennes n'est pas modifié par la destruction partielle des cellules du phloème.

Tableau 2 : Pourcentage de tissus nécrosés en fonction du temps d'application du jet de vapeur sur la tige de maïs de 12 feuilles visibles cultivés en sol. Ce pourcentage rend compte de la profondeur de la brûlure par rapport au diamètre initial de la tige. L'écart-type est indiqué entre parenthèses.

temps d'application (min)	diamètre de la tige (mm)	profondeur de tige nécrosée (mm)	pourcentage de nécrose
0 (n=3)	8,7 (1,15)	0,0 (0,00)	00,0 (0,00)
0,5 (n=3)	8,7 (1,53)	0,0 (0,00)	00,0 (0,00)
1 (n=3)	8,3 (0,58)	0,0 (0,00)	00,0 (0,00)
2 (n=3)	8,3 (1,53)	0,5 (0,50)	05,4 (5,05)
3 (n=3)	8,7 (0,58)	1,7 (0,58)	19,4 (7,35)
6 (n=3)	8,0 (1,00)	3,3 (0,58)	41,6 (3,64)
9 (n=3)	8,0 (1,00)	6,3 (0,58)	79,5 (5,56)
12 (n=3)	8,7 (1,15)	8,7 (1,15)	100,0 (0,00)

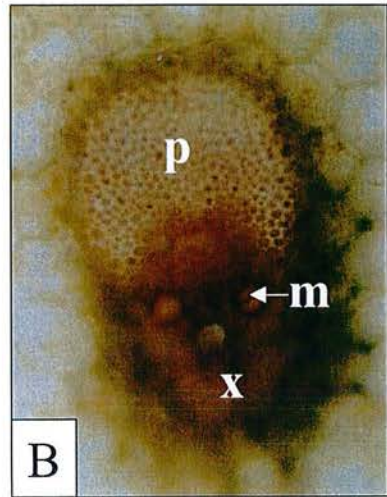
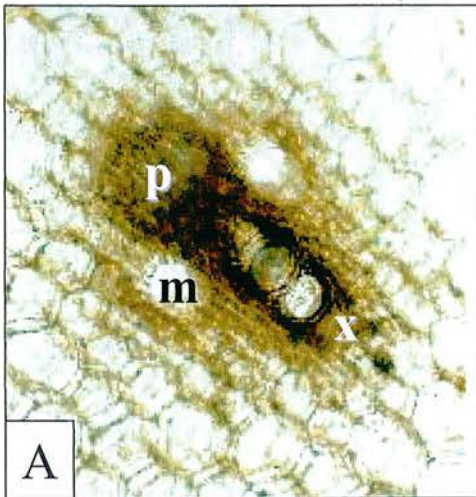


Photo 6 : Coupe transversale de tige brûlée par un jet de vapeur pendant 1 minute (A) ou non (B). La couleur rose indique la vitalité des cellules du phloème. **x** : xylème, **m** : métaxylème, **p** : phloème. Les vaisseaux de la photo A sont observés au voisinage du point d'impact du jet de vapeur.

I Mise au point de la destruction partielle des cellules du phloème sur une tige de maïs et étude de ses conséquences sur la plante

Pour réduire l'allocation des assimilats aux racines, nous avons dû mettre au point la technique de destruction partielle des cellules du phloème pour brûler une portion de tige. Différents temps d'application du jet de vapeur ont été testés. Des expériences complémentaires ont été effectuées pour déterminer l'impact de ce traitement sur la respiration racinaire, sur l'activité métabolique des racines et sur le transport de la sève brute des plants brûlés.

I..A Temps d'application du jet de vapeur

Quel que soit le temps d'application, l'impact externe du jet de vapeur est localisé sur une portion d'un cm^2 environ.

Plus le temps d'application est long, et plus les tissus sont touchés en profondeur (Tableau 2). A partir de 2 minutes, les tissus nécrosés sont visibles à l'œil nu. Lorsque la tige est brûlée pendant 12 minutes, l'ensemble des tissus est nécrosé. Il est nécessaire dans ce cas de mettre en place des attelles au niveau de la tige pour soutenir les parties aériennes et les maintenir en place.

Les écarts-types obtenus sont élevés. Ils sont dus d'une part à une hétérogénéité du diamètre des tiges et d'autre part à la technique de destruction partielle des cellules du phloème. En effet, à un stade de 12 feuilles visibles, le diamètre des tiges à 3 cm du sol n'est pas identique entre chaque plante. Comme l'application du jet de vapeur se fait sur une portion de 1 cm^2 , la variation est d'autant plus importante. Ainsi, le diamètre moyen d'une tige sectionnée au niveau de la brûlure est de 8,4 mm avec un écart-type de 0,97 mm ($n=24$).

Les coupes réalisées à main levée montrent que les tissus proches du point d'application du jet de vapeur ne réduisent plus le tétrazolium dès une minute d'application (Photo 6).

En conclusion, nous retenons les temps d'application de 6 et 9 minutes pour brûler 40% et 80% de la tige, respectivement, de façon à réduire significativement l'apport d'assimilats aux racines. Les connexions éventuelles entre les vaisseaux phloémiens n'ont pas pu être observés. Pour rechercher s'il existe de telles connexions, une expérience complémentaire est nécessaire. Elle permettra d'observer si la baisse d'allocation d'assimilats aux racines se fait de façon homogène sur la totalité des racines ou de façon sectorielle, avec un chemin préférentiel d'allocation.

I..B Impact de la destruction partielle des cellules du phloème sur l'activité métabolique du système racinaire

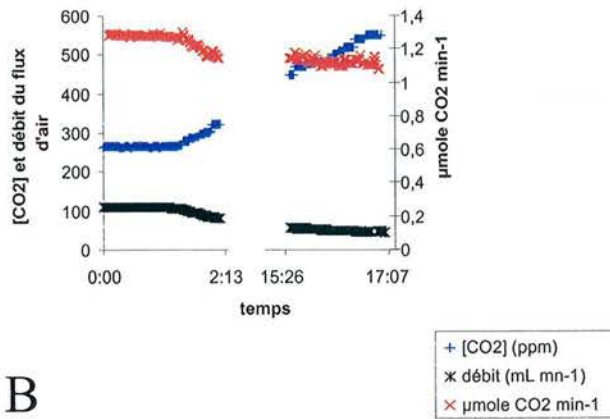
Si de nombreuses connexions existent entre les vaisseaux de phloème, l'apport d'assimilats carbonés aux racines peut ne pas être modifié. En effet, le flux d'assimilats peut être dans ce cas réorienté dans d'autres vaisseaux et globalement compensé pour l'ensemble du système racinaire. A l'inverse, s'il n'existe aucune connexion, les assimilats peuvent être dirigés par des vaisseaux de phloème non brûlés vers quelques racines seulement, les autres étant totalement privées de source nutritive carbonée. Cette allocation hétérogène se traduirait vraisemblablement par une rhizodéposition différente entre les racines fournies ou non en assimilats. Dans ce cas, les conséquences ne seraient pas directement observables puisqu'il est impossible de récolter le sol racine par racine. Il est donc essentiel d'examiner si la destruction partielle des cellules de phloème réduit de façon globale l'apport d'assimilats carbonés aux racines.

Pour cela, nous avons observé l'activité métabolique des racines. Nous posons l'hypothèse que cette activité dépend de la fourniture en assimilats des parties aériennes, puisque les racines disposent de faibles réserves. Ainsi, nous comparons la respiration racinaire et la capacité à réduire les sels de tétrazolum des racines d'un plant de maïs témoin et d'un plant dont la tige a été brûlée pendant 9 minutes. Ces expériences sont réalisées en conditions stériles pour pouvoir s'affranchir de la respiration microbienne et de la réduction des sels de tétrazolum par les micro-organismes au contact des racines.

Tableau 3 : Biomasses de parties aériennes et des racines des plants de maïs de 12 feuilles cultivés en conditions hydroponiques stériles, dont la tige est brûlée pendant 9 minutes ou non (témoin). Les plants sont récoltés 48 heures après l'application du jet de vapeur. L'écart-type est indiqué entre parenthèse ($n=6$).

	Témoin ($n=3$)	Brûlés ($n=3$)
Parties aériennes (g C)	3,08 (0,21)	3,32 (0,42)
Racines (g C)	0,64 (0,15)	0,70 (0,22)

A



B

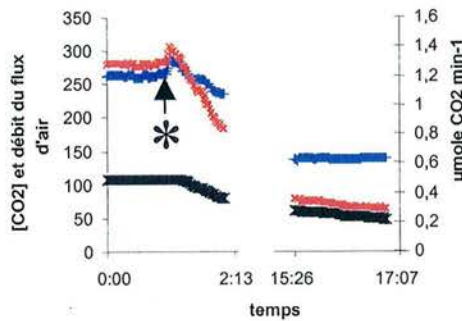


Figure 24 : Evolution de la concentration en CO₂ et du débit d'air balayant la solution nutritive des plants de maïs cultivés en conditions hydroponiques stériles. La respiration racinaire de plants témoins (A) et brûlés pendant 9 minutes (B), calculée à partir des données précédentes, est présentée en rouge. Le moment où est appliqué le jet de vapeur sur la tige est indiqué par un astérisque.

.I.B.1 Biomasses végétales

Les plants de maïs sont cultivés en conditions contrôlées. Lorsqu'ils présentent 12 feuilles, la moitié des plants sont soumis au traitement : un jet de vapeur est appliqué pendant 9 minutes sur une portion de tige, de façon à brûler environ 80% des tissus de cette dernière. Quarante-huit heures après, les plants sont récoltés. Le Tableau 3 montre les biomasses des parties aériennes et des racines, exprimées en gramme de carbone. Aucune différence significative n'est observée entre les différents traitements.

.I.B.2 Respiration racinaire

La Figure 24 montre l'évolution de la respiration des racines, exprimée en $\mu\text{mole CO}_2 \text{ min}^{-1}$, de 1 heure avant l'application du jet de vapeur jusqu'à 16 heures après.

Dans tous les cas, le débit du flux d'air qui balaye le pot de culture décroît régulièrement au cours du temps. Cette diminution est probablement due à un problème au niveau de la pompe qui devient de moins en moins efficace pour forcer l'air filtré à passer dans l'ensemble du système. Cette baisse de débit s'accompagne chez les plants témoins d'une hausse de la concentration en CO_2 de l'air dans le système. Finalement, la respiration des racines des témoins est légèrement en baisse, passant de $1,27 \mu\text{mole min}^{-1}$ à $1,08 \mu\text{mole min}^{-1}$.

En ce qui concerne les plants dont la tige est brûlée, la concentration en CO_2 diminue de 127 ppm en 16 heures. La respiration, initialement de $1,28 \mu\text{mole min}^{-1}$, a une valeur de $0,27 \mu\text{mole min}^{-1}$ 16 heures après avoir brûlé les tissus de la tige. Par conséquent, 16 heures après l'application du jet de vapeur, la respiration racinaire des plants brûlés est significativement plus faible que celle des plants témoins ($\alpha=5\%$). L'activité métabolique des racines diminue significativement lorsque la tige du maïs est brûlée, ce qui est cohérent avec une réduction de la disponibilité en carbone dans les racines, conséquence d'une diminution de l'apport d'assimilats des parties aériennes vers les racines.

I.B.3 Activité réductrice des sels de tétrazolium des racines

Cette activité est observée suite à une incubation du système racinaire de plants brûlés ou non dans une solution de tétrazolium. Lorsque les cellules sont actives, une réduction des sels de tétrazolium en formazan violet s'effectue. La vitalité du système racinaire est donc directement observable. Cette expérience est réalisée dans le but d'observer si la réduction de l'apport en assimilats des parties aériennes est globale ou au contraire localisée pour l'ensemble du système racinaire.

L'intensité de la coloration des racines des plants dont la tige a été brûlée est plus faible que celle des plants témoins. Aucune portion de racines ne semble avoir une activité plus faible que le reste du système racinaire. Ces résultats sont en accord avec ceux de (McCully et Canny, 1985). Ces deux auteurs ont marqué ponctuellement une feuille de maïs au $^{14}\text{CO}_2$ et suivi le transport des assimilats aux racines. Ils ont montré que les assimilats se répartissent de façon homogène dans l'ensemble des racines.

En conclusion, la technique de destruction partielle des cellules du phloème réduit l'activité métabolique des racines : la respiration du système racinaire est plus faible, ainsi que la capacité de réduction du tétrazolium. Cette réduction est répartie sur l'ensemble des racines. Aucune privation locale d'assimilats n'a été mise en évidence. Aussi, d'après la définition de (Warren-Wilson, 1972), la force de puits des racines, égale au produit de la taille et de l'activité des racines, est-elle artificiellement réduite puisque la taille du système racinaire n'est pas modifiée.

Une expérience complémentaire est réalisée pour observer si la destruction partielle des cellules du phloème a une influence sur le transport de la sève brute *via* les vaisseaux de xylème.

I..C Impact de la destruction partielle des cellules du phloème sur le prélèvement d'eau des parties aériennes

La technique de destruction partielle des cellules du phloème est adoptée pour réduire la quantité d'assimilats allouée aux racines sans modifier de façon directe la physiologie des parties aériennes. Aussi, cette expérience est-elle réalisée pour vérifier que le transport de l'eau vers les feuilles n'est pas modifié par la brûlure des tissus de la tige.

Tableau 4 : Biomasses des parties aériennes et des racines des plants de maïs de 12 feuilles cultivés en sol, dont la tige a été brûlée pendant 0 (témoin) ou 12 minutes. Les plants sont récoltés 26 heures après l'application du jet de vapeur ($n=6$).

	témoin	12 min
Parties aériennes (g C)	3,71 (0,69)	4,10 (0,27)
Racines (g C)	0,76 (0,13)	0,60 (0,17)

Tableau 5 : Humidité et potentiel hydrique des feuilles de maïs dont la tige est brûlée pendant 0 (témoin) ou 12 minutes. Les maïs, de 12 feuilles visibles, sont cultivés en sol.

	témoin	12 min
Humidité (%)	86,8 (0,66)	86,3 (0,45)
Potentiel hydrique (MPa)	1,05 (0,006)	1,04 (0,012)

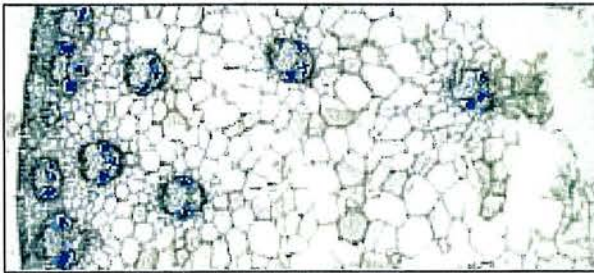


Photo 7 : Coupe de tige de maïs effectuée à main levée environ 1 cm au-dessus du site d'impact du jet de vapeur. Le maïs utilisé présente 12 feuilles visibles. Il est cultivé en sol. La tige est brûlée pendant 12 minutes, puis les racines sont immergées dans une solution de bleu de méthylène. La présence de bleu de méthylène dans les vaisseaux de xylème indique que le transport de la sève brute n'est pas modifié par la destruction partielle des cellules du phloème.

Afin de déterminer si les feuilles des plants brûlés présentent un stress hydrique, nous mesurons le potentiel hydrique foliaire. Ce potentiel traduit l'état de liaison de l'eau à l'intérieur des tissus végétaux.

.I.C.1 Biomasses végétales

Concernant la biomasse des parties aériennes et des racines, aucune différence significative n'est observée entre les plants dont la portion de tige est totalement brûlée et les plants témoins (Tableau 4).

.I.C.2 Humidité et potentiel hydrique foliaire

Le Tableau 5 représente l'humidité et le potentiel hydrique des feuilles de maïs brûlés pendant 12 minutes ou non. Aucune différence significative n'est mise en évidence entre les différents traitements.

Ce résultat est confirmé par l'expérience qui consiste à observer le transport de l'eau colorée au bleu de méthylène des racines jusqu'aux parties aériennes. En effet, la présence du bleu de méthylène est observée dans l'ensemble des faisceaux de xylème de la tige et des feuilles quel que soit le temps d'application du jet de vapeur (Photo 7).

I..D Conclusion

Les tests préliminaires effectués montrent que la respiration racinaire diminue, et que la capacité des racines à réduire les sels de tétrazolium en formazan est réduite. Nous pouvons donc supposer que l'activité des racines est réduite suite à une réduction de l'allocation de carbone des parties aériennes aux racines. De plus, les tests montrent que cette technique n'affecte pas le transport de la sève brute *via* les vaisseaux de xylème. La technique de destruction partielle des cellules du phloème est donc appropriée pour étudier l'impact d'une réduction du flux de carbone vers les racines sur la rhizodéposition.

Tableau 6 : Biomasses des parties aériennes (FDV+FV+FI+T) et des racines (RAC) des plants, et pourcentage d'amidon retrouvé dans le système racinaire (mg/ g C racines) de maïs de 12 feuilles cultivés en sol et dont la tige est brûlée pendant 0, 6 et 9 minutes. Les résultats des comparaisons de moyennes sont présentés par les lettres (ns = non significatif). Les écarts-types sont présentés en italique. D1 et D2 représentent les deux dates où l'expérience est réalisée.

	D1			D2		
	témoin (n=3)	6 min (n=3)	9 min (n=3)	témoin (n=3)	6 min (n=3)	9 min (n=3)
Biomasses						
Parties aériennes (MF)	18,1 ns <i>0,43</i>	21,3 ns <i>1,63</i>	20,0 ns <i>1,47</i>	15,8 ns <i>0,92</i>	17,7 ns <i>1,05</i>	18,8 ns <i>1,68</i>
Parties aériennes (g C)	3,54 ns <i>0,59</i>	4,48 ns <i>1,04</i>	3,91 ns <i>0,07</i>	2,80 ns <i>0,20</i>	3,37 ns <i>0,32</i>	3,72 ns <i>0,68</i>
Racines (g C)	0,76 ns <i>0,13</i>	0,51 ns <i>0,15</i>	0,60 ns <i>0,07</i>	0,75 ns <i>0,15</i>	0,97 ns <i>0,45</i>	0,79 ns <i>0,41</i>
Amidon des racines						
Amidon (mg /g C racines)	0,04 ns <i>0,012</i>	0,04 ns <i>0,025</i>	0,03 ns <i>0,019</i>	0,05 ns <i>0,021</i>	0,04 ns <i>0,025</i>	0,03 ns <i>0,020</i>

Tableau 7 : Résultats de l'analyse de variance à deux facteurs (destruction partielle des cellules du phloème et date de la répétition de l'expérience) effectuée sur les données de biomasses de parties aériennes exprimées en gramme de carbone.

	DL	SC	MC	Valeur F	Pr>F
Date de l'expérience	1	0.00043722	0.00043722	0.10	0.7548
Traitement	2	0.00720023	0.00360011	1.36	0.2932
Interaction	2	0.01772653	0.00886327	2.07	0.1688

Tableau 8 : Résultats de l'analyse de variance à deux facteurs (destruction partielle des cellules du phloème et date de la répétition de l'expérience) effectuée sur les données de biomasses des racines exprimées en gramme de carbone.

	DL	SC	MC	Valeur F	Pr>F
Date de l'expérience	1	0.00248058	0.00248058	0.15	0.7059
Traitement	2	0.03655886	0.01827943	0.77	0.4851
Interaction	2	0.03265311	0.01632656	0.98	0.4023

.II Conséquences d'une réduction d'allocation d'assimilats aux racines sur la rhizodéposition en sol.

II..A Introduction

Après avoir mis au point la destruction partielle des cellules du phloème sur les tiges de maïs, cette technique a été employée sur des tiges de maïs pendant 0, 6 ou 9 minutes pour réduire l'apport d'assimilats aux racines. Les parties aériennes sont ensuite brièvement marquées au $^{14}\text{CO}_2$. La répartition du carbone marqué est étudiée dans le système plante/sol 48 heures après le marquage pour déterminer s'il existe une corrélation entre la rhizodéposition et l'allocation de carbone au système racinaire. Cette expérience est réalisée deux fois, à 5 mois d'intervalle, afin d'obtenir 18 jeux de données.

II..B Résultats

.II.B.1 Biomasses des organes végétaux et teneur en amidon des racines

Les biomasses des parties aériennes et des racines de plants de maïs de 12 feuilles, cultivés en sol, dont la tige est brûlée pendant 0, 6 ou 9 minutes, sont présentées dans le Tableau 6.

Les analyses de variance, effectuées à partir de ces données, sont présentées dans le Tableau 7 et le Tableau 8. L'expérience est réalisée deux fois à 5 mois d'intervalle (date 1 et date 2). Par conséquent, les effets de deux facteurs sont analysés : l'effet « date », qui correspond à la date de l'expérience, et l'effet du « traitement » proprement dit, à savoir la destruction partielle des vaisseaux du phloème.

Les biomasses de parties aériennes et des racines ne sont pas différentes en fonction de la date de l'expérience. De plus, aucune différence significative n'est observée entre les plants brûlés et les plants témoins. De façon similaire, aucune différence significative n'est observée pour la teneur en amidon des racines, qui représente en moyenne 0,04 % de la biomasse racinaire exprimée en gramme de carbone (Tableau 6).

Tableau 9 : Activité totale retrouvée (kBq) et pourcentage du ^{14}C retrouvé dans les différents compartiments plante/sol (% RTR). Les écarts-types sont présentés en italique. Les résultats des comparaisons de moyennes sont présentés par les lettres (ns = non significatif). D1 et D2 représentent les deux dates auxquelles l'expérience est réalisée.

	D1			D2		
	Témoin (n=3)	6 min (n=3)	9 min (n=3)	Témoin (n=3)	6 min (n=3)	9 min (n=3)
KBq totaux retrouvés	1838 a <i>163,2</i>	2466 a <i>707,7</i>	2434 a <i>540,6</i>	1854 a <i>355,4</i>	1838 a <i>392,3</i>	1760 a <i>120,6</i>
Répartition du ^{14}C (%RTR)						
Feuilles déployées (FDV)	32,1 a <i>6,10</i>	35,6 a <i>2,38</i>	32,7 a <i>2,96</i>	20,5 b <i>7,54</i>	15,7 b <i>5,10</i>	13,7 b <i>1,26</i>
Feuilles non déployées (FV)	14,6 c <i>1,50</i>	15,0 c <i>6,33</i>	16,3 c <i>4,84</i>	45,4 b <i>9,97</i>	51,7 b <i>3,09</i>	59,1 a <i>2,66</i>
Feuilles invisibles (FI)	3,9 a <i>0,61</i>	5,7 ab <i>2,08</i>	4,6 ab <i>0,54</i>	5,0 ab <i>1,95</i>	5,2 ab <i>0,14</i>	6,3 b <i>1,22</i>
Total feuilles	50,5 b <i>7,77</i>	56,3 b <i>5,71</i>	54,1 b <i>5,26</i>	71,0 a <i>4,63</i>	72,6 a <i>5,98</i>	79,1 a <i>4,46</i>
Tige	9,8 a <i>1,85</i>	9,8 a <i>0,97</i>	12,5 a <i>1,83</i>	3,6 b <i>1,87</i>	5,7 b <i>1,27</i>	3,9 b <i>1,12</i>
Total parties aériennes	60,3 c <i>6,65</i>	66,1 c <i>5,68</i>	67,1 bc <i>3,70</i>	74,6 ab <i>2,79</i>	78,3 ab <i>6,55</i>	83,0 a <i>3,78</i>
Racines	16,1 a <i>2,80</i>	14,4 a <i>3,62</i>	14,1 a <i>4,68</i>	11,5 ab <i>2,95</i>	6,6 bc <i>2,68</i>	3,5 c <i>1,30</i>
Composés solubles des racines	0,5 a <i>0,12</i>	0,5 a <i>0,21</i>	0,4 a <i>0,17</i>	0,6 ab <i>0,12</i>	0,5 bc <i>0,29</i>	0,2 c <i>0,10</i>
Sol adhérent	0,7 a <i>0,14</i>	0,5 ab <i>0,11</i>	0,5 ab <i>0,04</i>	0,4 bc <i>0,17</i>	0,3 bc <i>0,16</i>	0,2 c <i>0,09</i>
Sol non adhérent	7,4 a <i>0,81</i>	7,7 a <i>0,89</i>	6,7 ab <i>0,83</i>	6,3 ab <i>1,48</i>	5,4 bc <i>0,55</i>	4,1 c <i>0,91</i>
Respiration rhizosphérique	15,4 a <i>3,17</i>	11,2 ab <i>2,11</i>	13,9 a <i>2,49</i>	7,2 b <i>1,67</i>	9,4 b <i>3,48</i>	9,2 b <i>1,84</i>
Biomasse microbienne	3,0 bc <i>2,16</i>	2,23 bc <i>1,94</i>	1,42 c <i>1,17</i>	5,6 ab <i>0,18</i>	8,5 a <i>1,24</i>	5,14 ab <i>3,35</i>

Tableau 10 : Résultats de l'analyse de variance à deux facteurs (destruction partielle des cellules du phloème et date de l'expérience) effectuée sur l'ensemble des données de répartition du ^{14}C (% RTR) dans le système plante/sol.

	Date	Traitement	Interaction
KBq totaux retrouvés	0,323	0,281	0,544
Répartition du ^{14}C (%RTR)			
Feuilles déployées	<0,001	0,518	0,284
Feuilles non déployées	<0,001	0,089	0,211
Feuilles invisibles	0,247	0,367	0,401
Total feuilles	<0,001	0,274	0,484
Tige	<0,001	0,267	0,075
Total parties aériennes	<0,001	0,083	0,840
Racines	<0,001	0,051	0,302
Composés solubles des racines	<0,001	0,075	0,345
Sol adhérent	<0,001	0,058	0,356
Sol non adhérent	<0,001	0,057	0,412
Respiration rhizosphérique	0,002	0,667	0,132
Biomasse microbienne	<0,001	0,337	0,141

.II.B.2 Bilan carboné

Les données relatives au bilan carboné des plants de maïs présentant 12 feuilles dont la tige est brûlée pendant 0, 6 et 9 minutes sont présentées dans le Tableau 9. Les résultats de l'ANOVA sont présentés dans le Tableau 10.

La radioactivité totale retrouvée après 48 heures dans le système plante/sol, exprimée en kBq par pot, ne diffère pas significativement entre les plants dont la tige a été brûlée et les témoins (Tableau 10).

Néanmoins, la répartition du carbone marqué dans les différents compartiments montre une différence significative entre la première et la deuxième répétition de l'expérience (date 1 et date 2). Le lot de plantes utilisé à la date 1 montrent une répartition du ^{14}C plus importante dans les feuilles déployées que les plantes du lot utilisé à la date 2. Inversement, la répartition du carbone radioactif dans les feuilles non déployées est plus faible chez le premier lot de plante que chez le deuxième. De plus, les plants utilisés lors de la première expérience allouent proportionnellement plus de ^{14}C aux parties racinaires et au sol adhérent et non adhérent. La respiration rhizosphérique est aussi plus importante (13,5 % contre 8,6 % RTR dans la deuxième répétition de l'expérience). Ces résultats sont surprenants, puisque l'ensemble des conditions expérimentales de la première expérience est reproduit à la date 2. Néanmoins, comme il n'existe aucune interaction entre cet effet « date » et l'effet de la destruction partielle des cellules du phloème (Tableau 10), seul ce dernier sera discuté par la suite.

L'ensemble du bilan ^{14}C ne montre aucune différence significative ($\alpha=5\%$) entre la répartition du ^{14}C dans le système plante/sol des plants témoins et celle des plants dont la tige a été brûlée. Toutefois, certaines tendances peuvent être observées lorsque l'on choisit un risque de première espèce $\alpha=10\%$. Dans le paragraphe suivant, nous discuterons essentiellement des valeurs entre les plants témoins et les plants brûlés pendant 9 minutes. En effet, l'impact du jet de vapeur appliqué pendant 6 minutes est intermédiaire et fortement variable : les écarts-types calculés sont en général plus importants que pour les plants témoins ou les plants dont la tige est brûlée pendant 9 minutes. Cette fluctuation est probablement due à une réponse variable des plants lorsque la tige est modérément brûlée, contrairement aux plants dont la tige est fortement brûlée (80% des tissus en moyenne).

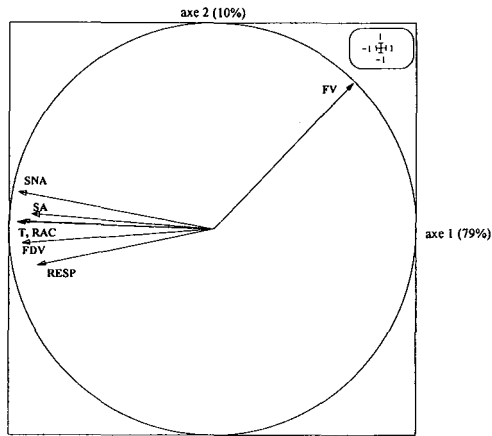


Figure 25 : Cercle des corrélations présentant la corrélation entre l'activité retrouvée dans les feuilles déployées (FDV), non déployées (FV), la tige (T), les racines (RAC), la respiration rhizosphérique (RESP) et le sol (SA et SNA).

Tableau 11 : Matrice des coefficients de corrélations (r^2). Toutes les corrélations représentées sont significatives ($\alpha=5\%$). FDV : feuilles déployées, FV : feuilles non déployées, T : tige, RAC : racines, RESP : respiration rhizosphérique, SA : sol adhérent, SNA : sol non adhérent, CS : compartiment souterrain.

	FDV	FV	T	RAC	SA	SNA	RESP
FDV	1	0,534	0,762	0,748	0,587	0,794	0,511
FV	0,534	1	0,387	0,425	0,304	0,311	0,436
T	0,762	0,387	1	0,729	0,618	0,729	0,654
RAC	0,748	0,425	0,729	1	0,778	0,922	0,613
SA	0,587	0,304	0,618	0,778	1	0,702	0,598
SNA	0,794	0,311	0,729	0,922	0,702	1	0,806
RESP	0,511	0,436	0,654	0,613	0,598	0,806	1
CS	0,763	0,464	0,768	0,960	0,739	0,910	0,772

La destruction partielle des vaisseaux de phloème réduit l'exportation des assimilats carbonés récemment assimilés aux compartiments souterrains : 25 % RTR pour les plantes dont la tige a été brûlée pendant 9 minutes contre 32,5 % pour les plants témoins. De même, le pourcentage de TRR dans les racines est inférieur chez les plants fortement brûlés : 9 % contre 14 % chez les plants témoins ($p=0,05$). Le pourcentage de RTR dans les composés solubles extraits à partir des racines semble également diminuer (0,3 % contre 0,5 % chez les plants témoins, $p=0,08$).

Parallèlement, le pourcentage de ^{14}C retrouvé dans le sol adhérent et le sol non adhérent diminue lorsque les plants sont brûlés pendant 9 minutes (0,5 % RTR contre 0,4 % RTR, et 7 % RTR contre 5 % RTR, respectivement). Toutefois, aucune différence significative n'est mise en évidence entre les différents traitements en ce qui concerne la respiration rhizosphérique (11-12 % RTR) et la biomasse microbienne.

D'une façon générale, les écarts-types des données obtenues sont importants. Afin de mieux exploiter les résultats obtenus, nous analysons les corrélations entre les différentes variables étudiées.

Corrélations entre les différentes variables étudiées et l'activité des rhizodépôts carbonés retrouvés dans le sol

Pour analyser les éventuelles corrélations entre les variables étudiées lors de cette expérience et la rhizodéposition carbonée, nous réalisons une analyse en composantes principales sur l'ensemble des données exprimées en kBq. Seuls les coefficients de corrélation significatifs sont présentés.

Cette analyse montre que les quantités de carbone marqué retrouvé dans la tige, les racines, la respiration rhizosphérique et le sol sont positivement corrélées à la quantité de ^{14}C des feuilles déployées (Figure 25 et Tableau 11). Cette corrélation est négative avec la quantité de carbone marqué retrouvé dans les feuilles visibles sans ligule.

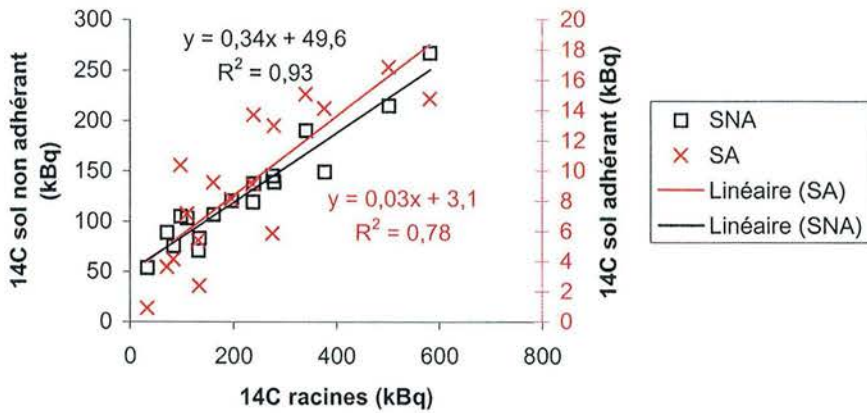


Figure 26: Quantité de rhizodépôts marqués retrouvés dans le sol adhérent (SA) ou non (SNA) en fonction de la quantité de ^{14}C retrouvée dans les racines. Les points incluent l'ensemble des données obtenues lors de la première et de la deuxième répétition de l'expérience, auquel est retranché un point correspondant à un résidu suspect lors de l'analyse statistique. Dans les deux cas, l'ordonnée à l'origine est significative ($\alpha=5\%$).

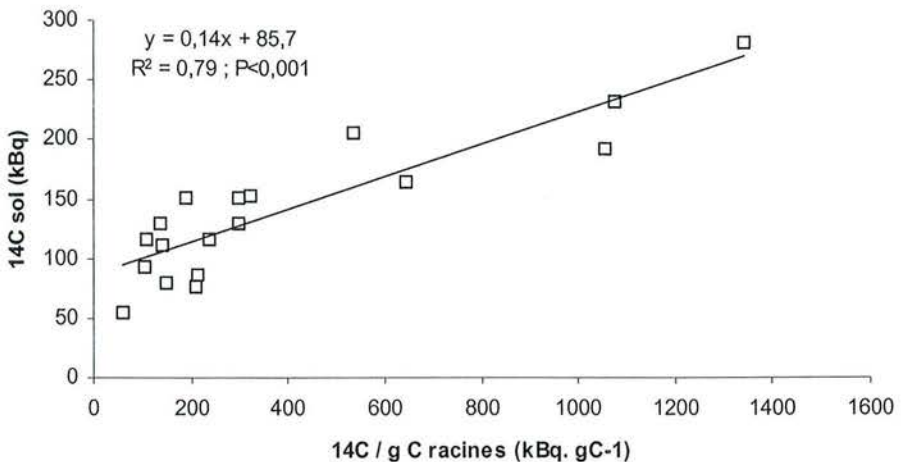


Figure 27 : Corrélation entre la quantité de résidus marqués retrouvés dans le sol (SA+SNA) 48 heures après le marquage (kBq) et la quantité de composés carbonés radioactifs attribuée par gramme de racine (kBq.g $^{-1}$ C). Les points incluent l'ensemble des données obtenues lors de la première et de la deuxième répétition de l'expérience. L'ordonnée à l'origine est significative ($\alpha=5\%$).

Une corrélation linéaire existe entre la quantité de ^{14}C retrouvée dans les racines et celle retrouvée dans le sol adhérent ($r^2=0,78$ et $P<0,001$) et non adhérent ($r^2=0,93$ et $P<0,001$). Plus les assimilats sont alloués aux structures racinaires, et plus la quantité de rhizodépôts retrouvés dans le sol après 48 heures est élevée (Figure 26).

De même, une corrélation significative existe entre :

- la quantité de carbone marqué allouée à un gramme de racine et la quantité de résidus marqués retrouvés dans le sol (Figure 27), et
- la quantité de ^{14}C attribuée au compartiment souterrain et celle retrouvée sous forme de rhizodépôts retrouvés dans le sol 48 heures après le marquage (Figure 28).

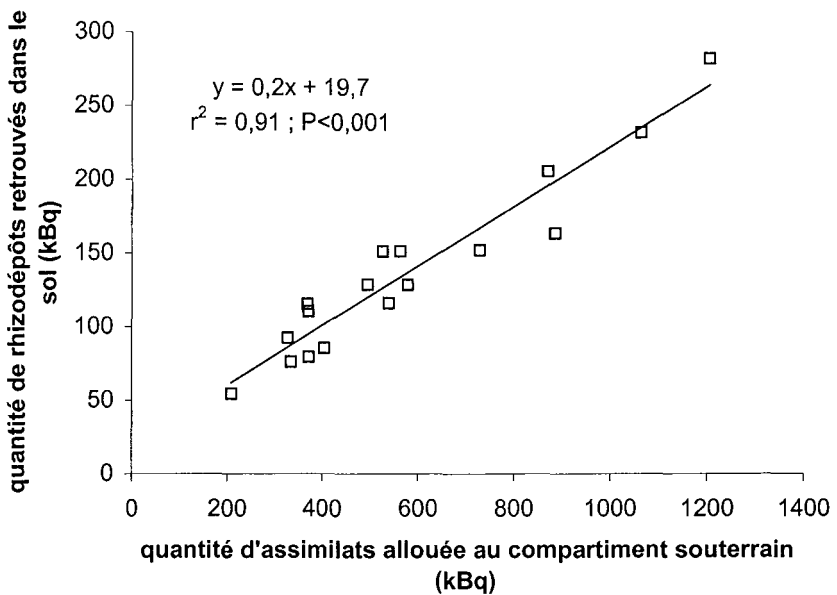


Figure 28 : Corrélation entre la quantité de résidus marqués retrouvés dans le sol (SA+SNA) 48 heures après le marquage et la quantité de composés carbonés radioactifs attribuée au compartiment souterrain (RAC+SA+SNA+RESP). Les points incluent l'ensemble des données obtenues lors de la première et de la deuxième répétition de l'expérience. L'ordonnée à l'origine est significative ($\alpha=5\%$).

II..C Discussion

Cette expérience est réalisée pour examiner les conséquences d'une réduction d'allocation de composés carbonés aux racines sur la rhizodéposition *in situ*, et ainsi pour identifier si les variables relatives à la répartition des assimilats récemment assimilés sont corrélées à la rhizodéposition.

La technique de destruction partielle des cellules du phloème employée ici n'a eu aucun effet visible sur les organes sources que sont les parties aériennes. En effet, la biomasse des plantes utilisées, ainsi que la radioactivité retrouvée dans les microcosmes ne diffèrent pas entre les traitements. Ces résultats suggèrent que l'assimilation de carbone et la croissance des plants dont la tige est brûlée ne sont pas affectées par la destruction partielle des cellules du phloème dans les délais de l'expérience.

La répartition du carbone marqué dans les différents compartiments est significativement différente entre la première et la deuxième expérience. Par exemple, la proportion de rhizodépôts marqués dans le sol est plus forte dans la première expérience que dans la seconde. Ces résultats suggèrent donc une allocation des assimilats différente en fonction du lot de plantes utilisé (date 1 ou date 2). Ce résultat n'est pas expliqué, attendu que les conditions expérimentales sont identiques.

La technique de destruction partielle des cellules de phloème réduit l'approvisionnement des racines en assimilats marqués ($p=0,08$). En effet, les plants témoins allouent 32,5 % du carbone récemment assimilé aux racines, contre 27,5 % chez les plants brûlés pendant 6 minutes et 25,0 % chez les plants brûlés pendant 9 minutes. De même, la quantité de carbone incorporé dans les structures racinaires 48 heures après le marquage est plus faible chez les plants dont la tige est brûlée : 8,8 % et 10,5 % lorsque la tige est brûlée 9 et 6 minutes, respectivement, contre 14 % chez les plants témoins. De même, la quantité de composés solubles marqués présente dans les racines diminue lorsque la fourniture en assimilats marqués des racines est moindre ($p=0,08$). Ce résultat conforte l'hypothèse d'une acquisition de carbone par les racines essentiellement déterminée par l'influx de carbone des parties aériennes, *i.e.* l'hypothèse "push" (Farrar et Jones, 2000). Toutefois, les hypothèses d'un contrôle partagé (« shared control hypothesis ») ou d'équilibre fonctionnel, qui postulent

que l'acquisition de carbone pour la croissance des racines est déterminée à la fois par les parties aériennes et par les racines, ne sont pas écartées. En effet, la diminution de la quantité de composés solubles racinaire se fait conjointement avec la diminution l'activité métabolique et de la croissance des racines.

Parallèlement à la baisse de l'approvisionnement en assimilats carbonés des racines, le pourcentage de ^{14}C retrouvé sous forme de résidus dans le sol adhérent et non adhérent diminue (sol adhérent : 0,4 % RTR contre 0,5 % RTR pour les plants témoins ; et sol non adhérent : 5 % RTR contre 7 % RTR pour les plants témoins, respectivement). La rhizodéposition est donc réduite par la limitation en assimilats alloués au compartiment souterrain ($p=0,06$).

Toutefois, la respiration rhizosphérique, c'est-à-dire la respiration des racines et des micro-organismes du sol, qu'elle soit exprimée en quantité (kBq) ou en pourcentage (% RTR), est identique entre les deux traitements. Ce résultat peut être dû à une puissance de test faible de l'analyse de variance (6 % et 8 % pour un risque α de 5 %, résultat non présenté). Une autre hypothèse pour expliquer ce résultat serait une augmentation de la respiration microbienne des plants brûlés qui compense la baisse de respiration des racines. Cette augmentation serait due à un changement de composition des rhizodépôts libérés dans le sol. La destruction partielle des vaisseaux du phloème aurait induit une libération de composés plus facilement minéralisables (sucres, acides aminés...) par la microflore tellurique que les rhizodépôts des plants témoins. Cette hypothèse est confortée par le fait que le pourcentage de radioactivité retrouvée dans la biomasse microbienne ne diminue pas lorsque les plants sont brûlés, et ce, alors que la fourniture en assimilats des racines est moindre.

Les expériences réalisées dans ce chapitre montrent que la rhizodéposition carbonée est étroitement liée à la croissance racinaire : une corrélation linéaire est mise en évidence entre la quantité d'assimilats marqués incorporés dans les racines et la quantité de résidus marqués retrouvés dans le sol après 48 heures. Plus le ^{14}C est consommé pour la croissance racinaire, et plus la rhizodéposition semble importante. Cette relation est aussi vraie entre la quantité de ^{14}C attribuée au compartiment souterrain et la rhizodéposition : plus les assimilats sont alloués aux racines, et plus la quantité de rhizodépôts augmente. Enfin, une corrélation significative est observée entre la quantité d'assimilats allouée par gramme de racine et la quantité de rhizodépôts retrouvés dans le sol. Il semble donc que la concentration en carbone

disponible dans le système racinaire soit une variable importante pour comprendre et modéliser la rhizodéposition.

Des corrélations semblables sont observées lors du vieillissement des plantes : lorsque la plante vieillit, elle attribue moins d'assimilats aux racines et la rhizodéposition est moins importante (Keith *et al.*, 1986; Gregory et Atwell, 1991; Swinnen *et al.*, 1994a). Par exemple, Keith *et al.* (1986) ont montré sur du blé que le pourcentage de rhizodépôts retrouvés dans le sol diminue de 8,2 % à 0,7 % RTR entre le tallage et la fin du stade de reproduction, lorsque le pourcentage de RTR des racines diminue de 12,5 % à 0,4 %. Cependant, cette diminution ne peut pas être directement attribuée à un seul facteur puisque ces études sont faites à différentes étapes de croissance.

Dans notre expérience, seule la distribution de carbone aux racines a été modifiée artificiellement sur des plantes ayant la même phénologie. Nous pouvons donc conclure que l'acquisition de carbone par les racines influence directement la libération de composés carbonés dans la rhizosphère. Ces relations linéaires sont valides lorsque la radioactivité des racines est comprise entre 30 et 600 kBq (soit entre 200 et 1200 kBq alloués au compartiment souterrain). En effet, comme l'origine des corrélations observées entre la fourniture en assimilats et la rhizodéposition ont une origine statistiquement différente de zéro, il existe probablement d'autres mécanismes de rhizodéposition, différents de ceux observés ici, lorsque les quantités d'assimilats fournies aux racines (ou au compartiment souterrain) sont moindres.

II..D Conclusion

Afin d'observer la relation entre la rhizodéposition et la fourniture en assimilats des racines, nous avons mis en place une méthode capable de réduire globalement l'allocation des assimilats vers les racines sans modifier drastiquement le fonctionnement des parties aériennes.

Nous avons mis en évidence une corrélation entre le pourcentage de radioactivité totale retrouvée dans les racines, qui traduit la force de puits de ces dernières, et la rhizodéposition. Une corrélation similaire est observée entre la quantité d'assimilats radioactifs retrouvés dans le compartiment souterrain et la quantité de résidus marqués trouvés dans le sol 48 heures après le marquage. Il semble donc que la rhizodéposition soit

étroitement liée à la répartition du carbone dans le système plante/sol, et particulièrement au pourcentage de composés solubles disponibles dans le système racinaire ainsi qu'à l'activité métabolique de ce dernier.

Dans le chapitre suivant, nous nous intéressons à des variables plus fines du système racinaire, comme sa morphologie ou la disponibilité en carbone soluble des racines. En effet, d'après notre hypothèse, la rhizodéposition carbonée s'effectue essentiellement au niveau des apex. Si cette hypothèse est vraie, la quantité de rhizodépôts carbonés retrouvés dans la solution nutritive pourra être aisément modélisée en utilisant par exemple des variables tenant au transport des assimilats (taux de photosynthèse, concentration en sucres solubles des feuilles et résistance des voies de transport) d'une part et au nombre d'apex du système racinaire d'autre part.

Relations entre la concentration de composés solubles des racines, la morphologie racinaire et la rhizodéposition

.I Introduction

Dans le chapitre précédent, l'objectif était d'étudier la relation entre la quantité de carbone allouée aux racines et celle libérée dans la rhizosphère en faisant varier la quantité d'assimilats allouée aux racines de maïs cultivés en sol. Une corrélation est observée entre la quantité de carbone incorporée dans les structures racinaires et celle retrouvée sous forme de rhizodépôts dans le sol. De même, la quantité de carbone allouée au compartiment souterrain est corrélée à la quantité de résidus marqués retrouvée dans le sol 48 heures après le marquage. Cependant, une partie de nos résultats ne peut être complètement interprétée puisque la quantité de rhizodépôts radioactifs minéralisés par les micro-organismes du sol n'est pas mesurable. Par conséquent, nous ne pouvons pas affirmer que lorsque les racines obtiennent moins d'assimilats, la rhizodéposition est proportionnellement moindre.

Dans ce chapitre, nous nous intéressons à des variables morphologiques et physiologique du système racinaire. En effet, il s'agit d'observer les corrélations entre la rhizodéposition et la concentration en carbone soluble des racines d'une part, et entre la rhizodéposition et la morphologie racinaire d'autre part. Les plants de maïs sont cultivés en hydroponie pour accéder aisément au système racinaire. La stérilité des racines et de la solution dans laquelle elles sont cultivées est maintenue dans le but de mesurer la quantité nette (efflux moins influx) de rhizodépôts libérée dans le milieu extérieur.

Les objectifs de cette étude sont d'analyser les relations entre :

- la quantité de rhizodépôts solubles (exsudats et une partie des mucilages) et la surface racinaire et la concentration en composés solubles présents dans les racines,

- la quantité de rhizodépôts insolubles (mucilages) et l'activité métabolique des racines ainsi que le nombre d'apex du système racinaire.

Les expériences sont réalisées sur des plants de maïs cultivés en hydroponie stérile dans des tubes ou des pots remplis de billes de verre, et étudiés au stade végétatif. La solution nutritive employée ne contient pas de carbone pour permettre de doser les rhizodépôts carbonés libérés par les racines pendant la culture. De plus, la stérilité permet de s'affranchir de la métabolisation des rhizodépôts par les micro-organismes. Comme le maïs est au stade végétatif, les rhizodépôts sont essentiellement constitués de sécrétions et d'exsudats. Les rhizodépôts dits solubles, retrouvés dans la solution, sont des exsudats, des sécrétions de faibles poids moléculaires, et la fraction solubilisée des mucilages. Les rhizodépôts dits insolubles, récupérés en filtrant la solution et en effectuant une attaque acide sur les billes de verre, incluent la fraction restante des mucilages et des débris racinaires.

Les plants de maïs sont cultivés pendant des temps différents pour obtenir des tailles contrastées de parties aériennes et de systèmes racinaires, et par conséquent des quantités d'assimilats allouées aux racines différentes. Cette démarche permet ainsi d'analyser la corrélation entre les variables morphologiques racinaires, la concentration en composés solubles des racines et la quantité de rhizodépôts dans la solution nutritive.

Deux expériences sont réalisées :

- une première expérience au cours de laquelle les assimilats récents sont marqués au ^{14}C et
- une deuxième expérience sans marquage. Attendu que les réserves racinaires, source potentielle de rhizodépôts, sont négligeables (Tableau 6), seul le carbone provenant des parties aériennes contribue à la rhizodéposition. Nous étudions la quantité de rhizodépôts solubles libérés dans la solution nutritive, exprimée en μg de carbone par plante. Une cinétique est effectuée pour vérifier que la quantité de composés solubles libérée par les racines en fonction du temps est constante, et par conséquent que la majorité des rhizodépôts n'est pas réabsorbée par les racines.

Les conditions expérimentales étant différentes entre chaque expérience, les résultats présentés sont scindés en deux parties. Une discussion et une conclusion générale seront ensuite exposées.

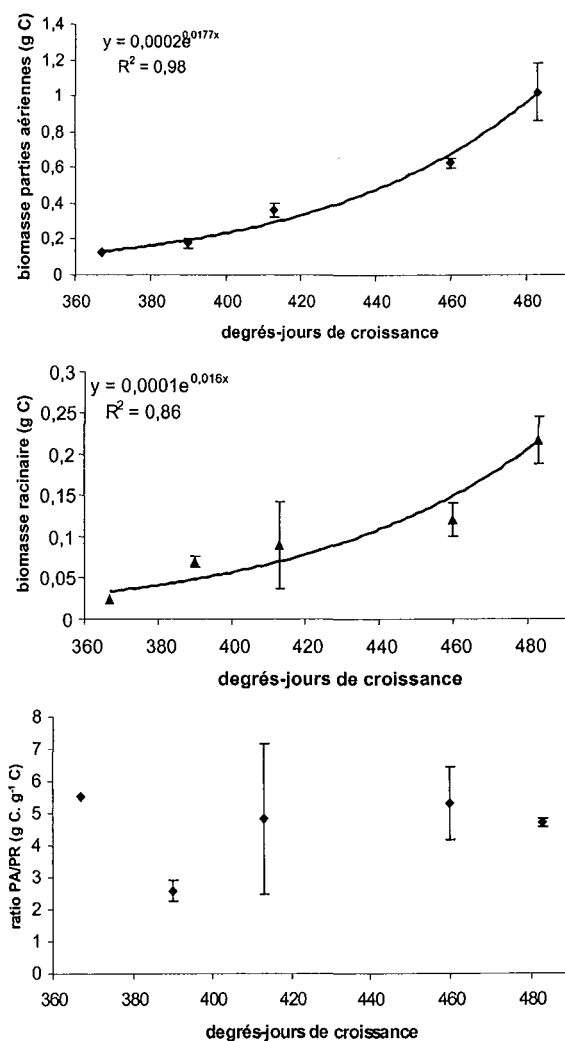


Figure 29 : Biomasse des parties aériennes et des racines de maïs, cultivés en hydroponie stérile dans des pots de 1L remplis de billes de verre, en fonction du temps de culture. Les barres d'erreur représentent les écarts-types.

.II Résultats

II..A Expérience 1

Les résultats obtenus proviennent de plants de maïs cultivés en hydroponie stérile, dans des pots de 1L, et qui sont marqués brièvement au $^{14}\text{CO}_2$ après différents temps de culture. Quatre marquages de 5 plants sont effectués à deux mois d'intervalle (date 1 à 4). La stérilité est testée lors de la récolte. Sur l'ensemble des plants récoltés, huit étaient contaminés et ont été éliminés (soit 40 % des pots). Les résultats obtenus concernent donc 12 plantes. Les données sont rassemblées et analysées globalement.

.II.A.1 Biomasses et données morphologiques des systèmes racinaires

Le temps de culture varie entre 365 et 485 degrés jours. Le nombre de feuilles visibles en fonction des degrés-jours de croissance est exprimé dans le Tableau 12. La biomasse des plants augmente en fonction du temps de culture exprimé en degrés-jours (Figure 29).

Tableau 12 : Nombre de feuilles visibles et biomasses des parties aériennes en fonction des degrés-jours de croissance de plants de maïs cultivés en hydroponie stérile dans des pots de 1L remplis de billes de verre. Les écarts-types sont présentés en italique.

Degrés-jours	365	390	420	460	485
	n=1	n=3	n=2	n=3	n=1
Nombre de feuilles	6	6,7	7,8	8,33	9,5
<i>Ecart-type</i>	<i>ND</i>	<i>0,67</i>	<i>0,71</i>	<i>0,67</i>	<i>0,71</i>
Biomasse des parties aériennes	0,13 g C	0,18 g C	0,35 g C	0,62 g C	1,02 g C
<i>Ecart-type</i>	<i>ND</i>	<i>0,028</i>	<i>0,089</i>	<i>0,028</i>	<i>0,159</i>

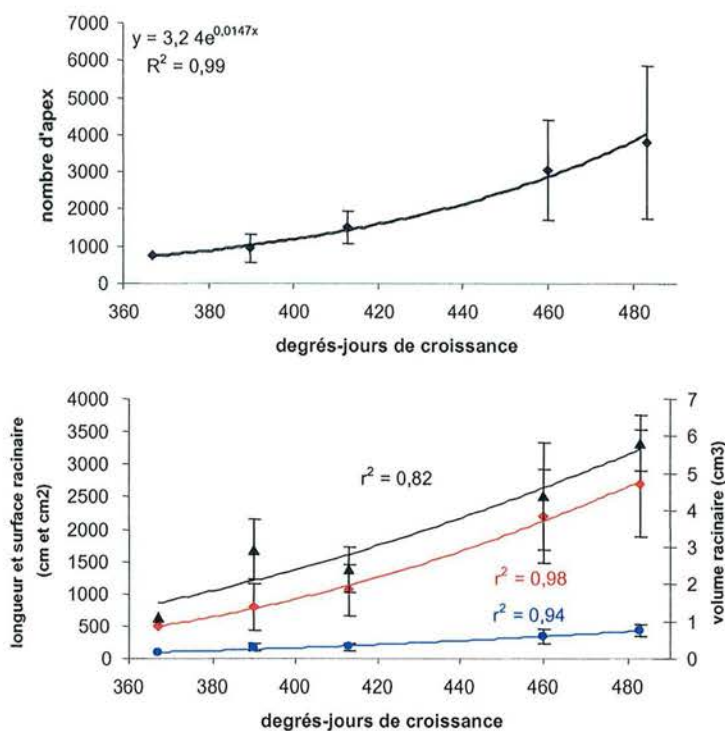


Figure 30 : Evolution du nombre d'apex, de la longueur (♦), de la surface (●) et du volume (σ) des racines de maïs cultivé en hydroponie stérile dans des pots de 1L remplis de billes de verre, en fonction du temps de culture. Les courbes de tendance exponentielles sont représentées par les équations suivantes : pour la longueur racinaire, $y = 2,8\exp(0,0139x)$; pour la surface, $y = 0,9\exp(0,0126x)$; pour le volume, $y = 0,02\exp(0,0115x)$. Les barres d'erreur représentent les écarts-types.

Le nombre d'apex, ainsi que la longueur, la surface et le volume racinaires sont étroitement corrélés au temps de culture (Figure 30).

Lors de l'analyse de la morphologie racinaire, la longueur, le volume et la surface racinaire, ainsi que le nombre d'apex, étaient classés en fonction du diamètre de la racine considérée (0 à 3 mm ; 3 à 6 mm... ; 1,8 à 2,1 mm et > à 2,1 mm). Cette compartimentation est effectuée pour analyser s'il existe une catégorie de diamètre spécifique qui serait plus corrélée à la rhizodéposition. Dans la plupart des cas, les longueurs de racine comprises dans les 8 classes de diamètres racinaires choisies sont significativement corrélées à la longueur totale des racines. De même, les surfaces et les volumes racinaires classés selon le diamètre des racines sont corrélés à la surface et au volume total, respectivement (Tableau 13). Ces corrélations n'apportant pas d'information complémentaire, seule la surface totale, la longueur totale et le volume total seront ensuite pris en compte, sans distinction de classes de diamètre, pour analyser les corrélations entre la quantité de rhizodépôts et ces variables.

Tableau 13 : Analyse des corrélations entre les différentes variables des systèmes racinaires de maïs cultivés en hydroponie stérile dans des pots de 1L remplis de billes de verre. Coefficients de corrélation (r^2) entre la distribution des longueurs, des surfaces et des volumes racinaires par classe de diamètre de racine et la longueur, la surface et le volume total, respectivement. Les astérisques signifient que le coefficient est significatif avec un risque de première espèce α de 10% (*), 5% (**) et 1% (***).

CLASSE (mm)	LONG TOT	SURF TOT	VOL TOT
0,0-0,3	0,90***	0,84***	0,73***
0,3-0,6	0,97***	0,96***	0,91***
0,6-0,9	0,80***	0,87***	0,93***
0,9-1,2	0,32*	0,36**	0,37**
1,2-1,5	0,04	0,06	0,05
1,5-1,8	0,64**	0,71***	0,75***
1,8-2,1	0,75***	0,75***	0,77***
>2,1	0,77***	0,76***	0,66**

Tableau 14 : Radioactivité retrouvée (en kBq) dans les feuilles visibles avec et sans ligule (FDV et FV, respectivement), les feuilles invisibles et la tige (FI et T), les parties aériennes (PA), le compartiment souterrain (CS), les racines (RAC), les rhizodépôts insolubles (MUC), solubles (EXSUD), les débris racinaires (DEB), les rhizodépôts totaux (R_{TOT}) et la respiration racinaire (RESP) en fonction de l'âge des plantes. L'intervalle de confiance est indiqué en italique. Le pourcentage de radioactivité totale retrouvée est mentionné entre parenthèses.

Degrés-jours	365 n=1	390 n=3	420 n=2	460 n=3	485 n=1
KBq totaux	91,2 (100) <i>ND</i>	88,3 (100) <i>28,19</i>	202,1 (100) <i>51,23</i>	371,6 (100) <i>15,59</i>	625,4 (100) <i>ND</i>
FDV	7,0 <i>ND</i>	18,6 <i>17,38</i>	33,5 <i>17,45</i>	82,1 <i>42,15</i>	136,2 <i>ND</i>
FV	51,7 <i>ND</i>	28,3 <i>7,46</i>	98,7 <i>24,65</i>	144,7 <i>32,93</i>	259,3 <i>ND</i>
FI et T	7,4 <i>ND</i>	4,0 <i>2,15</i>	7,9 <i>2,96</i>	25,1 <i>18,98</i>	32,9 <i>ND</i>
PA = FDV+FV+FI+T	66,1 (72,5) <i>ND</i>	50,9 (57,6) <i>17,48</i>	140,1 (69,3) <i>24,56</i>	251,9 (67,8) <i>6,40</i>	468,4 (74,9) <i>ND</i>
RAC	7,9 (8,7) <i>ND</i>	14,6 (16,5) <i>1,73</i>	35,1 (17,4) <i>34,87</i>	45,2 (12,2) <i>12,58</i>	75,4 (12,0) <i>ND</i>
RESP	15,7 (17,2) <i>ND</i>	21,6 (24,5) <i>10,23</i>	25,2 (12,5) <i>21,32</i>	67,7 (18,2) <i>3,67</i>	78,5 (12,6) <i>ND</i>
MUC	0,2 <i>ND</i>	0,1 <i>0,05</i>	0,1 <i>0,21</i>	0,5 <i>0,21</i>	0,5 <i>ND</i>
EXSUD	1,2 <i>ND</i>	0,9 <i>0,80</i>	1,5 <i>0,67</i>	6,1 <i>2,86</i>	2,3 <i>ND</i>
DEB	0,1 <i>ND</i>	0,2 <i>0,23</i>	0,1 <i>0,12</i>	0,1 <i>0,09</i>	0,3 <i>ND</i>
R _{TOT} = MUC+EXSUD+DEB	1,5 (1,6) <i>ND</i>	1,3 (1,5) <i>0,73</i>	1,7 (0,8) <i>0,78</i>	6,7 (1,8) <i>3,09</i>	3,1 (0,5) <i>ND</i>
CS = RAC+RESP+R _{TOT}	25,1 (27,5) <i>ND</i>	37,4 (42,4) <i>11,14</i>	62,0 (30,7) <i>39,39</i>	119,6 (32,2) <i>13,83</i>	157,0 (25,1) <i>38,27</i>

.II.A.2 Assimilation du $^{14}\text{CO}_2$ et répartition des assimilats

L'activité ^{14}C des différents compartiments du système plante/solution nutritive est indiquée dans le Tableau 14.

La quantité de $^{14}\text{CO}_2$ fixée par les parties aériennes varie en fonction des degrés-jours de croissance : à 485 degrés-jours, la radioactivité totale retrouvée dans le système plante/solution est de 625 kBq en moyenne, contre 91 kBq chez les plants cultivés pendant 365 degrés-jours. Cette augmentation est logiquement corrélée à la taille des parties aériennes (Figure 31). En effet, plus la taille des parties aériennes est importante, plus la plante présente un indice foliaire élevé, ce qui lui permet de fixer une quantité plus importante de CO_2 .

En valeur absolue, aucune différence significative d'allocation de carbone entre les parties aériennes et les racines n'est observée quel que soit le nombre de degrés-jours de croissance. La gamme de degrés-jours de l'expérience n'a pas permis d'obtenir des rapports PA/PR significativement différents. Cette gamme est initialement choisie pour obtenir une plante autotrophe qui fixe le $^{14}\text{CO}_2$ (4 feuilles visibles minimum) et dont les racines sont maintenues en conditions stériles dans le système de culture (11-12 feuilles visibles maximum). Au-delà de ce stade, il est très difficile de maintenir le système racinaire en axénie.

Les parties aériennes allouent en moyenne 31,8 % des assimilats nouvellement formés au compartiment souterrain et ce, quel que soit leur âge. De même, 1,4 % de la radioactivité totale est retrouvée sous forme de rhizodépôts. Les rhizodépôts solubles constituent la majeure partie des rhizodépôts, soit en moyenne 80 %, 69 %, 88 %, 91 % et 74 % lorsque les plants étaient âgés de 365, 390, 420, 460 et 485 degrés jours, respectivement. La fraction de mucilages retrouvée sous forme de rhizodépôts insolubles, représente environ 10% des rhizodépôts.

La quantité d'assimilats attribués par gramme de racine n'est pas statistiquement différente entre les temps de croissance étudiés (Figure 32).

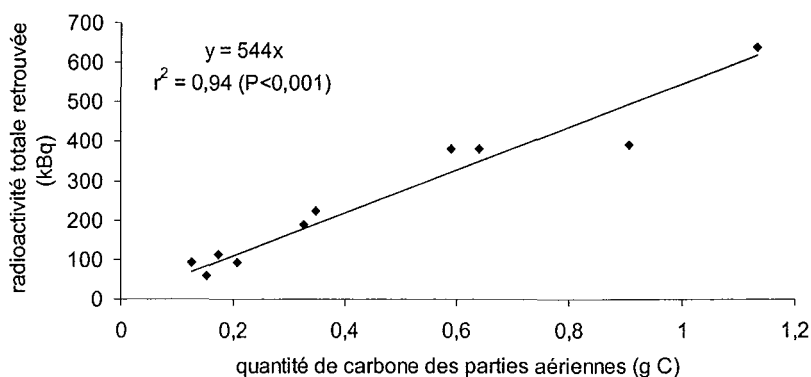


Figure 31 : Quantité nette de $^{14}\text{CO}_2$ fixée, exprimée en radioactivité retrouvée dans l'ensemble des compartiments, en fonction de la taille des parties aériennes, exprimée en masse de carbone. Les maïs sont cultivés pendant 365, 390, 420, 460 ou 485 degrés-jours en hydroponie stérile dans des pots de 1 L remplis de billes de verre.

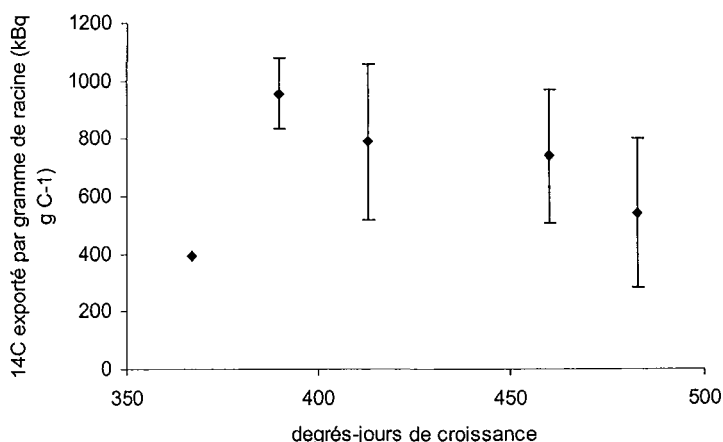


Figure 32 : Quantité de ^{14}C exportée vers le système racinaire, exprimée en kBq par gramme de racine. Les maïs sont cultivés pendant 365, 390, 420, 460 ou 485 degrés-jours en hydroponie stérile dans des pots de 1 L remplis de billes de verre. Les barres d'erreur représentent les écarts-types.

Tableau 15 : Activité retrouvée dans les composés solubles des racines, exprimée en pourcentage de l'activité retrouvée dans le système racinaire d'un plant de maïs ([kBq/kBq racines]×100). Les maïs sont cultivés pendant 365, 390, 420, 460 ou 485 degrés-jours en hydroponie stérile dans des pots de 1 L remplis de billes de verre. Les écarts-types sont indiqués en italique.

Degrés-jours	365 n=1	390 n=3	420 n=2	460 n=3	485 n=1
% ¹⁴ C composés solubles	7,35 <i>ND</i>	4,93 <i>1,713</i>	5,97 <i>1,854</i>	6,67 <i>1,266</i>	6,41 <i>ND</i>

L'activité de la fraction de composés solubles des racines est présentée dans le Tableau 15. L'activité du carbone soluble rapportée à l'activité des racines n'est pas significativement différente entre les degrés-jours de croissance des plants.

En conclusion, la gamme de degrés-jours de notre expérience n'a pas permis de mettre en évidence des différences significatives entre les ratios PA/PR des plantes observées.

De plus, l'ensemble des données obtenues montre une forte interdépendance entre les différentes variables étudiées. Ainsi, le nombre d'apex du système racinaire n'est pas dissociable de la surface ($r^2=0,84$; $P<0,01$) et de la biomasse racinaire ($r^2=0,81$; $P<0,01$). La quantité d'assimilats exportée des parties aériennes aux racines dépend également de la taille du système racinaire.

Les résultats présentés dans le paragraphe suivant sont principalement centrés sur :

- la surface et la concentration de composés solubles racinaires, et
- le nombre d'apex du système racinaire, la respiration des racines et la quantité de ^{14}C retrouvée dans les racines.

Ce choix se base sur nos hypothèses de départ, à savoir que la quantité d'exsudats libérée dans la solution de culture dépend de la concentration en carbone soluble disponible à l'intérieur des racines et de la surface racinaire et que les mucilages sont sécrétés en fonction du nombre d'apex et de l'activité des racines (croissance, respiration racinaire).

.II.A.3 Relation entre la quantité de rhizodépôts retrouvés dans le système de culture et les variables racinaires.

Une matrice de corrélations est élaborée à partir des données obtenues pour déterminer les relations entre les quantités de rhizodépôts solubles, insolubles et totaux et les variables concernant les racines. Comme nous l'avons précisé ci-dessus, les variables relatives à la morphologie des racines sont réduites à la longueur, à la surface et au volume total, ainsi qu'au nombre d'apex du système racinaire.

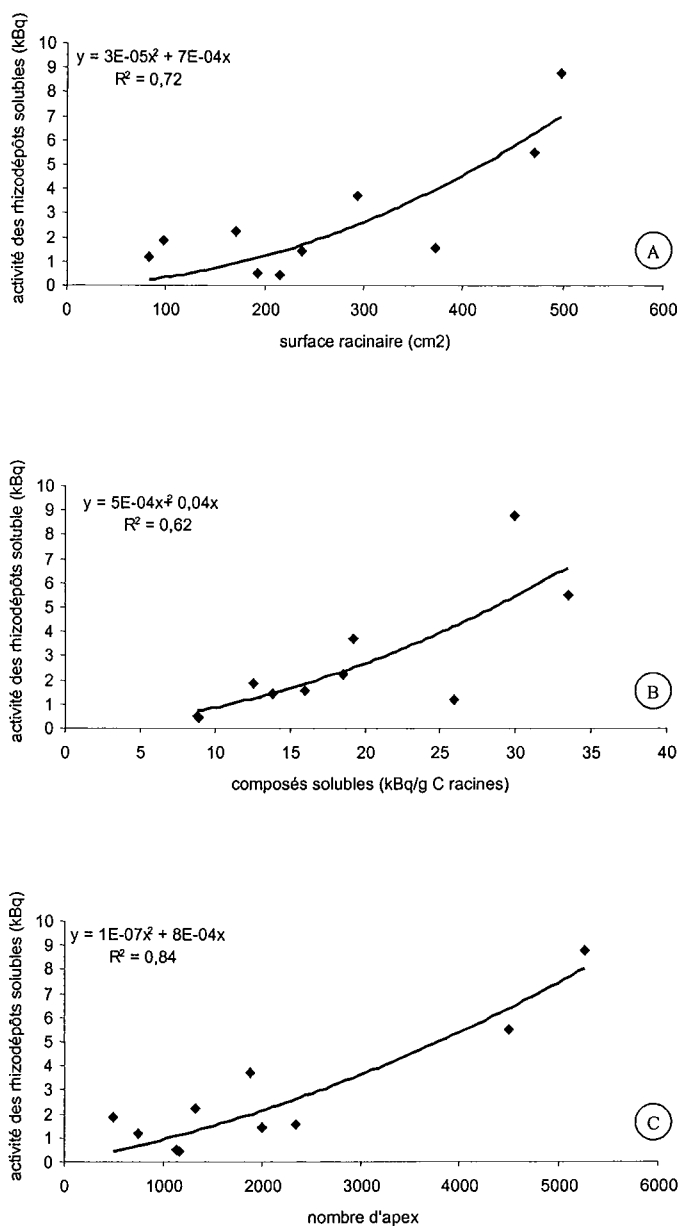


Figure 33 : Activité des rhizodépôts carbonés solubles (kBq) provenant des assimilats marqués en fonction de A) la surface racinaire, B) le nombre d'apex et C) l'activité des composés solubles (kBq/g C racines) présents par gramme de système racinaire d'un plant de maïs. Les maïs sont cultivés pendant 365, 390, 420, 460 ou 485 degrés-jours en hydroponie stérile dans des pots de 1 L remplis de billes de verre.

L'activité des rhizodépôts marqués solubles retrouvés dans la solution nutritive de culture est corrélée significativement à la surface racinaire, au nombre d'apex et à l'activité des composés solubles par gramme de racine (Figure 33). L'activité des rhizodépôts insolubles marqués retrouvés dans le système est aussi significativement corrélée au nombre d'apex des racines (Figure 34). Néanmoins, comme l'ensemble des variables relatives à la morphologie racinaire est corrélé, cette quantité est aussi liée à la biomasse, à la longueur et à la surface totale des racines.

D'autres variables du compartiment souterrain apparaissent comme significativement corrélées à l'activité des rhizodépôts solubles et insolubles libérés par la plante. Ces variables se rapportent essentiellement à l'activité métabolique des racines (la quantité d'assimilats marqués incorporés dans les tissus racinaires, respiration racinaire) et à la fourniture en assimilats radioactifs du compartiment souterrain par les parties aériennes (Figure 35).

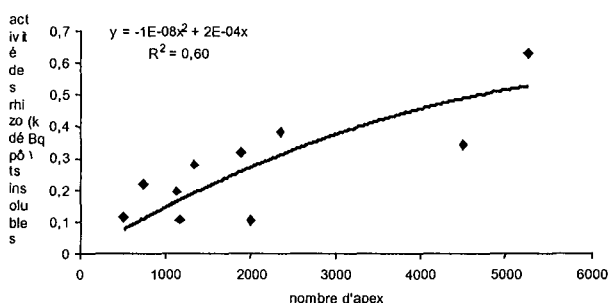


Figure 34 : Corrélation entre le nombre d'apex d'un système racinaire de maïs et l'activité des rhizodépôts insolubles marqués (kBq). Les maïs sont cultivés pendant 365, 390, 420, 460 ou 485 degrés-jours en hydroponie stérile dans des pots de 1 L remplis de billes de verre.

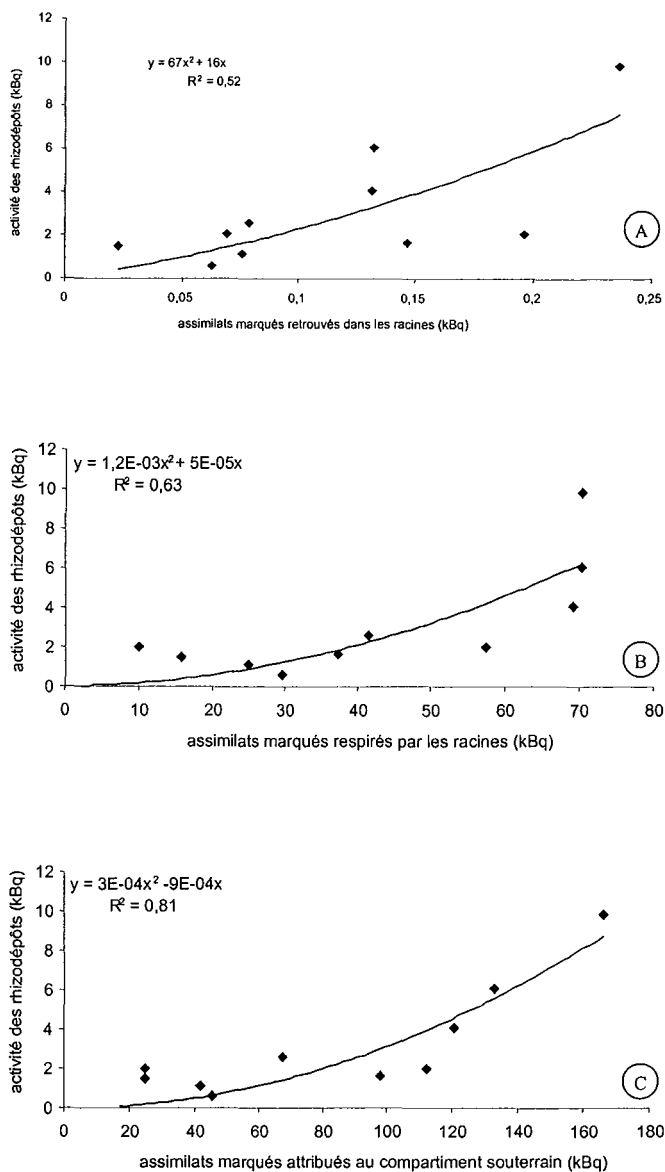


Figure 35 : Activité des rhizodépôts carbonés provenant des assimilats marqués en fonction de A) la quantité d'assimilats radioactifs retrouvés dans le système racinaire, B) la quantité d'assimilats radioactifs respirés par les racines et C) la quantité d'assimilats radioactifs attribuée au compartiment souterrain d'un plant de maïs. Les maïs sont cultivés pendant 365, 390, 420, 460 ou 485 degrés-jours en hydroponie stérile dans des pots de 1 L remplis de billes de verre.

Tableau 16 : Biomasses des parties aériennes et des racines, ratio PA/PR, concentration en carbone soluble (mg C/g C racines) et en amidon (mg/g C racines) des racines, et morphologie racinaire des plants de maïs cultivés pendant 190, 285 ou 304 degrés-jours en hydroponie stérile dans des tubes de 250 mL remplis de billes de verre. Les écarts-types sont présentés en italique.

Degrés-jours	190 n=14	285 n=5	304 n=7
Biomasses			
Parties aériennes (g C)	0,07 <i>0,007</i>	0,23 <i>0,074</i>	0,35 <i>0,093</i>
Racines (g C)	0,02 <i>0,003</i>	0,05 <i>0,020</i>	0,07 <i>0,019</i>
PA/PR	3,56 <i>0,609</i>	4,46 <i>0,419</i>	5,32 <i>0,498</i>
Amidon (mg/ g C racines)	0,4 <i>0,39</i>	0,3 <i>0,08</i>	0,8 <i>0,99</i>
Composés solubles (mg C/ g C racines)	6,9 <i>1,61</i>	8,1 <i>1,15</i>	4,53 <i>0,29</i>
Morphologie racinaire			
Longueur (cm)	218 <i>49,7</i>	800 <i>336,3</i>	1131 <i>389,3</i>
Nombre d'apex	533 <i>174</i>	1641 <i>476</i>	2394 <i>731</i>

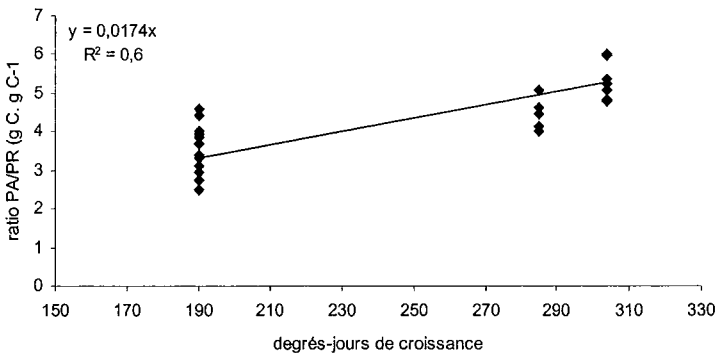


Figure 36 : Rapport entre la biomasse des parties aériennes et des racines, exprimées en gramme de carbone, en fonction des degrés-jours de croissance de plants de maïs cultivés pendant 190, 285 ou 304 degrés-jours en hydroponie stérile dans des tubes de 250 mL remplis de billes de verre.

II..B Expérience 2

La cinétique de rhizodéposition est étudiée sur 10 plants de maïs autotrophes. Cinq plants présentent 4 feuilles visibles (190 degrés-jours de croissance). Les 5 autres ont 6 feuilles visibles (285 et 304 degrés-jours de croissance). L'ensemble des plants est cultivé en hydroponie stérile dans des tubes de 250 mL remplis de billes de verre. Après avoir purgé le tube de culture, une solution nutritive sans carbone est apportée à l'aide d'une pompe péristaltique. Des aliquotes de solution de culture sont ensuite prélevées à 0, 8, 16 et 24 heures. Les plants sont ensuite récoltés et la stérilité de chaque solution nutritive est testée. La teneur en carbone organique de chaque échantillon est analysée. L'expérience est réalisée 3 fois, à 1 mois d'intervalle. Vingt-six plants de maïs stériles ont été obtenus (86,7 % des plants cultivés). Les plants non stériles ne sont pas pris en compte dans cette étude.

.II.B.1 Biomasses et données morphologiques des systèmes racinaires

Le Tableau 16 montre les biomasses des parties aériennes et des racines, la quantité d'amidon et de composés solubles, ainsi que les caractéristiques morphologiques du système racinaire obtenues au cours de l'étude de la cinétique de rhizodéposition, effectuée pendant 24 heures en conditions hydroponiques stériles.

Les biomasses des parties aériennes et racinaires augmentent en fonction du temps de culture. La longueur et le nombre d'apex augmentent proportionnellement à la biomasse des racines. Le rapport PA/PR est supérieur chez les plantes présentant 6 feuilles visibles (285 et 304 degrés jour) par rapport aux plantes de 4 feuilles (190 degrés jour). La Figure 36 montre qu'il existe une corrélation linéaire positive entre le ratio PA/PR et le nombre de degrés-jours de croissance ($r^2=0,6$; $P<0,01$).

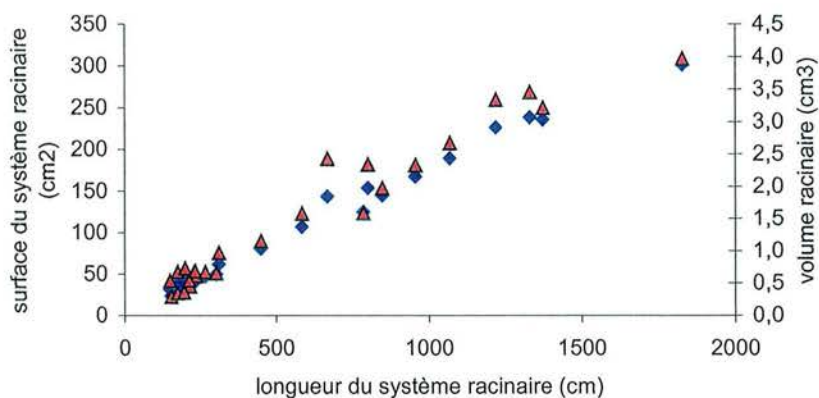


Figure 37 : Surface (♦) et volume (▲) du système racinaire des plants de maïs de 4 et 6 feuilles visibles, cultivés pendant 190, 285 ou 304 degrés-jours en hydroponie stérile dans des tubes de 250 mL remplis de billes de verre, en fonction de la longueur totale des racines.

Comme dans le cas de la première expérience en hydroponie, la longueur totale des racines est également significativement corrélée à la surface et au volume racinaire ($r^2=0,99$ et $r^2=0,95$, respectivement, Figure 37).

Les concentrations en composés solubles et en amidon des racines ne sont pas différentes entre les différents temps de culture étudiées (Tableau 16).

.II.B.2 Cinétique de rhizodéposition

Dans cette expérience, la libération nette de composés carbonés solubles dans la solution nutritive par les racines est mesurée.

Après les prélèvements des aliquotes à 0, 8, 16 et 24 heures, 42 mL de solution nutritive sont récupérés en moyenne dans le tube de culture. Afin de tenir compte des variations de volume d'un tube à l'autre, nous avons exprimé les résultats en quantité de carbone libérée par les racines dans la solution de culture, plutôt qu'en concentration.

La quantité de rhizodépôts solubles augmente en fonction du temps (8, 16 et 24 heures). Après 24 heures, elle est plus importante chez les plantes présentant 6 feuilles que chez les plantes de 4 feuilles. Au temps 0 h, la quantité initiale de carbone présente dans la solution nutritive n'est pas nulle. Elle est en moyenne de $6 \mu\text{g C.mL}^{-1}$ de solution nutritive. La vidange ne permet donc pas d'obtenir un tube de culture sans composés carbonés résiduels.

Le flux de rhizodéposition net, exprimé en $\mu\text{g C.h}^{-1}$ est calculé de la façon suivante :

$$\Phi_r = (R_{xh} - R_{0h}) / x$$

x représente le temps (h).

R_{xh} représente la quantité de rhizodépôts solubles retrouvée dans la solution nutritive x heures (8, 16 ou 24) après la vidange du tube de culture ($\mu\text{g C}$).

R_{0h} représente la quantité de carbone résiduel présent dans la solution de culture immédiatement après la vidange ($\mu\text{g C}$).

Tableau 17 : Quantité nette de rhizodépôts solubles de plants de maïs de 4 et 6 feuilles, cultivés pendant 190, 285 ou 304 degrés-jours en hydroponie stérile dans des tubes de 250 mL remplis de billes de verre, retrouvée dans la solution de culture. Les écarts-types sont présentés en italique.

Degrés-jours	190 n=14	285 n=5	304 n=7
Quantité de carbone retrouvée dans la solution nutritive (µg C)			
0 h	292 <i>31,3</i>	275 <i>11,5</i>	309 <i>26,8</i>
8 h	320 <i>28,4</i>	304 <i>42,5</i>	613 <i>96,7</i>
16 h	391 <i>63,7</i>	775 <i>53,6</i>	1163 <i>188,1</i>
24 h	415 <i>139,3</i>	1167 <i>212,2</i>	1971 <i>447,0</i>

Les flux de rhizodéposition sont calculés pour chaque temps de culture 8, 16, et 24 heures après la vidange du tube. Ils sont présentés dans la Figure 38.

Le flux de rhizodéposition calculé 8 heures après la vidange des plants cultivés pendant 285 degrés-jours est statistiquement plus faible que les flux calculés 16 et 24 heures après la vidange. De même, le flux calculé 8 h après la vidange est plus faible que celui calculé 24 h après chez les plants cultivés pendant 304 degrés-jours. Ce résultat est probablement dû à une différence trop faible entre la quantité de rhizodépôts libérée en 8 heures et celle restante après la vidange de la solution nutritive, mal détectée par l'analyse.

Le flux de rhizodépôts solubles calculé à 16 heures n'étant pas différent de celui calculé à 24 heures, seul ce dernier sera pris en compte pour analyser les relations entre les variables racinaires et ce flux.

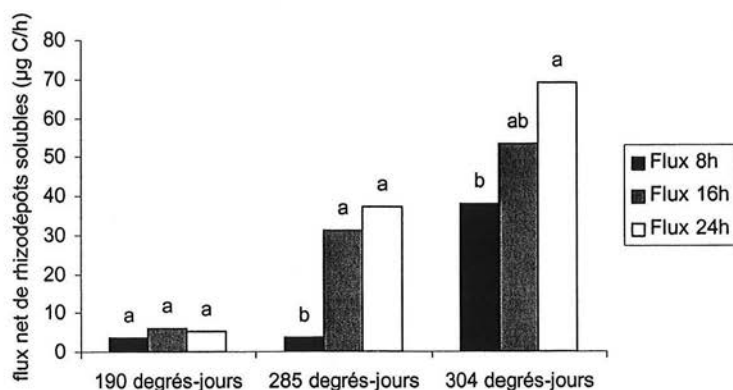


Figure 38 : Flux net de rhizodépôts solubles des plants de maïs cultivés en hydroponie stérile pendant 190, 285 et 304 degrés-jours. Les flux sont calculés 8, 16 et 24 heures après la vidange de la solution nutritive des tubes de 250 mL rempli de billes de verre dans lesquels les plants sont cultivés.

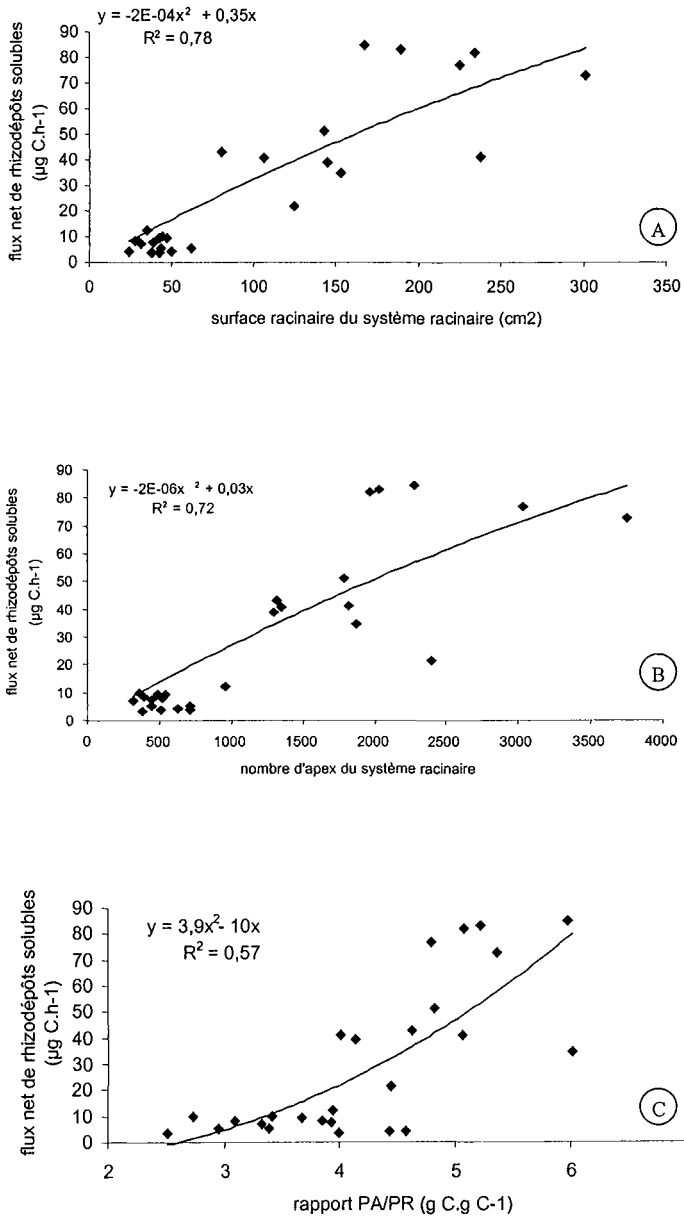


Figure 39 : Flux net de libération de composés carbonés solubles en fonction de A) la surface racinaire, B) le nombre d'apex et C) le rapport PA/PR d'un plant de maïs. Les plants sont cultivés pendant 190, 285 ou 304 degrés-jours en hydroponie stérile dans des tubes de 250 mL remplis de billes de verre.

.II.B.3 Relation entre le flux net de rhizodéposition et les variables racinaires.

Le flux de rhizodéposition est corrélé à la biomasse racinaire ($P < 0,001$), ainsi qu'aux caractéristiques morphologiques des racines comme le nombre d'apex, la longueur, la surface et le volume des racines ($P < 0,001$) (Figure 39A et B).

Bien que plus faible, une corrélation significative est observée entre le flux de rhizodépôts solubles et le rapport entre la biomasse des parties aériennes et celle des parties aériennes ($P < 0,01$; Figure 39C). Lorsque la répartition des assimilats se fait en faveur des parties aériennes (ratio PA/PR élevé), le flux de carbone soluble libéré par les racines augmente.

Aucune corrélation n'est observée entre la concentration en carbone soluble des racines et le flux net de rhizodépôts solubles libérés dans la solution nutritive (Figure 40).

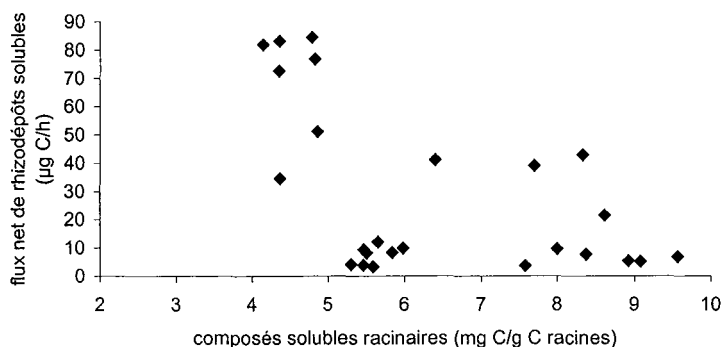


Figure 40 : Flux net de rhizodépôts solubles libérés dans la solution nutritive en fonction de la concentration en composés solubles du système racinaire de maïs cultivés pendant 190, 285 et 304 degrés-jours en conditions hydroponiques stériles dans des tubes de 250 mL remplis de billes de verre.

II..C Discussion et perspectives en vue de modéliser la rhizodéposition

D'après les résultats de l'expérience 1, la fraction de mucilages retrouvée sous forme de rhizodépôts solubles, représente environ 90% des rhizodépôts marqués. Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature (Bocuf *et al.*, 1993; Boeuf-Tremblay *et al.*, 1995; Groleau-Renaud, 1998) et montrent qu'il est pertinent de s'intéresser essentiellement à cette fraction, représentative de la rhizodéposition en conditions stériles. Ils confirment une forte proportion d'exsudats dans les rhizodépôts des plantes au stade végétatif (Hale et Moore, 1979; Jones et Darrah, 1995; Gransee et Wittenmayer, 2000; Aulakh *et al.*, 2001). En effet, la production maximale de mucilages chez le maïs se fait plus tardivement, lorsque les plants forment des racines adventives (Morel *et al.*, 1991; Osborn *et al.*, 1999; Traore *et al.*, 2000).

Les hypothèses que nous avons voulu tester au cours de ce travail sont :

- la quantité d'exsudats dépend essentiellement de la concentration en composés solubles de la racine, de la concentration extérieure en carbone et de la surface racinaire ;
- la quantité de mucilage est corrélée à l'activité racinaire, ainsi qu'au nombre d'apex du système racinaire.

L'ensemble des résultats obtenus conforte ces hypothèses sans toutefois les valider. En effet, la quantité de rhizodépôts est corrélée à la fois à des variables qui rendent compte à la fois de :

1. l'allocation des assimilats aux racines, illustrée par la quantité de radioactivité attribuée au compartiment souterrain, le ratio PA/PR ou l'activité des composés solubles par gramme de racine,
2. la morphologie du système racinaire (surface, nombre d'apex), et de
3. l'activité métabolique des racines (respiration racinaire, assimilats récents incorporés dans les structures racinaires).

Toutefois, de nombreuses interdépendances existent entre les variables morphologiques racinaires et l'allocation des assimilats aux racines, ce qui ne permet pas de hiérarchiser l'importance de chaque variable racinaire sur la libération de composés solubles

en système hydroponique. A titre d'exemple, la surface est corrélée à la fois à la longueur et au volume total des racines, ainsi qu'au nombre d'apex. Les résultats obtenus ne permettent donc pas d'affirmer que les apex sont des sites de rhizodéposition privilégiés.

Il semble qu'au cours de son développement, la biomasse racinaire augmente proportionnellement à la quantité d'assimilats fournis par les parties aériennes. La quantité de composés solubles à l'intérieur des racines est également corrélée à la biomasse des racines, et à la quantité de rhizodépôts retrouvée dans la solution nutritive. Néanmoins, aucune corrélation n'est observée entre la concentration en composés solubles des racines et la quantité de rhizodépôts solubles libérés dans la solution nutritive. Pour approfondir ce résultat, il faudrait limiter l'analyse des composés solubles là où ils sont le plus concentrés, à savoir au niveau des apex (Farrar *et al.*, 1995; Pritchard *et al.*, 2000). De plus, il serait intéressant d'analyser la composition et la quantité des composés solubles présents dans les apex racinaire et de comparer ces résultats à la composition des rhizodépôts solubles libérés dans la solution nutritive. Ainsi, si les profils sont identiques entre l'intérieur de la racine et ce qui est libéré, une corrélation directe entre ces deux variables serait validée (Paynel *et al.*, 2001).

.II.C.1 Elaboration d'un modèle simple de rhizodéposition *in vitro*

A partir des données acquises dans ce chapitre, nous avons élaboré un modèle simple de rhizodéposition (*i.e.* flux net de composés solubles) du maïs au stade végétatif en conditions hydroponiques stériles. Ce modèle a deux objectifs :

- rassembler les connaissances acquises au cours de ce travail, et
- proposer des perspectives à explorer.

L'élaboration du modèle est détaillée dans le paragraphe suivant. Le modèle se base sur le principe d'une libération de rhizodépôts dépendante de l'allocation des assimilats aux racines et de la morphologie, conformément à nos hypothèses de départ. Comme le flux net de rhizodépôts solubles n'est pas corrélé à la concentration en carbone soluble des racines, nous avons opté pour une variable plus globale de répartition de carbone dans la plante : le ratio PA/PR. L'équation du modèle proposé est la suivante :

$$\text{Équation 1 :} \qquad \Phi = \rho \times \text{PA/PR} \times N_a$$

Φ est le flux de rhizodéposition, exprimé en kBq ou en μg de carbone par heure, selon l'expérience analysée.

p est un coefficient de libération des rhizodépôts dans la solution nutritive. Il varie en fonction de la structure des membranes et des conditions environnementales comme la température par exemple. Par conséquent, le coefficient trouvé avec les données provenant des plants marqués (exprimé en $\text{kBq}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{Na}^{-1}$) n'est pas comparable avec celui issu des données provenant des plants sans marquage ($\mu\text{g C}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{Na}^{-1}$).

PA/PR est le rapport entre la biomasse des parties aériennes et celle des racines, exprimé en $\text{g C}\cdot\text{g}^{-1}\text{C}$. Ce rapport rend compte de l'allocation, intégrée entre la germination et la récolte, des assimilats entre les parties aériennes et les racines, entre la germination et la date de la récolte.

N_a est le nombre d'apex du système racinaire.

Les résultats que nous avons obtenus dans ce chapitre montrent que l'ensemble des variables morphologiques est corrélé. Parmi ces variables, nous avons délibérément choisi le nombre d'apex puisque c'est d'après la littérature un site privilégié de rhizodéposition chez le maïs.

Nous posons l'hypothèse que les variations de PA/PR et N_a sont négligeables pendant le temps de l'expérimentation. Cette hypothèse est posée dans le but de simplifier au maximum le modèle proposé. Néanmoins, elle est discutable. En effet, selon l'expérimentation considérée, le temps de culture entre le début et la fin de l'expérience varie entre 47 et 50 degrés-jours. Ainsi, d'après la Figure 30 et le Tableau 16, la longueur des racines peut considérablement varier pendant ce laps de temps.

Nous admettons également que le carbone libéré par les racines se distribue uniformément dans la solution nutritive (Jones et Darrah, 1993a).

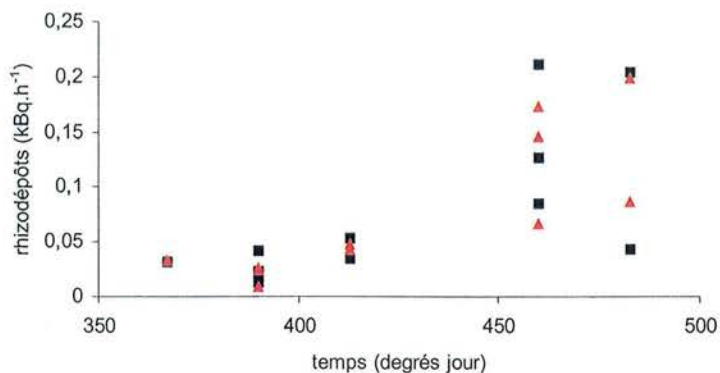


Figure 41 : Paramétrage de l'équation traduisant le flux de rhizodépôts solubles dans la solution nutritive ($\Phi_r = \rho \times PA/PR \times N_a$). Le coefficient de rhizodéposition trouvé est de $7,9 \times 10^{-6}$ kBq par heure et par apex ($P < 0,0001$). Le coefficient de corrélation (r^2) entre les valeurs calculées (■) et les valeurs mesurées (▲) est de 0,80.

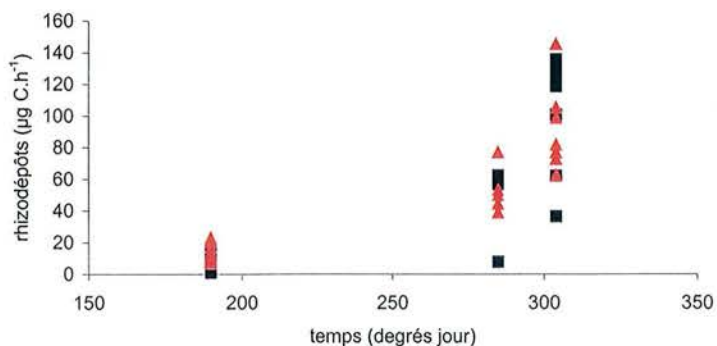


Figure 42 : Paramétrage de l'équation traduisant le flux de rhizodépôts solubles dans la solution nutritive ($\Phi_r = \rho \times PAPR \times N_a$). Le coefficient de rhizodéposition trouvé est de $6,3 \times 10^{-4}$ µg C par heure et par apex ($P < 0,0001$). Le coefficient de corrélation (r^2) entre les valeurs calculées (■) et les valeurs mesurées (▲) est de 0,71.

.II.C.2 Paramétrage du modèle

Le paramétrage de l'Équation 1 s'est effectué à partir de 2 jeux de données : celui de l'expérience 1 (maïs cultivés en axénie dans des pots de 1 L puis brièvement marqués au $^{14}\text{CO}_2$) et celui de l'expérience 2 (maïs cultivés en axénie dans des tubes de 250 mL sans marquage). Dans les deux cas, la variable PA/PR permet à elle seule d'obtenir un coefficient de corrélation supérieur à 0,6 entre les données simulées par le modèle et les données que nous avons mesurées.

- Paramétrage du modèle avec les données provenant de plants cultivés en hydroponie stérile puis marqués au $^{14}\text{CO}_2$

Les résultats obtenus sont présentés par la Figure 41.

ρ est égal à $7,9 \times 10^{-6} \text{ kBq.h}^{-1} \cdot \text{N}_a^{-1}$. Ce coefficient de rhizodéposition est significatif et permet d'obtenir une bonne corrélation entre les valeurs de rhizodéposition calculées et les valeurs mesurées ($r^2=0,80$). Le modèle explique donc à 80% les valeurs mesurées.

- Paramétrage du modèle avec les données provenant de plants cultivés en hydroponie stérile sans marquage

Les données utilisées pour ce paramétrage sont issues de l'expérience 2. Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure 42. ρ est égal à $6,3 \times 10^{-4} \mu\text{g C.h}^{-1} \cdot \text{N}_a^{-1}$. Ce coefficient de rhizodéposition est significatif et permet d'obtenir une bonne corrélation entre les valeurs de rhizodéposition calculées et les valeurs mesurées ($r^2=0,71$). Ce modèle simple de rhizodéposition explique donc à plus de 70% les valeurs mesurées.

.III Discussion

A notre connaissance, dans la littérature, peu de travaux portent sur la modélisation de la rhizodéposition en conditions hydroponiques stériles (Jones et Darrah, 1993a). Notre approche reste donc dans ce domaine une approche nouvelle et préliminaire, difficilement confrontable à d'autres données déjà publiées.

A partir de nos données, nous avons élaboré un modèle simple de flux net de composés carbonés solubles libérés par les racines de maïs au stade végétatif, cultivés en hydroponie stérile. D'après nos résultats (Tableau 14), et conformément à la littérature (Boeuf-Tremblay *et al.*, 1995; Groleau-Renaud, 1998), ces composés représentent environ 90 % des rhizodépôts dans ces conditions expérimentales.

Lors du paramétrage de l'Équation 1, l'utilisation du ratio PA/PR montre une corrélation beaucoup plus nette entre les données simulées et les données mesurées que lorsque l'on utilise la variable « concentration en carbone soluble des racines ». Ce résultat va à l'encontre des hypothèses que nous avons formulées à la fin de la synthèse bibliographique, à savoir que :

- la concentration en carbone soluble des racines détermine le flux de rhizodépôts vers le milieu extérieur,
- cette variable intègre à la fois l'allocation des assimilats des parties aériennes aux racines et l'activité racinaire.

Une hypothèse peut être formulée pour expliquer ce résultat : l'analyse de la concentration en carbone soluble est effectuée uniquement à la récolte, sur une aliquote de racine. De plus, elle est mesurée sur l'ensemble du système racinaire, sans prendre en compte de façon spécifique la concentration au niveau des apex. Enfin, l'ensemble des composés solubles est analysé. Ces composés, extraits par l'alcool à 80°, sont essentiellement constitués d'oses, d'holosides à petites molécules et de certains polyholosides (ce que l'on appelle communément les sucres solubles), mais ils comportent également des acides aminés libres, des peptides, des tanins, des gommes et des pigments qui peuvent ne pas diffuser dans la rhizosphère (Castelan-Estrada, 2001). Par conséquent, les données obtenues peuvent masquer l'effet réel de cette variable sur la rhizodéposition. Le rapport PA/PR, qui intègre la répartition des assimilats sur l'ensemble de la culture, constitue par conséquent une variable plus appropriée pour rendre compte de l'allocation carbonée aux racines dans nos conditions expérimentales.

Les résultats que nous avons obtenus avec ou sans marquage montrent que la libération des rhizodépôts solubles du maïs cultivé en hydroponie stérile peut être modélisée à l'aide d'une équation simple faisant intervenir :

- l'allocation des assimilats aux racines, comme la quantité de radioactivité attribuée au compartiment souterrain et le rapport PA/PR,
- la morphologie du système racinaire (longueur, surface et volume total, ainsi que le nombre d'apex).

Ce résultat apporte une information complémentaire au modèle élaboré par Jones et Darrah (Jones et Darrah, 1993a), pour qui le flux de composés solubles dans la solution nutritive dépend d'un coefficient de sécrétion indépendant de l'allocation carbonée aux racines. Ainsi, la libération de rhizodépôts solubles par le système racinaire augmente proportionnellement au rapport PA/PR.

L'introduction de la variable « nombre d'apex » dans l'Équation 1 améliore le coefficient de corrélation entre les données de rhizodéposition simulées par le modèle et les données réelles. Comme de fortes corrélations existent entre les variables morphologiques des racines, le modèle de rhizodéposition reste valide si l'on substitue par exemple le nombre d'apex par la surface des racines ($\rho=0,088 \mu\text{g C.h}^{-1}.\text{cm}^{-2}$, $r^2=0,78$).

Le rôle tampon des réserves racinaires est implicitement pris en compte dans l'expérience 2 puisque l'étude de la cinétique de rhizodéposition est effectuée sans marquage préalable des photoassimilats récents. Néanmoins, dans le cadre de nos expériences, nous travaillons sur du maïs dont les racines ont peu de réserves carbonées (Tableau 16), la fourniture en assimilats par les parties aériennes constitue la principale source de carbone des racines. Qu'en est-il des plantes dont les réserves racinaires sont plus importantes ?

Notre approche devra être complétée par une démarche plus mécaniste permettant d'élaborer un modèle déterministe de rhizodéposition carbonée, comme la quantification des efflux et des influx de composés, leur origine métabolique et leur processus de libération (diffusion, sécrétion...). Dans cet objectif, il est notamment nécessaire de hiérarchiser l'importance des variables du modèle. Pour cela, il serait donc utile d'étudier différentes plantes à la morphologie et au mode d'allocation divergents. Des plantes qui allouent plus ou moins d'assimilats aux racines ou des plantes qui, pour une allocation aux racines équivalente, ont une morphologie racinaire différente permettraient de déterminer dans quelle mesure chaque variable de l'équation est impliquée dans les processus de rhizodéposition. Est-ce la croissance et la morphologie racinaire ? Inversement, les parties aériennes sont-elles le principal facteur intervenant sur l'allocation des assimilats aux racines et sur la rhizodéposition ?

.IV Conclusion

La libération de composés solubles du maïs au stade végétatif, cultivé en conditions hydroponiques stériles, est modélisée par une équation simple faisant intervenir deux variables :

- la quantité d'assimilats fournie par les parties aériennes aux racines, traduit par le ratio PA/PR, ainsi que
- la morphologie racinaire (nombre d'apex ou surface racinaire)

Ce modèle, déterminé à partir des données que nous avons obtenues, doit être considéré comme une démarche préliminaire. En effet, nos résultats mettent en évidence de nombreuses interactions entre les variables racinaires, ce qui ne permet pas de conclure sur l'importance de chaque variable étudiée dans les processus de rhizodéposition.

Afin de déterminer les mécanismes potentiels de la rhizodéposition, et d'observer dans quelle mesure chaque variable de l'équation y est impliquée, il est nécessaire d'approfondir cette démarche. Un des moyens pour y parvenir serait d'étudier des plantes qui allouent plus ou moins d'assimilats aux racines ou qui, pour une allocation aux racines équivalente, ont une morphologie racinaire contrastée.

Conclusions générales et perspectives

Les racines vivantes libèrent dans la rhizosphère des composés organiques. Cet efflux peut représenter de 5 à 40% de l'assimilation nette de C par la photosynthèse. Il est à l'origine de multiples interactions entre la plante, le sol et les micro-organismes du sol. Malgré l'intensification des recherches sur la rhizodéposition depuis les années 1950, les mécanismes de libération du carbone dans le sol ainsi que leur régulation restent encore à élucider.

Dans ce contexte, nous avons centré notre travail sur l'étude des variables qui régissent la rhizodéposition, car leur identification est primordiale pour comprendre et maîtriser la rhizodéposition. Pour mettre en évidence ces variables, nous avons étudié la rhizodéposition de plants de maïs au stade végétatif. Dans ces conditions, les rhizodépôts sont essentiellement des rhizodépôts solubles constitués d'exsudats et de mucilages. L'exsudation étant une diffusion passive entre le cytoplasme des cellules racinaires et la solution du sol, elle serait directement liée à la concentration en carbone soluble des racines. Comme les racines de maïs sont pauvres en réserves, nous pouvons donc supposer que l'exsudation de jeunes plants de maïs est principalement corrélée à l'approvisionnement en substrats carbonés des racines. De plus, la concentration en carbone soluble des cellules est, d'après la littérature, très élevée dans la zone de déchargement du phloème, située au niveau des apex racinaires, comme la sécrétion des mucilages.

Notre travail s'est par conséquent focalisé sur la relation entre la rhizodéposition et deux types de variables :

- des variables qui rendent compte de l'approvisionnement en substrats carbonés des racines, et
- des variables morphologiques du système racinaire, et en particulier le nombre d'apex.

Pour établir la relation entre la fourniture de carbone aux racines et la rhizodéposition, nous avons mis au point une méthode de destruction partielle des vaisseaux de phloème de la tige de maïs. Cette méthode s'est avérée être un moyen efficace pour réduire la fourniture en assimilats des racines sans modifier la taille du système racinaire et le fonctionnement de la plante. Nous avons couplé cette technique à un marquage des parties aériennes au ^{14}C pour

tracer les assimilats le système plante/sol. Cette étude montre que la quantité de résidus marqués retrouvés dans le sol après 48 heures de chasse est proportionnelle à la quantité d'assimilats allouée au compartiment souterrain, et à celle qui est retrouvée dans les racines. De même, des expérimentations réalisées en conditions hydroponiques stériles montrent une bonne corrélation entre la quantité nette de rhizodépôts marqués retrouvés dans la solution nutritive et la quantité d'assimilats allouée au compartiment souterrain, et notamment aux racines (structures racinaires et respiration des racines). *La rhizodéposition est donc dépendante de la fourniture en assimilats récents des racines par les parties aériennes.*

Dans l'objectif de relier la rhizodéposition et les variables morphologiques du système racinaire, une série d'expérimentations a été réalisée sur des plants de maïs cultivés en hydroponie stérile. *Les résultats obtenus confirment que les rhizodépôts solubles constituent la majeure partie des rhizodépôts au stade considéré.* Dans tous les cas, les variables étudiées sont fortement interdépendantes. Ainsi, le nombre d'apex est corrélé à la longueur, à la surface et au volume total des racines. Ces interactions ne permettent pas d'affirmer que les apex sont des sites privilégiés de rhizodéposition. De plus, aucune corrélation n'est observée entre la concentration en composés solubles des racines et le flux net de rhizodépôts solubles dans la solution nutritive. Ce résultat peut être dû à une grande variabilité des valeurs de composés solubles des racines, dosés pendant la récolte, à partir d'une aliquote de l'ensemble des racines. Pour tester cette hypothèse, il serait intéressant de comparer la quantité et la composition des composés solubles des apex racinaires aux rhizodépôts solubles.

Afin de synthétiser l'ensemble des données obtenues, un modèle simple est utilisé pour simuler la libération de rhizodépôts solubles de jeunes plants de maïs cultivés en hydroponie stérile. Ce modèle se base sur nos hypothèses de départ, à savoir une libération de carbone par les racines dépendante à la fois de l'allocation de carbone aux racines et du nombre d'apex du système racinaire. Le ratio PA/PR, qui rend compte de la répartition des assimilats entre les parties aériennes, apparaît comme la variable la plus adaptée pour modéliser la rhizodéposition dans nos conditions expérimentales.

Une variable morphologique du système racinaire, comme le nombre d'apex permet d'apporter une information complémentaire lors de la modélisation de la rhizodéposition à partir de nos données.

Par conséquent, la libération de composés solubles par les racines dépendrait à la fois de la répartition carbonée dans la plante (ratio PA/PR) et de la morphologie racinaire.

A l'aune des résultats obtenus, il est nécessaire de poursuivre cette démarche pour approfondir les résultats obtenus. Il serait utile de conduire ces nouvelles expérimentations sur des plantes de différents stades phénologiques, notamment sur des plantes plus âgées, puisque les plantes utilisées dans nos expérimentations sont jeunes.

Les perspectives proposées concernent l'étude de la rhizodéposition au niveau de la plante entière, au niveau du système racinaire, et au niveau de la racine.

A l'échelle de la plante entière, l'étude du ratio PA/PR, et plus particulièrement de l'importance des parties aériennes dans l'allocation des assimilats aux racines, est nécessaire pour comprendre pourquoi le rapport PA/PR permet de bien modéliser la rhizodéposition, contrairement à la concentration en carbone soluble des racines. Il est essentiel de mettre en évidence quel contrôle exercent les parties aériennes sur l'allocation des assimilats aux racines, et par conséquent sur la rhizodéposition. Un des moyens pourrait être de moduler la surface foliaire, mesurer la quantité de carbone fixé et celle exportée vers les racines puis vers la rhizosphère.

La démarche au niveau du système racinaire consistera à découpler les variables morphologiques des racines. Pour cela, il nous semble nécessaire d'étudier la rhizodéposition de plantes qui ont des morphologies racinaires contrastées. A quantité d'assimilats alloués égale, la morphologie des racines joue-t-elle un rôle important dans les processus de rhizodéposition ? Les apex sont-ils un site privilégié de rhizodéposition ? Pour répondre à ces questions, nous proposons d'exploiter la variabilité génétique, notamment en utilisant des maïs qui présentent une morphologie racinaire différente (plus ou moins de ramification par exemple). Une autre piste pour moduler la morphologie racinaire serait de soumettre la plante à différents statuts azotés ou à une contrainte mécanique. Néanmoins, l'ensemble de ces facteurs agit aussi sur l'assimilation et la répartition du carbone dans la plante, ce qui complexifie l'étude.

Il est également nécessaire d'étudier le rôle des réserves carbonées des racines et plus généralement de la plante dans les processus de rhizodéposition. En effet, la contribution de ces réserves au flux de rhizodéposition reste largement méconnue alors qu'elle est potentiellement importante pour les plantes pluriannuelles (régime de défoliation, cycles nycthémeraux et saisonniers).

Une démarche à l'échelle de la racine est également nécessaire. Il est essentiel d'analyser la concentration et la composition des composés solubles au niveau des apex racinaires pour évaluer l'importance de cette variable dans la rhizodéposition. Pour analyser la corrélation entre les composés solubles racinaires et la rhizodéposition, l'utilisation de mutants qui surexpriment ou sousexpriment des transporteurs de composés carbonés solubles à l'intérieur des racines, comme les transporteurs de sucres par exemple, serait intéressante. Le carbone pourrait être dosé directement ou à l'aide de bactéries génétiquement modifiées (biosenseurs) capables de quantifier et localiser un ou plusieurs rhizodépôts à proximité des racines.

Cette démarche contribue à la compréhension et à la modélisation de la rhizodéposition. L'objectif à terme est de manipuler la rhizodéposition carbonée de plantes aux modes d'allocation et aux morphologies racinaires différents, afin de moduler les flux de rhizodépôts en quantité et en qualité et par conséquent agir sur le fonctionnement de la rhizosphère.

Références bibliographiques

- Anten, N. P. R., et Ackerly, D. D. 2001. Canopy-level photosynthetic compensation after defoliation in a tropical understorey palm. *Functional Ecology* 15:252-262.
- Aulakh, M. S., Wassmann, R., Bueno, C., Kreuzwieser, J., et Rennenberg, H. 2001. Characterization of root exudates at different growth stages of ten rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Plant Biology* 3:139-148.
- Avice, J. C., Ourry, A., Lemaire, G., Volenec, J. J., et Boucaud, J. 1997. Root protein and vegetative storage protein are key organic nutrients for alfalfa shoot regrowth. *Crop Science* 37:1187-1193.
- Bacic, A., Moody, S. F., et Clarke, A. E. 1986. Structural analysis of secreted root slime from maize (*Zea mays* L.). *Plant Physiology* 80:771-777.
- Balesdent, J., et Balabane, M. 1992. Maize root-derived soil organic carbon estimated by natural ^{13}C abundance. *Soil Biology and Biochemistry* 24:97-101.
- Baligar, V. C., Fageria, N. K., et Elrashidi, M. A. 1998. Toxicity and nutrient constraints on root growth. *Hortscience* 33:960-965.
- Bally, R., Heulin, T., et Lemanceau, P. 1999. Les microbes et le cultivateur. *Biofutur* 1999:17-19.
- Barber, D. A., et Gunn, K. B. 1974. The effect of mechanical forces on the exudation of organic substances by the roots of cereal plants grown under sterile conditions. *New Phytol.* 73:39-45.
- Barber, D. A., et Martin, J. K. 1976. The release of organic substances by cereal roots into soil. *New Phytol.* 76:69-80.
- Barber, D. A., et Lynch, J. M. 1977. Microbial growth in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry* 9:305-308.
- Barloy, J. 1984. Phase germination, levée et implantation, p. 13-48, In Gallais, A. (ed.). *Physiologie du maïs*, Royan. INRA.
- Baudoin, E., Benizri, E., et Guckert, A. 2001. Metabolic fingerprint of microbial communities from distinct maize rhizosphere compartments. *Eur. J. Soil Biol.* 37:85-93.
- Benizri, E., Courtade, A., et Guckert, A. 1995. Fate of two microorganisms in maize simulated rhizosphere under hydroponic and sterile conditions. *Soil Biology and Biochemistry* 27:71-77.
- Benizri, E., Baudoin, E., Dibattista-Leboeuf, C., et Guckert, A. 2001. Des bactéries pour la santé des plantes. *Biofutur* 210:52-55.
- Benizri, E., Dedourge, O., Dibattista-Leboeuf, C., Piutti, S., Nguyen, C., et Guckert, A. 2002. Effect of maize rhizodeposits on soil microbial community structure. *Applied Soil Ecology* 21:261-265.
- Benoit, P., Choné, T., et Barriuso, E. 1994. On-line measurement of total and ^{14}C of ^{14}C -labelled organic matter. *Soil Biology and Biochemistry* 26:407-411.
- Bertin, N. 1995. Competition for assimilates and fruit position affect fruit set in indeterminate greenhouse tomato. *Annals of Botany* 75:55-65.
- Billès, G., Rouhier, H., et Bottner, P. 1993. Modifications of the carbon and nitrogen allocations in the plant (*Triticum aestivum* L.) soil system in response to increased atmospheric CO_2 concentration. *Plant and Soil* 157:215-225.

- Boeuf, V., Plantureux, S., et Guckert, A. 1993. Mechanical constraint and organic matter losses of young maize roots under sterile conditions, p. 325-330, *In* Cook, H. F. et Lee, H. C., eds. *Soil management in sustainable agriculture*. Wye college press, London.
- Boeuf-Tremblay, V., Plantureux, S., et Guckert, A. 1995. Influence of mechanical impedance on root exudation of maize seedlings at two development stages. *Plant and Soil* 172:279-287.
- Bottner, P., Pansu, M., et Sallih, Z. 1999. Modelling the effect of active roots on soil organic matter turnover. *Plant and Soil* 216:15-25.
- Bowen, G. D., et Rovira, A. D. 1973. Are modelling approaches useful in rhizosphere biology. *Bull. Ecol. Res. Comm. Stockholm* 17:443-450.
- Bret-Harte, M. S., et Silk, W. K. 1994. Fluxes and deposition rates of solutes in growing roots of *Zea mays*. *Journal of Experimental Botany* 45:1733-1742.
- Brouwer, R. 1962. Distribution of dry matter in the plant. *Neth. J. Agric. Sci.* 10:361-376.
- Buée, M., Rossignol, M., Jauneau, A., Ranjeva, R., et Becard, G. 2000. The pre-symbiotic growth of arbuscular mycorrhizal fungi is induced by a branching factor partially purified from plant root exudates. *Molecular Plant Microbe Interactions* 13:693-698.
- Bush, D. R., Chiou, T. J., et Chen, L. S. 1996. Molecular analysis of plant sugar and amino acid transporters. *Journal of Experimental Botany* 47:1205-1210.
- Buyanovsky, G. A., Kremer, R. J., Gajda, A. M., et Kazemi, H. V. 1995. Effect of corn plants and rhizosphere populations on pesticide degradation. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 55:689-696.
- Castelan-Estrada, M. 2001. Répartition de la biomasse chez *Vitis vinifera* L.: rendement de conversion du rayonnement solaire global et coûts énergétiques, Thèse soutenue à l'Institut National Agronomique Paris-Grignon, Paris.
- Cechin, I. 1998. Photosynthesis and chlorophyll fluorescence in two hybrids of sorghum under different nitrogen and water regimes. *Photosynthetica* 35:233-240.
- Chaboud, A. 1983. Isolation, purification and chemical composition of maize root cap slime. *Plant and Soil* 73:395-402.
- Chaboud, A., et Rougier, M. 1981. Sécrétions racinaires mucilagineuses et rôle dans la rhizosphère. *Année Biologique* 20:313-326.
- Chaboud, A., et Rougier, M. 1991. Effect of root density in incubation medium on root exudate composition of axenic maize seedlings. *Journal of Plant Physiology* 137:602-606.
- Chaussod, R., Houot, S., Guiraud, D., et Hetier, J. M. 1988. Size and turn-over of the microbial biomass in agricultural soils: laboratory and field measurements, p. 312-326, *In* Jenkinson, D. S. et Smith, K. A., eds. *Nitrogen efficiency in agricultural soils*. Elsevier, Amsterdam.
- Cheng, W., Coleman, D. C., Caroll, C. R., et Hoffman, C. A. 1993. *In situ* measurement of root respiration and soluble C concentration in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry* 25:1189-1196.
- Cheng, W., Sims, D. A., Luo, Y., Johnson, D. W., Ball, J. T., et Coleman, J. S. 2000. Carbon budgeting in plant-soil mesocosms under elevated CO₂: locally missing carbon? *Global Change Biology* 6:99-109.
- Coleman, D. C., Cole, C. V., Hunt, H. W., et Klein, D. A. 1978. Trophic interactions in soil as they affect energy and nutrient dynamics. I. Introduction. *Microbial Ecology* 4:345-349.

- Cooper, C. S., et Mac Donald, P. W. 1970. Energetics of early seedlings growth in corn (*Zea mays* L.). *Crop Science* 10:136-139.
- Cortez, J., et Billes, G. 1982. Rôle des ions calcium dans la formation du mucigel de *Zea mays*. *Acta Ecologica / Ecologica Plantarum* 3:67-78.
- Cralle, H. T., et Heichel, G. H. 1985. Interorgan photosynthate partitioning in alfalfa. *Plant Physiology* 79:381-385.
- Curl, E. A., et Truelove, B. 1986. The Rhizosphere. Advanced series in Agricultural Science 15 Springer Verlag, Berlin.
- Czarnes, S., Hallett, P. D., Bengough, A. G., et Young, I. M. 2000. Root- and microbial-derived mucilages affect soil structure and water transport. *European Journal of Soil Science* 51:435-443.
- Darrah, P. R. 1991a. Models of the rhizosphere. II. A quasi three-dimensional simulation of the microbial population dynamics around a growing root releasing soluble exudates dès leur arrivée dans le sol. *Plant and Soil* 138:147-158.
- Darrah, P. R. 1991b. Models of the rhizosphere. I. Microbial population dynamics around a root releasing soluble and insoluble carbon. *Plant and Soil* 138:187-199.
- Darrah, P. R., et Staunton, S. 2000. A mathematical model of root uptake of cations incorporating root turnover, distribution within the plant, and recycling of absorbed species. *European Journal of Soil Science* 51:643-653.
- Darrah, P. R., et Roose, T. 2001. Modeling the rhizosphere, p. 327-372, In Pinton, R., et al., eds. *The rhizosphere*. Dekker, M., New York.
- Darwent, M. J., Paterson, E., McDonald, A. J. S., et Tomos, A. D. 2003. Biosensor reporting of root exudation from *Hordeum vulgare* in relation to shoot nitrate concentration. *Journal of Experimental Botany* 381:325-334.
- Davidson, R. L. 1969. Effect of root/leaf temperature differentials on root/shoot ratios in some pasture grasses and clover. *Annals of Botany* 33:361-369.
- Debelle, F., Moulin, L., Mangin, B., Denarie, J., et Boivin, C. 2001. Nod Genes and Nod signals and the evolution of the rhizobium legume symbiosis. *Acta Biochimica Polonica* 48:359-365.
- Dekker, J. H., et Chandler, K. 1985. Herbicide effect on the viability of quackgrass (*Agropyron repens*) rhizome buds. *Canadian Journal of Plant Science* 65:1057-1064.
- Deleens, E., Cliquet, J. B., et Prioul, J. L. 1994. Use of C-13 and N-15 plant label near natural-abundance for monitoring carbon and nitrogen partitioning. *Australian Journal of Plant Physiology* 21:133-146.
- Deleuze, C. 1996. Pour une dendrométrie fonctionnelle: essai sur l'intégration de connaissances écophysiologiques dans les modèles de production ligneuse, Université de Lyon 1, Lyon.
- Derner, J. D., Polley, H. W., Johnson, H. B., et Tischler, C. R. 2001. Root system response of C₄ grass seedlings to CO₂ and soil water. *Plant and Soil* 231:97-104.
- Dinkelaker, B., Hengeler, C., Neumann, G., Eltrop, L., et Marschner, H. 1997. Root exudates and mobilization of nutrients, p. 441-442, In Rennenberg, H., et al., eds. *Trees - Contributions to modern tree physiology*. Backhuys, Leiden.
- Einhelling, F. A., Rasmussen, J. A., Hejl, A. M., et Souza, I. F. 1993. Effects of root exudate sorgoleone on photosynthesis. *Journal of Chemical Ecology* 19:369-375.

- Erickson, L. E., Banks, M. K., Davis, L. C., Schwab, A. P., Muralidharan, N., et Reilley, K. 1994. Using vegetation to enhance in situ bioremediation. *Environmental Progress* 13:226-231.
- Fan, T. W. M., Lane, A. N., Shenker, M., Bartley, J. P., Crowley, D., et Higashi, R. M. 2001. Comprehensive chemical profiling of gramineous plant root exudates using high-resolution NMR and MS. *Phytochemistry* 57:209-221.
- Fang, C., Radosevich, M., et Fuhrmann, J. J. 2001a. Atrazine and phenanthrene degradation in grass rhizosphere soil. *Soil Biology and Biochemistry* 33:671-678.
- Fang, C., Radosevich, M., et Fuhrmann, J. J. 2001b. Characterization of rhizosphere microbial community structure in five similar grass species using FAME and BIOLOG analyses. *Soil Biology and Biochemistry* 33:679-682.
- Farrar, J. F. 1985. Fluxes of carbon in roots of barley plants. *New Phytol.* 99:57-69.
- Farrar, J. F., et Jones, D. L. 2000. The control of carbon acquisition by roots. *New Phytol.* 147:43-53.
- Farrar, J. F., Minchin, P. E. H., et Thorpe, M. R. 1995. Carbon import into barley roots: effects of sugars and relation to cell expansion. *Journal of Experimental Botany* 46:1859-1865.
- Fisher, D. B., et Cash-Clark, C. E. 2000. Sieve tube unloading and post-phloem transport of fluorescent tracers and proteins injected into sieve tubes via severed aphid stylets. *Plant Physiology* 123:125-137.
- Foster, R. C. 1982. The fine structure of epidermal cell mucilages of roots. *New Phytol.* 91:727-740.
- Gamalei, Y. V. 2002. Assimilate transport and partitioning in plants: approaches, methods, and facets of research. *Russian Journal of Plant Physiology* 49:22-39.
- Geiger, D. R., Servaites, J. C., et Fuchs, M. A. 2000. Role of starch in carbon translocation and partitioning at the plant level. *Australian Journal of Plant Physiology* 27:571-582.
- Gifford, R. M., Barrett, D. J., et Lutze, J. L. 2000. The effects of elevated [CO₂] on the C:N and C:P mass ratios of plant tissues. *Plant and Soil* 224:1-14.
- Glimskär, A. 2000. Estimates of root system topology of five plant species grown at steady-state nutrition. *Plant and Soil* 227:249-256.
- Granssee, A., et Wittenmayer, L. 2000. Qualitative and quantitative analysis of water-soluble root exudates in relation to plant species and development. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 163:381-385.
- Grayston, S. J., Vanghan, D., et Jones, D. 1996. Rhizosphere carbon flow in trees, in comparison with annual plants: the importance of root exudation and its impact on microbial activity and nutrient availability. *Applied Soil Ecology* 5:29-56.
- Grayston, S. J., Campbell, C. D., Lutze, J. L., et Gifford, R. M. 1998. Impact of elevated CO₂ on the metabolic diversity of microbial communities in N-limited grass swards. *Plant and Soil* 203:289-300.
- Gregory, P. J., et Atwell, B. J. 1991. The fate of carbon in pulse-labelled crops of barley and wheat. *Plant and Soil* 136:205-213.
- Griffin, G. J., Hale, M. G., et Shay, F. J. 1976. Nature and quantity of sloughed organic matter produced by roots of axenic plants. *Soil Biology and Biochemistry* 8:29-32.
- Grodzinski, B., Jiao, J., et Leonardos, E. D. 1998. Estimating photosynthesis and concurrent export rates in C₃ and C₄ species at ambient and elevated CO₂. *Plant Physiology* 117:207-215.

- Groleau-Renaud, V. 1998. Contrainte mécanique et exsudation racinaire du maïs : incidence de la morphologie du système racinaire, Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy.
- Guckert, A., Breich, H., et Reisinger, O. 1975. Interface sol-racine. I. Etude au microscope électronique des relations mucigel-argile-microorganismes. *Soil Biology and Biochemistry* 7:241-250.
- Guckert, A., Breich, H., et Reisinger, O. 1992. Bedeutung der pflanzenwurzeln und ihrer ausscheidungen als quellen organischer stoffe im boden, In Parey, P., ed. *Humushaushalt*. Verlag, Berlin.
- Hale, M. G., et Moore, L. D. 1979. Factors affecting root exudation II: 1970-1978. *Advances in Agronomy* 31:93-124.
- Harper, J. L. 1977. Population biology of plants Academic Press, London.
- Helal, H. M., et Sauerbeck, D. R. 1989. Carbon turnover in the rhizosphere. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde* 152:211-216.
- Helal, H. M., et Sauerbeck, D. R. 1991. Short term determination of the actual respiration rate of intact plant roots, p. 88-92, In McMichael, B. L. et Persson, H., eds. *Plant roots and their environment*. Elsevier, Amsterdam.
- Hiltner, L. 1904. Über neuere erfahrungen and probleme auf dem gebiet der bodenbakteriologie unter besonderer berücksichtigung der gründung und brache. *Arbeiten der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft* 98:59-78.
- Hoagland, D. R., et Arnon, I. R. 1950. The water culture method for growing plants without soil University of california experimental station circular.
- Hodge, A., Grayston, S. J., et Ord, B. G. 1996. A novel method for characterisation and quantification of plant root exudates. *Plant and Soil* 184:1-8.
- Hodge, A., Paterson, E., Thornton, B., Millard, P., et Killham, K. 1997. Effects of photon flux density on carbon partitioning and rhizosphere carbon flow of *Lolium perenne*. *Journal of Experimental Botany* 48:1797-1805.
- Högborg, P., Nordgren, A., et Agren, G. I. 2002. Carbon allocation between tree root growth and root respiration in boreal pine forest. *Oecologia* 132:579-581.
- Högborg, P., Nordgren, A., Buchmann, N., Taylor, A. F. S., Ekblad, A., Hogberg, M. N., Nyberg, G., Ottosson-Lofvenius, M., et Read, D. J. 2001. Large-scale forest girdling shows that current photosynthesis drives soil respiration. *Nature* 411:789-792.
- Hogh-Jensen, H., et Schjoerring, J. K. 2001. Rhizodeposition of nitrogen by red clover, white clover and ryegrass leys. *Soil Biology and Biochemistry* 33:439-448.
- Iijima, M., Griffiths, B. S., et Bengough, A. G. 2000. Sloughing of cap cells and carbon exudation from maize seedling roots in compacted sand. *New Phytol.* 145:477-482.
- Ingestad, T. 1977. Nitrogen and plant growth: maximum efficiency of nitrogen fertilizers. *Ambio* 6:146-151.
- Jastrow, J. D., Miller, R. M., et Owensby, C. E. 2000. Long-term effects of elevated atmospheric CO₂ on below-ground biomass and transformations to soil organic matter in grassland. *Plant and Soil* 224:85-97.
- Jenny, H., et Grossenbacher, K. 1963. Root-soil boundary zones as seen in the electron microscope. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.* 27:273-277.
- Johansson, G. 1992a. Release of organic C from growing roots of meadow fescue (*Festuca pratensis* L.). *Soil Biology and Biochemistry* 18:445-449.

- Johansson, G. 1992b. Below-ground carbon distribution in barley (*Hordeum vulgare* L.) with and without nitrogen fertilization. *Plant and Soil* 144:93-99.
- Johnen, B. G., et Sauerbeck, D. R. 1977. A tracer technique for measuring growth, mass and microbial breakdown of plant roots during vegetation, p. 366-373, In Lohm, U. et Persson, T., eds. *Soil organisms as components of ecosystems*, Academic Press, London ed, Stockholm.
- Jones, D. D., et Morré, D. J. 1967. Golgi apparatus mediated polysaccharide secretion by outer root cap cells of *Zea mays*. II. Isolation and characterization of the secretory product. *Z. Pflanzenphysiol.* 56.
- Jones, D. L. 1998. Organic acids in the rhizosphere - a critical review. *Plant and Soil* 205:25-44.
- Jones, D. L., et Darrah, P. R. 1992. Re-sorption of organic components by roots of *Zea mays* L. and its consequences in the rhizosphere. I. Re-sorption of ¹⁴C labelled glucose, mannose and citric acid. *Plant and Soil* 143:259-266.
- Jones, D. L., et Darrah, P. R. 1993a. Re-sorption of organic compounds by roots of *Zea mays* L. and its consequences in the rhizosphere. II. Experimental and model evidence for simultaneous exudation and re-sorption of soluble C compounds. *Plant and Soil* 153:47-59.
- Jones, D. L., et Darrah, P. R. 1993b. Influx and efflux of amino acids from *Zea mays* L. roots and their implications for N nutrition and the rhizosphere. *Plant and Soil* 155/156:87-90.
- Jones, D. L., et Darrah, P. R. 1994. Amino-acid influx at the soil-root interface of *Zea mays* L. and its implications in the rhizosphere. *Plant and Soil* 163:1-12.
- Jones, D. L., et Darrah, P. R. 1995. Influx and efflux of organic acids across the soil-root interface of *Zea mays* L. and its implications in rhizosphere C flow. *Plant and Soil* 173:103-109.
- Jones, D. L., et Darrah, P. R. 1996. Re-sorption of organic compounds by roots of *Zea mays* L. and its consequences in the rhizosphere. III. Characteristics of sugar influx and efflux. *Plant and Soil* 178:153-160.
- Jones, D. L., et Edwards, A. C. 1998. Influence of sorption on the biological utilization of two simple carbon substrates. *Soil Biology and Biochemistry* 30:1895-1902.
- Jones, D. L., et Hodge, A. 1999. Biodegradation kinetics and sorption reactions of three differently charged amino acids in soil and their effects on plant organic nitrogen availability. *Soil Biology and Biochemistry* 31:1331-1342.
- Kaiser, K., Kaupenjohann, M., et Zech, W. 2001. Sorption of dissolved organic carbon in soils: effects of soil sample storage, soil-to-solution ratio, and temperature. *Geoderma* 99:317-328.
- Kamh, M., Horst, W. J., Amer, F., et Mostafa, H. 1998. Pflanzenernährung, Wurzeleistung und Exsudation, p. 238-245, In Merbach, W., ed. *Borkheider Seminar zur Okophysiologie des Wurzelraumes*. Teubner, B. G., Stuttgart, Leipzig.
- Keith, H., Oades, J. M., et Martin, J. K. 1986. Input of carbon to soil from wheat plants. *Soil Biology and Biochemistry* 18:445-449.
- Kidd, P. S., Llugany, M., Poschenrieder, C., Günsé, B., et Barcelo, J. 2001. The role of root exudates in aluminium resistance and silicon-induced amelioration of aluminium toxicity in three varieties of maize (*Zea mays* L.). *Journal of Experimental Botany* 52:1339-1352.

- Killham, K., et Yeomans, C. 2001. Rhizosphere carbon flow measurement and implications: from isotopes to reporter genes. *Plant and Soil* 232:91-96.
- Kloepper, J. W., et Schroth, M. N. 1978. Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes, p. 879-882(ed.^eds.). *Proc. 4th Int. Conf. Plant Pathogenic Bacteria*, Angers.
- Korsaeth, A., Molstad, L., et Bakken, L. R. 2001. Modelling the competition for nitrogen between plants and microflora as a function of soil heterogeneity. *Soil Biology and Biochemistry* 33:215-226.
- Krafczyk, I., Trolldenier, G., et Beringer, H. 1984. Soluble root exudates of maize: influence of potassium supply and rhizosphere microorganisms. *Soil Biology and Biochemistry* 16:315-322.
- Kühn, C., Barker, L., Bürkle, L., et Frommer, W. B. 1999. Update on sucrose transport in higher plants. *Journal of Experimental Botany* 50:935-953.
- Kuzyakov, Y., et Domanski, G. 2000. Carbon input by plants into the soil. Review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 163:421-431.
- Kuzyakov, Y., et Cheng, W. 2001. Photosynthesis controls of rhizosphere respiration and organic matter decomposition. *Soil Biology and Biochemistry* 33:1915-1925.
- Kuzyakov, Y., et Domanski, G. 2002. Model for rhizodeposition and CO₂ efflux from planted soil and its validation by C-14 pulse labelling of ryegrass. *Plant and Soil* 239:87-102.
- Lan, M., Comerford, N. B., et Fox, T. R. 1995. Organic anions effect on phosphorus release from spodic horizons. *Soil Science Society of America Journal* 59:1745-1749.
- Lemaire, G., et Millard, P. 1999. An ecophysiological approach to modelling resource fluxes in competing plants. *Journal of Experimental Botany* 50:15-28.
- Lepinat, P. A., Guckert, A., et Breisch, H. 1975. The incorporation of plant root exudates in soil organic matter, p. 169-174(ed.^eds.). *International Symposium Humus and Planta, VI*, Praha.
- Liljeroth, E., Kuikman, P., et Van Veen, J. A. 1994. Carbon translocation to the rhizosphere of maize and wheat and influence on the turnover of native soil organic matter at different soil nitrogen levels. *Plant and Soil* 161:233-240.
- Luo, H. M., Watanabe, T., Shinano, T., et Tadano, T. 1999. Comparison of aluminum tolerance and phosphate absorption between rape (*Brassica napus* L.) and tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill.). *Soil Science and Plant Nutrition* 45:897-907.
- Marcelis, L. F. M. 1996. Sink strength as a determinant of dry matter partitioning in the whole plant. *Journal of Experimental Botany* 47:1281-1291.
- Marchand, A. L., Piutti, S., Lagacherie, B., et Soulas, G. 2002. Atrazine mineralization in bulk soil and maize rhizosphere. *Biology and Fertility of Soils* 35:288-292.
- Marschner, P., Yang, C. H., Lieberei, R., et Crowley, D. E. 2001. Soil and plant specific effects on bacterial community composition in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry* 33:1437-1445.
- Mary, B., Fresneau, C., Morel, J. L., et Mariotti, A. 1993. C and N cycling during decomposition of root mucilage, roots and glucose in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 25:1005-1014.
- Mataa, M., Tominaga, S., et Kozaki, I. 1998. The effect of time of girdling on carbohydrate contents and fruiting in Ponkan mandarin (*Citrus reticulata* Blanco). *Scientia Horticulturae* 73:203-211.

- Matamala, R.** 1999. The influence of atmospheric CO₂ enrichment on plant-soil nitrogen interactions in a wetland plant community on the Chesapeake Bay. *Plant and Soil* 210:93-101.
- Matt, P., Schurr, U., Klein, D., Krapp, A., et Stitt, M.** 1998. Growth of tobacco in short-day conditions leads to high starch, low sugars, altered diurnal changes in the *Nia* transcript and low nitrate reductase activity, and inhibition of amino acid synthesis. *Planta* 207:27-41.
- McCully, M. E., et Canny, M. J.** 1985. Localization of translocated ¹⁴C in roots and exudates of field grown maize. *Physiologia Plantarum* 65:380-392.
- McCully, M. E., et Boyer, J. S.** 1997. The expansion of maize root-cap mucilage during hydration. 3. Changes in water potential and water content. *Physiologia Plantarum* 99:169-177.
- McDougall, B. M., et Rovira, A. D.** 1970. Sites of exudation of ¹⁴C-labelled compounds from wheat roots. *New Phytol.* 69:999-1003.
- Meharg, A. A., et Killham, K.** 1990. Carbon distribution within the plant and rhizosphere in laboratory and field grown *Lolium perenne* at different stages of development. *Soil Biology and Biochemistry* 22:471-477.
- Mench, M.** 1985. Exsudats racinaires solubles du maïs. Incidence sur la dynamique des métaux dans la rhizosphère, INPL-ENSAIA, Nancy.
- Merckx, R., Den Hartog, A., et Van Veen, J. A.** 1985. Turnover of root-derived material and related microbial biomass formation in soils of different texture. *Soil Biology and Biochemistry* 17:565-569.
- Minchin, P. E. H., et Thorpe, M. R.** 1993. Sink strength: a misnomer, and best forgotten. *Plant, Cell and Environment* 16:1039-1040.
- Minchin, P. E. H., Thorpe, M. R., et Farrar, J. F.** 1993. A simple mechanistic model of phloem transport which explains sink priority. *Journal of Experimental Botany* 44:947-955.
- Minchin, P. E. H., Farrar, J. F., et Thorpe, M. R.** 1994. Partitioning of carbon in split root systems of barley: effect of temperature of the root. *Journal of Experimental Botany* 45:1103-1109.
- Mohammad, F.** 1997. Effect of nitrogen on carbonic anhydrase activity, stomatal conductance, net photosynthetic rate and yield of mustard. *Photosynthetica* 34:595-598.
- Molina, J. A. E., Clapp, C. E., Linden, D. R., Allmaras, R. R., Layese, M. F., Dowdy, R. H., et Cheng, H. H.** 2001. Modeling the incorporation of corn (*Zea mays* L.) carbon from roots and rhizodeposition into soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry* 33:83-92.
- Moore, B. D., Cheng, S. H., Sims, D. R., et Seeman, J. R.** 1999. The biochemical and molecular basis for photosynthetic acclimation to elevated CO₂. *Plant, Cell and Environment* 22:567-582.
- Morel, J. L.** 1985. Contribution à l'étude des transferts des métaux lourds dans le système sol-plante : rôle des mucilages racinaires, Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy.
- Morel, J. L., Andreux, F., Habib, L., et Guckert, A.** 1987. Comparison of the adsorption of maize root mucilage and polygalacturonic acid on montmorillonite homoionic to divalent lead and cadmium. *Biol. Fertil. Soils* 5:13-17.

- Morel, J. L., Habib, L., Plantureux, S., et Guckert, A. 1991. Influence of maize root mucilage on soil aggregate stability. *Plant and Soil* 136:111-119.
- Nardi, S., Concheri, G., Pizzeghello, D., Sturaro, A., Rella, R., et Parvoli, G. 2000. Soil organic matter mobilization by root exudates. *Chemosphere* 41:653-658.
- Neumann, G., et Römheld, V. 1999. Root excretion of carboxylic acids and protons in phosphorus-deficient plants. *Plant and Soil* 211:121-130.
- Neumann, G., et Römheld, V. 2001. The release of root exudates as affected by the plant's physiological status, p. 41-93, In Pinton, R., et al., eds. *The rhizosphere*. Dekker, M., New York.
- Nguyen, C. 2003. Rhizodeposition of organic C by plant: mechanisms and controls. *Agronomie* 23:1-22.
- Nguyen, C., et Guckert, A. 2001. Short-term utilisation of ^{14}C -[U]glucose by soil microorganisms in relation to carbon availability. *Soil Biology and Biochemistry* 33:53-60.
- Nguyen, C., Todorovic, C., Robin, C., Christophe, A., et Guckert, A. 1999. Continuous monitoring of rhizosphere respiration after labelling of plant shoots with $^{14}\text{CO}_2$. *Plant and Soil* 212:191-201.
- Oades, J. M. 1978. Mucilages at the root surface. *Journal of Soil Science* 29:1-17.
- Osborn, A. M., Lochey, F., Mosley, L., et Read, D. B. 1999. Analysis of polysaccharides and monosaccharides in the root mucilage of maize (*Zea mays* L.) by gas chromatography. *Journal of Chromatography* 831:267-276.
- Paterson, E., et Sim, A. 1999. Rhizodeposition and C-partitioning of *Lolium perenne* in axenic culture affected by nitrogen supply and defoliation. *Plant and Soil* 216:155-164.
- Paterson, E., Ratray, E. A. S., et Killham, K. 1996. Effect of elevated atmospheric CO_2 concentration on C-partitioning and rhizosphere C-flow for three plant species. *Soil Biology and Biochemistry* 28:195-201.
- Paul, E. A., et Warembourg, F. R. 1973. Separation of microbial and root respiration, p. 274, In Rosswall, T., ed. *Modern methods in the study of microbial ecology*, Vol. 17. Bull. Ecol. Res. Comm., Stockholm.
- Paull, R. E., Johnson, C. M., et Russell, L. J. 1975. Studies on the secretion of maize root cap slime. I. Some properties of the secreted polymer. *Plant Physiology* 56:300-306.
- Paynel, F., Murray, P. J., et Cliquet, J. B. 2001. Root exudates: a pathway for short-term N transfer from clover and ryegrass. *Plant and Soil* 229:235-243.
- Pinior, A., Wyss, U., Piché, Y., et Vierheilig, H. 1999. Plants colonized by AM fungi regulate further root colonization by AM fungi through altered root exudation. *Canadian Journal of Botany* 77:891-897.
- Plum, S., et Farrar, J. F. 1996. Carbon partitioning in barley following manipulation of source and sink. *Aspects of Applied Biology* 45:177-180.
- Poorter, H., et Nagel, O. 2000. The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of light, CO_2 , nutrients and water: a quantitative review. *Australian Journal of Plant Physiology* 27:595-607.
- Prioul, J. L. 1996. Corn, p. 549-594, In Zamski, E. et Schaffer, A. A., eds. *Photoassimilate distribution in plants and crops. Source-sink relationships*. Dekker, M., New York.
- Pritchard, J., Winch, S., et Gould, N. 2000. Phloem water relations and root growth. *Australian Journal of Plant Physiology* 27:539-548.

- Quian, J. H., et Doran, J. W. 1996. Available C released from crop roots during growth as determined by C-13 natural abundance. *Soil Science Society of America Journal* 60:828-831.
- Quiquampoix, H., Servagent-Noinville, S., et Baron, M. H. 2001. Enzyme adsorption on soil mineral surfaces and consequences for the catalytic activity. *Plant and Soil* 228: 123-132.
- Raven, P. H., Evert, R. F., et Eichhorn, S. E. 2000. Introduction à la cellule végétale, p. 40-72 *Biologie végétale*. DeBoeck Université, Paris.
- Read, D. B., et Gregory, P. J. 1997. Surface tension and viscosity of axenic maize and lupin root mucilages. *New Phytol.* 137:623-628.
- Read, D. B., Gregory, P. J., et Bell, A. E. 1999. Physical properties of axenic maize root mucilage. *Plant and Soil* 211:87-91.
- Rengel, Z., et Römheld, V. 2000. Root exudation and Fe uptake and transport in wheat genotypes differing in tolerance to Zn deficiency. *Plant and Soil* 222:25-34.
- Robin, C., Choné, T., et Guckert, A. 1987. Rôle de la position de la feuille dans l'assimilation et le transport du carbone chez le trèfle blanc (*Trifolium repens* L.). *Agronomie* 7:191-201.
- Rochette, P., Angers, D. A., et Flanagan, L. B. 1999. Maize residue decomposition measurement using soil surface carbon dioxide fluxes and natural abundance of carbon-13. *Soil Science Society of America Journal* 63:1385-1396.
- Römheld, V., et Awad, F. 2000. Significance of root exudates in acquisition of heavy metals from a contaminated calcareous soil by graminaceous species. *Journal of Plant Nutrition* 23:1857-1866.
- Rougier, M. 1976. Sécrétion de polysaccharides dans l'apex radiculaire de maïs : étude radioautographique par incorporation de fucose tritié. *J. Microsc. Biol. Cell.* 26:161-166.
- Rougier, M. 1981. Secretory activity of the root cap, p. 542-574, In Tanner, B. W. et Loewus, F. A., eds. *Extracellular Carbohydrates, Encyclopedia of Plant Physiol., New Series. Plant Carbohydrates II*, Vol. 13. Springer-Verlag, Berlin.
- Rovira, A. D. 1959. Root excretions in relation to the rhizosphere effect. *Plant and Soil* 11:53-64.
- Rovira, A. D. 1969. Plant root exudate. *Bot. Rev.* 35:35-57.
- Rovira, A. D., Foster, R. C., et Martin, J. K. 1979. Origin, nature and nomenclature of the organic materials in the rhizosphere, p. 1-4, In Harley, J. L. et Russel, R. S., eds. *The soil root interface*. Academic press, London.
- Ryan, M. G., Delhaize, E., et Jones, D. L. 2001. Function and mechanism of organic anion exudation from plant roots. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 52:527-560.
- Samsevich, S. A. 1965. Active excretions of plants roots and their significance. *Sov. Pl. Phys.* 12:731-740.
- Satnam, S., et Sadana, U. S. 2002. Prediction of phosphorus uptake by wheat and its depletion in the rhizosphere using a mechanistic model. *Journal of Plant Nutrition* 25:623-633.
- Savka, M. A., Dessaux, Y., Oger, P., et Rossbach, S. 2002. Engineering bacterial competitiveness and persistence in the phytosphere. *Molecular Plant Microbe Interactions* 15:866-874.

- Schulz, A. 1995. Plasmodesmal widening accompanies the short-term increase in symplasmic unloading of pea root tips under osmotic stress. *Protoplasma* 41:22-37.
- Semenov, A. M., Van Bruggen, A. H. C., et Zelenev, V. V. 1999. Moving waves of bacterial populations and total organic carbon along roots of wheat. *Microbial Ecology* 22:239-247.
- Shamoot, S., McDonald, L., et Bartholomew, W. V. 1968. Rhizodeposition of organic debris in soil. *Soil Science Society of America Proceedings* 32:817-820.
- Siegenthaler, U. 1990. El nino and atmospheric CO₂. *Nature* 345:295-296.
- Singh, S., et Sadana, U. S. 2002. Prediction of phosphorus uptake by wheat and its depletion in the rhizosphere using a mechanistic model. *Journal of Plant Nutrition* 25:623-633.
- Smith, B. N., et Epstein, S. 1971. Two categories of ¹³C/¹²C ratios for higher plants. *Plant Physiology* 47:380-384.
- Smith, F. E. 1951. Tetrazolium salt. *Science* 113:751-754.
- Soldal, T., et Nissen, P. 1978. Multiphasic uptake of amino acids by barley roots. *Physiologia Plantarum* 43:181-188.
- Sprugel, D. G. 1991. The theory and practice of branch autonomy. *Annual Review of Ecology and Systematics* 22:309-334.
- Stitt, M., et Krapp, A. 1999. The interaction between elevated carbon dioxide and nitrogen nutrition: the physiological and molecular background. *Plant, Cell and Environment* 22:583-621.
- Swinnen, J. 1994. Evaluation of the use of a model rhizodeposition technique to separate root and microbial respiration in soil. *Plant and Soil* 165:89-101.
- Swinnen, J., Van Veen, J. A., et Merckx, R. 1994a. Rhizosphere carbon fluxes in field-grown spring wheat: model calculations based on ¹⁴C partitioning after pulse-labelling. *Soil Biology and Biochemistry* 26:171-182.
- Swinnen, J., Van Veen, J. A., et Merckx, R. 1994b. ¹⁴C pulse-labelling of field-grown spring wheat: an evaluation of its use in rhizosphere carbon budget estimations. *Soil Biology and Biochemistry* 26:161-170.
- Thioulouse, J., Chessel, D., Dolédec, S., et Olivier, J. M. 1997. ADE-4: a multivariate analysis and graphical display software. *Statistics and Computing* 7:75-83.
- Thornley, J. H. M. 1998. Modelling shoot:root relations: the only way forward? *Annals of Botany* 81:165-171.
- Toal, M. E., Yeomans, C., Killham, K., et Meharg, A. A. 2000. A review of rhizosphere carbon flow modelling. *Plant and Soil* 222:263-281.
- Todorovic, C. 2000. Dynamique d'utilisation des assimilats carbonés dans la rhizosphère du maïs : étude de la respiration rhizosphérique, ENSAIA-INPL, Nancy.
- Todorovic, C., Nguyen, C., Robin, C., et Guckert, A. 1999. ¹⁴C-assimilate partitioning within white clover plant-soil system: effects of photoperiod/temperature treatments and defoliation. *European Journal of Agronomy* 11:13-21.
- Todorovic, C., Nguyen, C., Robin, C., et Guckert, A. 2001. Root and microbial involvement in the kinetics of ¹⁴C-partitioning to rhizosphere respiration after a pulse-labeling of maize assimilates. *Plant and Soil* 228:179-189.
- Traore, O., Groleau-Renaud, V., Plantureux, S., Tubeileh, A., et Boeuf-Tremblay, V. 2000. Effect of root mucilage and modelled root exudates on soil structure. *European Journal of Soil Science* 51:575-581.

- Tremblay-Boeuf, V.** 1995. Influence des contraintes mécaniques sur l'exsudation racinaire du maïs, Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy.
- Tscherko, D., Kandeler, E., et Jones, T. H.** 2001. Effect of temperature on below-ground N-dynamics in a weedy model ecosystem at ambient and elevated atmospheric CO₂ levels. *Soil Biology and Biochemistry* 33:491-501.
- Turgeon, R.** 2000. Plasmodesmata and solute exchange in the phloem. *Australian Journal of Plant Physiology* 27:521-529.
- Uren, N. C.** 2001. Types, amounts, and possible functions of compounds released into the rhizosphere by soil-grown plants, p. 19-40, *In* Pinton, R., et al., eds. *The rhizosphere*. Dekker, M., New York.
- Uren, N. C., et Reisenauer, H. M.** 1988. The role of root exudates in nutrient acquisition. *Advances in Plant Nutrition* 3:79-114.
- Van Bruggen, A. H. C., Semenov, A. M., et Zelenev, V. V.** 2000. Wavelike distributions of microbial populations along an artificial root moving through soil. *Microbial Ecology* 40:250-259.
- Van der Krift, T. A. J., Kuikman, P., Möller, F., et Berendse, F.** 2001. Plant species and nutritional-mediated control over rhizodeposition and root decomposition. *Plant and Soil* 228:191-200.
- Van Egeraat, A. W.** 1975. Exudation of ninhydrin-positive compounds by pea-seedling roots: a study of the site of exudation and of the composition of the exudate. *Plant and Soil* 42:37-47.
- Vance, E. D., Brookes, P. C., et Jenkinson, D. S.** 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry* 19:703-708.
- Vancura, V., Prikryl, Z., Kalachova, L., et Wurst, M.** 1977. Some quantitative aspects of root exudation, p. 381-386, *In* Lohm, U. et Persson, T. (ed.^eds.). *Soil organisms as components of ecosystems, swedish natural science research council*, Stockholm. Ecological Bulletin.
- Verreynne, J. S., Rabe, E., et Theron, K. I.** 2001. The effect of combined deficit irrigation and summer trunk girdling on the internal fruit quality of 'Marisol' Clementines. *Scientia Horticulturae* 91:25-37.
- Walsh, K. B., Vessey, J. K., et Layzell, D. B.** 1987. Carbohydrate supply and N₂ fixation in soybean. The effect of varied day length and stem girdling. *Plant Physiology* 85:137-144.
- Wann, M., et Raper, C. D.** 1984. A dynamic model for plant growth: validation study under changing temperatures. *Annals of Botany* 53:45-62.
- Wann, M., Raper, C. D., et Lucas, H. L.** 1978. A dynamic model for plant growth: a simulation of dry matter accumulation for tobacco. *Photosynthetica* 12:121-136.
- Wardlaw, I. F.** 1990. The control of carbon partitioning in plants. *New Phytol.* 116:341-381.
- Warembourg, F. R.** 1982. Carbon flow in the plant-soil system: a comprehensive approach, p. 75-80, *In* Cerri, C. C. et Sodrzejewski, D. (ed.^eds.). *Proceedings of the regional colloquium on soil organic matter studies*, Sao Paulo.
- Warembourg, F. R., et Billes, G.** 1979. Estimating carbon transfers in the plant rhizosphere, p. 183-196, *In* Harley, J. L. et Russel, R. S., eds. *The soil-root interface*. Academic Press, London.
- Warembourg, F. R., et Kummerov, J.** 1991. Photosynthesis/translocation studies in terrestrial ecosystems, p. 11-37, *In* Coleman, D. C. et Fry, B., eds. *Carbon isotope techniques*. Academic Press, London.

- Warembourg, F. R., et Estelrich, H. D. 2001. Plant phenology and soil fertility effects on below-ground carbon allocation for an annual (*Bromus madritensis*) and a perennial (*Bromus erectus*) grass species. *Soil Biology and Biochemistry* 33:1291-1303.
- Warren-Wilson, J. 1972. Control of crop processes, In Ap Rees, A. R., et al., eds. *Crop processes in controlled environments*. Academic Press, London.
- Werker, E., et Kislev, M. 1978. Mucilage on the root surface and root hairs of *Sorghum*: heterogeneity in structure, manner of production and site of accumulation. *Annals of Botany* 42:809-816.
- Whipps, J. M. 1985. Effect of CO₂ concentration on growth, carbon distribution and loss of carbon from the roots of maize. *Journal of Experimental Botany* 36:644-651.
- Whipps, J. M. 1987. Carbon loss from the roots of tomato and pea seedlings grown in soil. *Plant and Soil* 103:95-100.
- Whipps, J. M. 1990. Carbon economy, p. 59-97, In Lynch, J. M. et Wiley, J., eds. *The rhizosphere*.
- Whipps, J. M. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany* 52:487-511.
- Wu, J., Joergensen, R. G., Pommerening, B., Chaussod, R., et Brookes, P. C. 1990. Measurement of soil microbial biomass C by fumigation-extraction - an automated procedure. *Soil Biology and Biochemistry* 22:1167-1169.
- Xia, J. H., et Saglio, P. H. 1988. Characterization of the hexose transport system in maize root tips. *Plant Physiology* 88:1015-1020.
- Xu, D. B., Madrid, C. P., Rohr, M., et Kubicek, C. P. 1989. The influence of type and concentration of the carbon source on production of citric acid by *Aspergillus niger*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 30:553-558.
- Yang, Z. M., Sivaguru, M., Horst, W. J., et Matsumoto, H. 2000. Aluminium tolerance is achieved by exudation of citric acid from roots of soybean (*Glycine max*). *Physiologia Plantarum* 110:72-77.
- Yeomans, C., Porteous, F., Paterson, E., Meharg, A. A., et Killham, K. 1999. Assessment of lux-marked *Pseudomonas fluorescens* for reporting on organic carbon compounds. *FEMS Microbiology Letters* 176:79-83.
- Zak, D. R., Pregitzer, K. S., King, J. S., et Holmes, W. E. 2000. Elevated atmospheric CO₂, fine roots and the response of soil microorganisms: a review and hypothesis. *New Phytol.* 147:201-222.
- Zelenev, V. V., Van Bruggen, A. H. C., et Semenov, A. M. 2000. "Bacwave", a spatial-temporal model for traveling waves of bacterial populations in response to a moving carbon source in soil. *Microbial Ecology* 40:260-272.
- Zhang, J., Boone, L., Kocz, R., Zhang, C., Binns, A. N., et Lynn, D. G. 2000. At the maize/*Agrobacterium* interface: natural factors limiting host transformation. *Chemistry & Biology* 7:611-621.
- Zhu, T., Lucas, W. J., et Rost, T. L. 1998. Directional cell-to-cell communication in the *Arabidopsis* root apical meristem. I. An ultrastructural und functional analysis. *Protoplasma* 203:35-47.

Table des illustrations

.I Liste des figures

- Figure 1 : Différents mécanismes impliqués dans la libération des rhizodépôts par les cellules racinaires vivantes, d'après Neumann et Römheld, 2001. ----- 11
- Figure 2 : Représentation simplifiée des sites de production des différentes classes de rhizodépôts le long d'une racine, d'après Rovira *et al.* (1979).----- 14
- Figure 3 : Représentation schématique du système endomembranaire des cellules, d'après Raven *et al.* (2000). ----- 17
- Figure 4 : Organisation de l'opéron *lux* issu de *Vibrio fischeri*. L'opéron contient *luxI* suivi de 5 gènes indispensables pour la production de lumière (*luxCDABE*) et d'un gène additionnel d'une fonction encore inconnue (*luxG*). Les gènes *luxA* et *luxB* codent les sous-unités α et β de la luciférase, respectivement. ----- 21
- Figure 5 : Répartition du carbone marqué dans les différents compartiments du système plante/sol après son assimilation par les parties aériennes, d'après Swinnen (1994). ---- 25
- Figure 6 : Représentation schématique du flux de carbone dans le système plante/solution utilisée pour construire un modèle de rhizodéposition carbonée du maïs au stade végétatif, cultivé en conditions hydroponiques stériles, d'après Jones et Darrah, 1993a. E correspond à une fonction de rhizodéposition et I à une fonction de réabsorption racinaire. Les deux fonctions sont détaillées dans le texte. ----- 37
- Figure 7 : Représentation schématique des compartiments et des flux de carbone entre les compartiments du modèle de Kuzyakov et Domanski (2002). Les paramètres du modèle sont les suivants : *ar* : taux d'assimilation ; *s* : répartition entre parties aériennes et racines ; *sg* : croissance des parties aériennes ; *sr* et *srl* : respiration des parties aériennes ; *exu* : taux d'exsudation ; *exm* : minéralisation des exsudats ; *eh* : humification des exsudats ; *rg* : croissance racinaire ; *rr* : respiration racinaire ; *rm* : minéralisation des racines ; *br* : respiration de la biomasse ; *be* : exsudation de la biomasse ; *hm* : minéralisation de l'humus. ----- 41
- Figure 8 : Schéma synthétique représentant le déchargement du phloème dans une racine. Dans les tissus racinaires, les solutés passent des cellules compagnes au parenchyme

essentiellement par voie symplasmique (à travers les plasmodesmes A). Les solutés peuvent aussi être déchargés via l'apoplasme (B). Au niveau des ramifications et des apex, les cellules compagnes et celles du phloème ne sont pas encore définitivement formées. Par conséquent, le déchargement s'effectue de façon passive dans le parenchyme. -----44

Figure 9 : Modèle d'allocation de substrats carbonés et azotés aux parties aériennes (PA) et aux racines, d'après Thornley (1998). Les résistances au transport du carbone et de l'azote dans les PA et les racines sont représentées par r_{PA} et $r_{racines}$ respectivement. Le transport du carbone est égal à la différence de concentration entre les PA et les racines, divisée par la somme des résistances relatives aux PA et aux racines. -----49

Figure 10 : Représentation schématique simplifiée de nos hypothèses de travail. La rhizodéposition serait corrélée à la morphologie racinaire, et notamment au nombre d'apex. En effet, c'est à ce niveau que la concentration en carbone soluble des cellules semble être la plus élevée. La diffusion y serait donc importante. De plus, l'activité métabolique des racines est également très importante à l'extrémité des racines. La sécrétion de mucilage, corrélée à cette activité, serait donc favorisée. -----56

Figure 11 : Répartition des grains de maïs en fonction de leur masse. Une courbe de Gauss de type $y = a \times \exp[-(x-b)^2/2c^2]$ est ajustée sur les points obtenus (les constantes de la courbe sont $a=42,7$; $b=0,29$ et $c=0,027$; $r^2=0,92$). -----59

Figure 12 : Dispositif de culture en sol pour le marquage des assimilats au ^{14}C . Les références sont expliquées dans le texte. -----59

Figure 13 : Dispositif de culture hydroponique des maïs au stade végétatif (4 ou 6 feuilles visibles), cultivés dans des tubes en verre remplis de billes. Ce dispositif est mis en place pour suivre la cinétique de rhizodéposition. Les références sont expliquées dans le texte. -----61

Figure 14 : Dispositif de culture hydroponique des maïs dans des pots en verre d'1L remplis de billes de verre. Ce dispositif est mis en place pour marquer les assimilats au ^{14}C après différents temps de culture. Les références sont expliquées dans le texte. -----64

Figure 15 : Dispositif utilisé pour appliquer un jet de vapeur sur les tiges de maïs. Ce dispositif est constitué d'un erlen en verre contenant de l'eau distillée (1) posé sur une plaque chauffante (2). Lorsque l'eau bout, la vapeur est canalisée par un tuyau de silicone (3) et un embout de pipette (4) pour être appliquée sur la tige. Le diamètre de

l'embout de sortie est d'1 mm. Une valve de sécurité (5) s'ouvre lorsque la pression est trop forte dans l'eren.-----69

Figure 16 : Point d'impact du jet de vapeur appliqué sur la tige des plants de maïs. Le point d'impact est indiqué par une flèche sur un schéma représentant les parties aériennes du maïs. -----69

Figure 17 : Dispositif utilisé pour l'exposition ponctuelle des parties aériennes de 9 plants de maïs cultivés en sol à une atmosphère enrichie en $^{14}\text{CO}_2$. (c) chaux sodée, (dm) débitmètre massique, (f) filtre 0,2 μm , (o) ordinateur, (pa) pompe aquarium, (pe) piège à eau, (pp) pompe péristaltique. -----74

Figure 18 : Concentration en CO_2 de la chambre pendant le marquage des plants de maïs de 12 feuilles cultivés en sol en conditions contrôlées. Le marquage débute au temps $t=0$ min et se termine à $t=60$ min. -----76

Figure 19 : Activité spécifique de la chambre pendant le marquage de 9 plants de maïs cultivés en sol en conditions contrôlées. Les flèches indiquent le début et la fin du marquage.-----76

Figure 20 : Représentation schématique de la récolte d'un pot de maïs cultivé en sol. Le nom des différents compartiments analysés est noté entre parenthèses.-----78

Figure 21 : Représentation schématique de la récolte d'un pot de maïs cultivé en hydroponie dans des conditions stériles. Le nom des différents compartiments analysés est noté entre parenthèses.-----78

Figure 22 : Dispositif utilisé pour aspirer le mucilage adhérent aux apex racinaires. L'embout plastique (1) est appliqué sur les apex racinaires. Le mucilage est récolté dans un tube en PVC de 20 mL (2). L'aspiration dans le tube s'effectue à l'aide d'une pompe à vide (3). -----80

Figure 23 : Protocole de dosage du carbone total piégé dans la solution de NaOH 1M des pièges à soude. -----87

Figure 24 : Evolution de la concentration en CO_2 et du débit d'air balayant la solution nutritive des plants de maïs cultivés en conditions hydroponiques stériles. La respiration racinaire de plants témoins (A) et brûlés pendant 9 minutes (B), calculée à partir des données précédentes, est présentée en rouge. Le moment où est appliqué le jet de vapeur sur la tige est indiqué par un astérisque.-----98

- Figure 25 : Cercle des corrélations présentant la corrélation entre l'activité retrouvée dans les feuilles déployées (FDV), non déployées (FV), la tige (T), les racines (RAC), la respiration rhizosphérique (RESP) et le sol (SA et SNA).----- 108
- Figure 26: Quantité de rhizodépôts marqués retrouvés dans le sol adhérent (SA) ou non (SNA) en fonction de la quantité de ^{14}C retrouvée dans les racines. Les points incluent l'ensemble des données obtenues lors de la première et de la deuxième répétition de l'expérience, auquel est retranché un point correspondant à un résidu suspect lors de l'analyse statistique. Dans les deux cas, l'ordonnée à l'origine est significative ($\alpha=5\%$). ----- 110
- Figure 27 : Corrélation entre la quantité de résidus marqués retrouvés dans le sol (SA+SNA) 48 heures après le marquage (kBq) et la quantité de composés carbonés radioactifs attribuée par gramme de racine ($\text{kBq.g}^{-1}\text{C}$). Les points incluent l'ensemble des données obtenues lors de la première et de la deuxième répétition de l'expérience. L'ordonnée à l'origine est significative ($\alpha=5\%$). ----- 110
- Figure 28 : Corrélation entre la quantité de résidus marqués retrouvés dans le sol (SA+SNA) 48 heures après le marquage et la quantité de composés carbonés radioactifs attribuée au compartiment souterrain ($\text{RAC}+\text{SA}+\text{SNA}+\text{RESP}$). Les points incluent l'ensemble des données obtenues lors de la première et de la deuxième répétition de l'expérience. L'ordonnée à l'origine est significative ($\alpha=5\%$). ----- 111
- Figure 29 : Biomasse des parties aériennes et des racines de maïs, cultivés en hydroponie stérile dans des pots de 1L remplis de billes de verre, en fonction du temps de culture. Les barres d'erreur représentent les écarts-types. ----- 118
- Figure 30 : Evolution du nombre d'apex, de la longueur ($\diamond$), de la surface ($\bullet$) et du volume (σ) des racines de maïs cultivé en hydroponie stérile dans des pots de 1L remplis de billes de verre, en fonction du temps de culture. Les courbes de tendance exponentielles sont représentées par les équations suivantes : pour la longueur racinaire, $y = 2,8\exp(0,0139x)$; pour la surface, $y = 0,9\exp(0,0126x)$; pour le volume, $y = 0,02\exp(0,0115x)$. Les barres d'erreur représentent les écarts-types. ----- 120
- Figure 31 : Quantité nette de $^{14}\text{CO}_2$ fixée, exprimée en radioactivité retrouvée dans l'ensemble des compartiments, en fonction de la taille des parties aériennes, exprimée en masse de carbone. Les maïs sont cultivés pendant 365, 390, 420, 460 ou 485 degrés-jours en hydroponie stérile dans des pots de 1 L remplis de billes de verre. ----- 124

- Figure 32 : Quantité de ^{14}C exportée vers le système racinaire, exprimée en kBq par gramme de racine. Les maïs sont cultivés pendant 365, 390, 420, 460 ou 485 degrés-jours en hydroponie stérile dans des pots de 1 L remplis de billes de verre. Les barres d'erreur représentent les écarts-types.----- 124
- Figure 33 : Activité des rhizodépôts carbonés solubles (kBq) provenant des assimilats marqués en fonction de A) la surface racinaire, B) le nombre d'apex et C) l'activité des composés solubles (kBq/g C racines) présents par gramme de système racinaire d'un plant de maïs. Les maïs sont cultivés pendant 365, 390, 420, 460 ou 485 degrés-jours en hydroponie stérile dans des pots de 1 L remplis de billes de verre. ----- 127
- Figure 34 : Corrélation entre le nombre d'apex d'un système racinaire de maïs et l'activité des rhizodépôts insolubles marqués (kBq). Les maïs sont cultivés pendant 365, 390, 420, 460 ou 485 degrés-jours en hydroponie stérile dans des pots de 1 L remplis de billes de verre. ----- 128
- Figure 35 : Activité des rhizodépôts carbonés provenant des assimilats marqués en fonction de A) la quantité d'assimilats radioactifs retrouvés dans le système racinaire, B) la quantité d'assimilats radioactifs respirés par les racines et C) la quantité d'assimilats radioactifs attribuée au compartiment souterrain d'un plant de maïs. Les maïs sont cultivés pendant 365, 390, 420, 460 ou 485 degrés-jours en hydroponie stérile dans des pots de 1 L remplis de billes de verre. ----- 129
- Figure 36 : Rapport entre la biomasse des parties aériennes et des racines, exprimées en gramme de carbone, en fonction des degrés-jours de croissance de plants de maïs cultivés pendant 190, 285 ou 304 degrés-jours en hydroponie stérile dans des tubes de 250 mL remplis de billes de verre. ----- 130
- Figure 37 : Surface (♦) et volume (▲) du système racinaire des plants de maïs de 4 et 6 feuilles visibles, cultivés pendant 190, 285 ou 304 degrés-jours en hydroponie stérile dans des tubes de 250 mL remplis de billes de verre, en fonction de la longueur totale des racines. ----- 132
- Figure 38 : Flux net de rhizodépôts solubles des plants de maïs cultivés en hydroponie stérile pendant 190, 285 et 304 degrés-jours. Les flux sont calculés 8, 16 et 24 heures après la vidange de la solution nutritive des tubes de 250 mL rempli de billes de verre dans lesquels les plants sont cultivés. ----- 135

- Figure 39 : Flux net de libération de composés carbonés solubles en fonction de A) la surface racinaire, B) le nombre d'apex et C) le rapport PA/PR d'un plant de maïs. Les plants sont cultivés pendant 190, 285 ou 304 degrés-jours en hydroponie stérile dans des tubes de 250 mL remplis de billes de verre. ----- 136
- Figure 40 : Flux net de rhizodépôts solubles libérés dans la solution nutritive en fonction de la concentration en composés solubles du système racinaire de maïs cultivés pendant 190, 285 et 304 degrés-jours en conditions hydroponiques stériles dans des tubes de 250 mL remplis de billes de verre. ----- 137
- Figure 41 : Paramétrage de l'équation traduisant le flux de rhizodépôts solubles dans la solution nutritive ($\Phi_r = \rho \times PA/PR \times N_a$). Le coefficient de rhizodéposition trouvé est de $7,9 \times 10^{-6}$ kBq par heure et par apex ($P < 0,0001$). Le coefficient de corrélation (r^2) entre les valeurs calculées (■) et les valeurs mesurées (▲) est de 0,80. ----- 141
- Figure 42 : Paramétrage de l'équation traduisant le flux de rhizodépôts solubles dans la solution nutritive ($\Phi_r = \rho \times PAPR \times N_a$). Le coefficient de rhizodéposition trouvé est de $6,3 \times 10^{-4}$ µg C par heure et par apex ($P < 0,0001$). Le coefficient de corrélation (r^2) entre les valeurs calculées (■) et les valeurs mesurées (▲) est de 0,71. ----- 141

.II Listes des tableaux

- Tableau 1 : Répartition des photoassimilats marqués au ^{14}C dans le système plante/sol. Différents facteurs sont étudiés : l'âge de la plante marquée, la stérilité ou non (S et NS, respectivement), la photopériode (PP) et l'intensité lumineuse (PAR), la fertilisation en azote (N), la concentration atmosphérique de CO_2 (CO_2). Les données sont exprimées en pourcentage du ^{14}C total assimilé retrouvé dans les parties aériennes (PA), les racines (RAC), la respiration souterraine (RAC) et le sol (SOL). ----- 30
- Tableau 2 : Pourcentage de tissus nécrosés en fonction du temps d'application du jet de vapeur sur la tige de maïs de 12 feuilles visibles cultivés en sol. Ce pourcentage rend compte de la profondeur de la brûlure par rapport au diamètre initial de la tige. L'écart-type est indiqué entre parenthèses. ----- 95
- Tableau 3 : Biomasses de parties aériennes et des racines des plants de maïs de 12 feuilles cultivés en conditions hydroponiques stériles, dont la tige est brûlée pendant 9 minutes ou non (témoin). Les plants sont récoltés 48 heures après l'application du jet de vapeur. L'écart-type est indiqué entre parenthèse ($n=6$).----- 98
- Tableau 4 : Biomasses des parties aériennes et des racines des plants de maïs de 12 feuilles cultivés en sol, dont la tige a été brûlée pendant 0 (témoin) ou 12 minutes. Les plants sont récoltés 26 heures après l'application du jet de vapeur ($n=6$). ----- 101
- Tableau 5 : Humidité et potentiel hydrique des feuilles de maïs dont la tige est brûlée pendant 0 (témoin) ou 12 minutes. Les maïs, de 12 feuilles visibles, sont cultivés en sol. ----- 101
- Tableau 6 : Biomasses des parties aériennes (FDV+FV+FI+T) et des racines (RAC) des plants, et pourcentage d'amidon retrouvé dans le système racinaire (mg/ g C racines) de maïs de 12 feuilles cultivés en sol et dont la tige est brûlée pendant 0, 6 et 9 minutes. Les résultats des comparaisons de moyennes sont présentés par les lettres (ns = non significatif). Les écarts-types sont présentés en italique. D1 et D2 représentent les deux dates où l'expérience est réalisée. ----- 103
- Tableau 7 : Résultats de l'analyse de variance à deux facteurs (destruction partielle des cellules du phloème et date de la répétition de l'expérience) effectuée sur les données de biomasses de parties aériennes exprimées en gramme de carbone. ----- 103

Tableau 8 : Résultats de l'analyse de variance à deux facteurs (destruction partielle des cellules du phloème et date de la répétition de l'expérience) effectuée sur les données de biomasses des racines exprimées en gramme de carbone.-----	103
Tableau 9 : Activité totale retrouvée (kBq) et pourcentage du ^{14}C retrouvé dans les différents compartiments plante/sol (% RTR). Les écarts-types sont présentés en italique. Les résultats des comparaisons de moyennes sont présentés par les lettres (ns = non significatif). D1 et D2 représentent les deux dates auxquelles l'expérience est réalisée.-----	105
Tableau 10 : Résultats de l'analyse de variance à deux facteurs (destruction partielle des cellules du phloème et date de l'expérience) effectuée sur l'ensemble des données de répartition du ^{14}C (% RTR) dans le système plante/sol. -----	106
Tableau 11 : Matrice des coefficients de corrélations (r^2). Toutes les corrélations représentées sont significatives ($\alpha=5\%$). FDV : feuilles déployées, FV : feuilles non déployées, T : tige, RAC : racines, RESP : respiration rhizosphérique, SA : sol adhérent, SNA : sol non adhérent, CS : compartiment souterrain. -----	108
Tableau 12 : Nombre de feuilles visibles et biomasses des parties aériennes en fonction des degrés-jours de croissance de plants de maïs cultivés en hydroponie stérile dans des pots de 1L remplis de billes de verre. Les écarts-types sont présentés en italique. -----	119
Tableau 13 : Analyse des corrélations entre les différentes variables des systèmes racinaires de maïs cultivés en hydroponie stérile dans des pots de 1L remplis de billes de verre. Coefficients de corrélation (r^2) entre la distribution des longueurs, des surfaces et des volumes racinaires par classe de diamètre de racine et la longueur, la surface et le volume total, respectivement. Les astérisques signifient que le coefficient est significatif avec un risque de première espèce α de 10% (*), 5% (**) et 1% (***). -----	121
Tableau 14 : Radioactivité retrouvée (en kBq) dans les feuilles visibles avec et sans ligule (FDV et FV, respectivement), les feuilles invisibles et la tige (FI et T), les parties aériennes (PA), le compartiment souterrain (CS), les racines (RAC), les rhizodépôts insolubles (MUC), solubles (EXSUD), les débris racinaires (DEB), les rhizodépôts totaux (R_{TOT}) et la respiration racinaire (RESP) en fonction de l'âge des plantes. L'intervalle de confiance est indiqué en italique. Le pourcentage de radioactivité totale retrouvée est mentionné entre parenthèses. -----	122

Tableau 15 : Activité retrouvée dans les composés solubles des racines, exprimée en pourcentage de l'activité retrouvée dans le système racinaire d'un plant de maïs ([kBq/kBq racines]×100). Les maïs sont cultivés pendant 365, 390, 420, 460 ou 485 degrés-jours en hydroponie stérile dans des pots de 1 L remplis de billes de verre. Les écarts-types sont indiqués en italique. -----	125
Tableau 16 : Biomasses des parties aériennes et des racines, ratio PA/PR, concentration en carbone soluble (mg C/g C racines) et en amidon (mg/g C racines) des racines, et morphologie racinaire des plants de maïs cultivés pendant 190, 285 ou 304 degrés-jours en hydroponie stérile dans des tubes de 250 mL remplis de billes de verre. Les écarts-types sont présentés en italique. -----	130
Tableau 17 : Quantité nette de rhizodépôts solubles de plants de maïs de 4 et 6 feuilles, cultivés pendant 190, 285 ou 304 degrés-jours en hydroponie stérile dans des tubes de 250 mL remplis de billes de verre, retrouvée dans la solution de culture. Les écarts-types sont présentés en italique. -----	134

.III Listes des photographies

- Photo 1 : Chez le maïs, la base de la feuille forme une gaine autour de la tige. La ligule est la mince languette de tissu qui dépasse au-dessus de la gaine. -----67
- Photo 2 : Dispositif de mesure de la respiration racinaire. A gauche, le système utilisé pour mesurer la concentration en CO₂ et le débit d'air dans le pot de culture. A droite, le plant de maïs cultivé en conditions hydroponiques stériles, dont la tige est brûlée pendant 9 minutes. -----72
- Photo 3 : Marquage de 9 plants de maïs dont la tige est brûlée pendant 0, 6, et 9 minutes. A gauche, les plants dans l'enceinte de marquage. A droite, les pièges à soude permettant de mesurer la respiration rhizosphérique. -----74
- Photo 4 : Résultat graphique d'une analyse de racines par le logiciel MacRHIZO® . -----82
- Photo 5 : Prélèvement d'une aliquote de solution nutritive lors de l'étude de la cinétique d'exsudation. Les maïs de 4 ou 6 feuilles sont cultivés dans des tubes remplis de billes de verre. Le système racinaire est maintenu stérile tout au long de la culture. Les aliquotes de solution nutritive sont prélevées 0, 8, 16 et 24 heures après la vidange du tube, à l'aide d'une seringue stérile. -----85
- Photo 6 : Coupe transversale de tige brûlée par un jet de vapeur pendant 1 minute (A) ou non (B). La couleur rose indique la vitalité des cellules du phloème. **x** : xylème, **m** : métaxylème, **p** : phloème. Les vaisseaux de la photo A sont observés au voisinage du point d'impact du jet de vapeur. -----95
- Photo 7 : Coupe de tige de maïs effectuée à main levée environ 1 cm au-dessus du site d'impact du jet de vapeur. Le maïs utilisé présente 12 feuilles visibles. Il est cultivé en sol. La tige est brûlée pendant 12 minutes, puis les racines sont immergées dans une solution de bleu de méthylène. La présence de bleu de méthylène dans les vaisseaux de xylème indique que le transport de la sève brute n'est pas modifié par la destruction partielle des cellules du phloème. ----- 101

Annexes

Annexe 1 : Analyses physico-chimiques de la terre

Granulométrie 5 fractions sans décarbonatation

Argile (<2 μm)	191 g.kg ⁻¹
Limon fin (2-20 μm)	193 g.kg ⁻¹
Limon grossier (20-50 μm)	273 g.kg ⁻¹
Sable fin (50-200 μm)	185 g.kg ⁻¹
Sable grossier (200-2000 μm)	158 g.kg ⁻¹

PH eau	6,5
CaCO₃	<1 g.kg ⁻¹
P₂O₅ (méthode Olsen)	0,097 g.kg ⁻¹
CEC (méthode Metson)	9,0 cmol ⁺ .kg ⁻¹
K₂O échangeable	0,21 g.kg ⁻¹

Carbone organique	12,97 g.kg ⁻¹
Azote organique	1,26 g.kg ⁻¹
NO₃⁻	6,90 mg.kg ⁻¹
NH₄⁺	2,30 mg.kg ⁻¹
Rapport carbone organique / azote	10,29

Annexe 2 : Composition de la solution de Hoagland et Arnon (1950) modifiée

	Solution mère		Solution finale
	g.L ⁻¹	mole.L ⁻¹	mL.L ⁻¹
<u>MACROELEMENTS</u>			
KH ₂ PO ₄	27,20	0,2	5
KNO ₃	101,10	1,0	5
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	236,15	1,0	5
MgSO ₄ . 7H ₂ O	98,60	0,4	5

OLIGOELEMENTS

H ₃ BO ₃	2,86	0,046	1
MnCl ₂ . 4H ₂ O	1,81	0,009	1
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	0,22	0,011	1
CuSO ₄ . 5H ₂ O	0,07	0,001	1
Na ₂ MoO ₄ . 2H ₂ O	0,09	0,004	1

Dans le cas des cultures non stériles :

EDTAFeNa	36,7	0,1	1
----------	------	-----	---

Dans le cas des cultures stériles :

FeCl ₃	16,2	0,1	1
-------------------	------	-----	---

Annexe 3 : Composition du milieu nutritif gélosé

Milieu sur lequel les plantes sont mises à germer :

Bouillon nutritif (Difco®, réf. A5000317) 8 g.L⁻¹

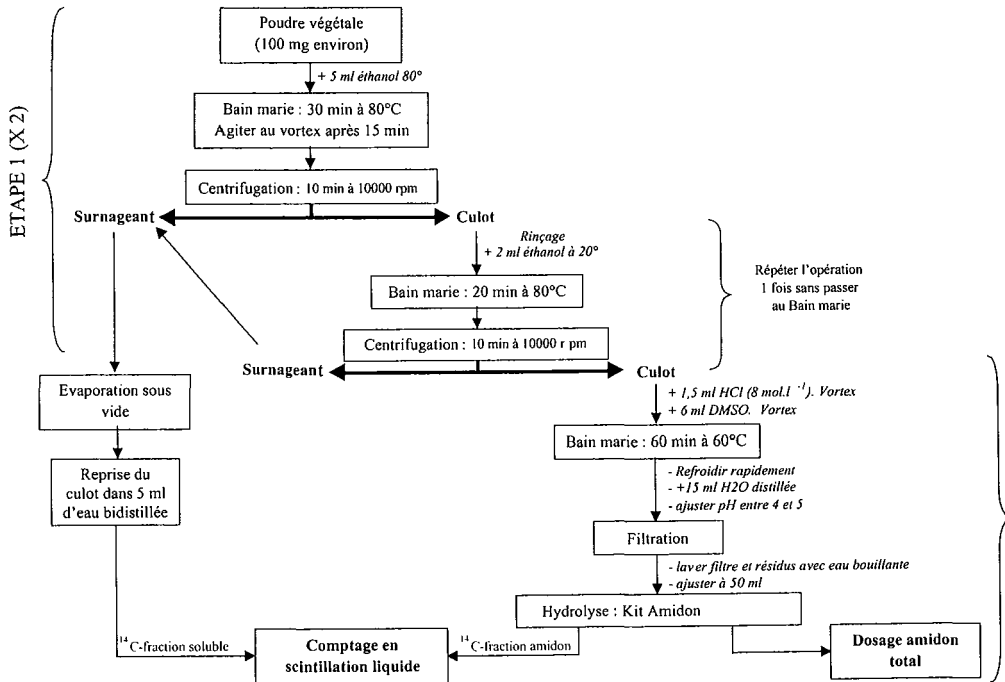
Agar-agar 4 g.L⁻¹

Milieu utilisé pour la vérification de la stérilité :

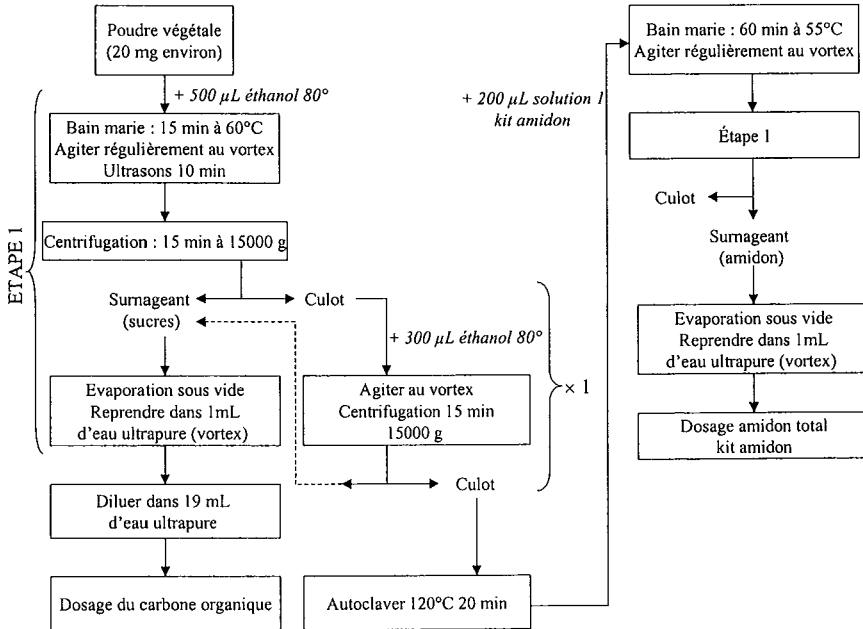
Bouillon nutritif (Difco®, réf. A5000317) 8 g.L⁻¹

Agar-agar 8 g.L⁻¹

Annexe 4 : Protocole d'extraction de la fraction soluble et de l'amidon, et dosage de leur activité ^{14}C , lorsque la matière sèche des organes de la plante est supérieure à 100 mg (Todorovic, 2000).



Annexe 5 : Protocole d'extraction de la fraction soluble et de la fraction d'amidon lorsque la matière sèche des organes de la plante est inférieure à 100 mg (Castelan-Estrada, 2001).



Annexe 6 : Protocole de dosage de l'amidon

1 UV method

for the determination of native starch¹ in foodstuffs and other materials

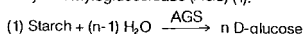
Cat. No. 207 748

Test-Combination for approx. 25 determinations

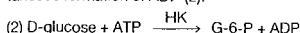
For recommendations for methods and standardized procedures see references (2)

Principle (Ref. 1)

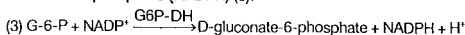
Starch is hydrolyzed to D-glucose at pH 4.6 in the presence of the enzyme amyloglucosidase (AGS) (1).



The D-glucose formed is determined with hexokinase (HK) and glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6P-DH) at pH 7.6. D-glucose is phosphorylated to D-glucose-6-phosphate (G-6-P) by adenosine-5'-triphosphate (ATP) in the presence of hexokinase with the simultaneous formation of ADP (2).



In the presence of G6P-DH, D-glucose-6-phosphate is oxidized by nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate (NADP) to D-gluconate-6-phosphate with the formation of reduced nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate (NADPH) (3).



The amount of NADPH formed in the above reaction is stoichiometric to the amount of D-glucose formed by hydrolysis of the starch. NADPH is determined by means of its light absorbance at 334, 340 or 365 nm.

The Test-Combination contains:

1. Bottle 1 with approx. 100 mg lyophilisate, consisting of: citrate buffer, pH approx. 4.6; amyloglucosidase, approx. 84 U; stabilizers
2. Bottle 2 with approx. 5 g powder mixture, consisting of: triethanolamine buffer, pH approx. 7.6; NADP, approx. 75 mg; ATP, approx. 190 mg; magnesium sulfate; stabilizers
3. Bottle 3 with approx. 0.7 ml enzyme suspension, consisting of: hexokinase, approx. 200 U; glucose-6-phosphate dehydrogenase, approx. 100 U
4. Starch standard material for assay control purposes (for the preparation of the standard material for analysis, see pt. 8.1: weigh approx. 50–100 mg/100 ml. The measurement of the standard material is not necessary for calculating the results. Expiry date: see pack label)

Preparation of solutions

1. Dissolve contents of bottle 1 with 6.0 ml redist. water.
2. Dissolve contents of bottle 2 with 27 ml redist. water.
3. Use contents of bottle 3 undiluted.

Stability of reagents

The contents of bottle 1 are stable at +4°C (see pack label).
Solution 1 is stable for 6 weeks at +4°C, or for 3 months at -20°C. Bring solution 1 to 20–25°C before use.
The contents of bottle 2 are stable at +4°C (see pack label).
Solution 2 is stable for 4 weeks at +4°C, or for 2 months at -20°C. Bring solution 2 to 20–25°C before use.
The contents of bottle 3 are stable at +4°C (see pack label).

Procedure

Wavelength²: 340 nm, Hg 365 nm or Hg 334 nm
Glass cuvette³: 1.00 cm light path
Temperature: 55–60°C (incubation); 20–25°C (measurement)
Final volume: 2.320 ml
Read against air (without a cuvette in the light path) or against water
Sample solution: 1.2–70 µg starch/cuvette⁴ (in 0.100–1.000 ml sample volume, or in 0.100–0.200 ml when analyzing DMSO-containing solutions)

If the sample contains amounts of free D-glucose, a separate determination of D-glucose is necessary. In the presence of other oligosaccharides, the alcohol extraction is recommended (see instructions pt. 8 and 9).

Pipette into cuvettes	Reagent blank	Sample	Sample blank ⁵
solution 1* sample solution** redist. water	0.200 ml – 0.100 ml	0.200 ml – – 0.100 ml	– – –
Mix*, incubate for 15 min at 55–60°C (water-bath); stopper cuvettes with the lid or with Parafilm®. Addition of:			
solution 2 redist. water	1.000 ml 1.000 ml	1.000 ml 1.000 ml	1.000 ml 1.200 ml
Mix***. After approx. 3 min read absorbances of the solutions (A ₁). Start reaction by addition of:			
suspension 3	0.020 ml	0.020 ml	0.020 ml
Mix***, after completion of the reaction (ca. 10–15 min) read absorbances of the solutions (A ₂). If the reaction has not stopped after 15 min, read absorbances in 2 min intervals until the absorbance increases constantly over 2 min.			

- * Pipette solution 1, the sample solution and redist. water, each, onto the bottom of the cuvette and mix by gentle swirling. When using a plastic spatula, remove it from the cuvette only directly before measuring absorbance A₁.
- ** Rinse the enzyme pipette or the pipette tip of the piston pipette with sample solution before dispensing the sample solution.
- *** For example, with a plastic spatula or by gentle swirling after closing the cuvette with Parafilm® (registered trademark of the American Can Company, Greenwich, Ct., USA)

If the absorbances A₂ increases constantly, extrapolate the absorbances to the time of addition of suspension 3.

Determine the absorbance differences (A₂–A₁) for both, reagent blank and sample. Subtract absorbance difference of the reagent blank from the absorbance difference of the sample.

$$\Delta A = (A_2 - A_1)_{\text{sample}} - (A_2 - A_1)_{\text{reagent blank}}$$

The measured absorbance differences should, as a rule, be at least 0.100 absorbance units to achieve sufficiently accurate results (see "Instructions for performance of assay").

For sample blank see pt. 8.1 and 9

Calculation

According to the general equation for calculating the concentrations:

$$c = \frac{V \times \text{MW}}{\varepsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta A \text{ [g/l]},$$

V = final volume [ml]
v = sample volume [ml]
MW = molecular weight of the substance to be assayed [g/mol]
(for starch: MW_{glucose} – MW_{water} = 162.1)
d = light path [cm]
ε = extinction coefficient of NADPH at
340 nm = 6.3 [l x mmol⁻¹ x cm⁻¹]
Hg 365 nm = 3.5 [l x mmol⁻¹ x cm⁻¹]
Hg 334 nm = 6.18 [l x mmol⁻¹ x cm⁻¹]

- 1 Modified kinds of starch (phosphorylated or oxidized ones) do not react.
- 2 The absorption maximum of NADPH is at 340 nm. On spectrophotometers, measurements are taken at the absorption maximum; if spectratline photometers equipped with a mercury vapor lamp are used, measurements are taken at a wavelength of 365 nm or 334 nm.
- 3 If desired, disposable cuvettes may be used instead of glass cuvettes.
- 4 See instructions for performance of the assay.
- 5 See instructions for sample preparation, pts. 8 and 9.
- 6 Available from Boehringer Mannheim GmbH Biochemicals

It follows for starch:

$$c = \frac{2.320 \times 162.1}{\varepsilon \times 1.00 \times 0.100 \times 1000} \times \Delta A = \frac{3.761}{\varepsilon} \times \Delta A$$

A [g starch/l sample solution]

If the sample has been diluted during preparation the result must be multiplied by the dilution factor F.

When analyzing solid and semi-solid samples which are weighed out for sample preparation, the result is to be calculated from the amount weighed:

$$\text{Content}_{\text{starch}} = \frac{c_{\text{starch}} [\text{g/l sample solution}]}{\text{weight}_{\text{sample}} \text{ in g/l sample solution}} \times 100 [\text{g/100 g}]$$

1. Instructions for performance of assay

The starch content present in the cuvette has to be between 2.5 µg and 70 µg (measurement at 365 nm) or 1.2 µg and 40 µg (measurement at 340, 334 nm), respectively. In order to get a sufficient absorbance difference, the sample solution is diluted to yield a starch concentration between 0.06 and 0.7 g/l, or 0.03 and 0.4 g/l, respectively.

Dilution table

Estimated amount of starch per liter measurements at		Dilution with water	Dilution factor F
340 or 334 nm	365 nm		
< 0.4 g	< 0.7 g	—	1
0.4–4.0 g	0.7–7.0 g	1 + 9	10
4.0–40 g	7.0–70 g	1 + 99	100
> 40 g	> 70 g	1 + 999	1000

If the measured absorbance difference (ΔA) is too low (e.g. < 0.100), the sample solution should be prepared again (weigh out more sample or dilute less strongly) or the sample volume to be pipetted into the cuvette can be increased up to 1.000 ml (solution in water). The volume of water added must then be reduced so as to obtain the same final volume in the cuvettes for the sample and blank. The sample volume v must be taken into account in the calculation.

2. Specificity (Ref. 1)

Amyloglucosidase hydrolyzes α -1,4- and α -1,6-glucan linkages in polysaccharides, like e.g. amylose, starch, dextrin, glycogen and also of glucosyl-oligosaccharides (maltose, maltotriose etc.).

Enzymatically, it is not possible to differentiate between "high polymer" and "low polymer" starch. This can be done, however, by washing the sample with an ethanol/water mixture in the course of sample preparation: starch is insoluble in ethanol/water (the ratios used depend on the method employed) whereas oligosaccharides are soluble. The solubility of oligosaccharides decreases with the increase in concentration of ethanol.

The determination of D-glucose is specific.

In the analysis of 'pure starch', results of approx. 99% (calculated on a dry mass basis) have to be expected.

3. Sensitivity and detection limit (Ref. 1.3)

The smallest differentiating absorbance for the procedure is 0.010 absorbance units. This corresponds to a maximum sample volume $v = 1.000$ ml and measurement at 340 nm of a starch concentration of 0.6 mg/l sample solution (if $v = 0.100$ ml, this corresponds to 6 mg/l sample solution).

The detection limit of 1.2 mg/l is derived from the absorbance difference of 0.020 (as measured at 340 nm) and a maximum sample volume $v = 1.000$ ml.

Note: The maximum sample volume after sample preparation with DMSO and HCl is 0.200 ml (see pt. 8.1).

4. Linearity

Linearity of the determination exists from 1.2 µg starch/assay (1.2 mg starch/l sample solution; sample volume $v = 1.000$ ml) to 70 µg starch/assay (0.7 g starch/l sample solution; sample volume $v = 0.100$ ml).

5. Precision

In a double determination using one sample solution, a difference of 0.010 to 0.015 absorbance units may occur. With a sample volume of $v = 0.100$ ml and measurement at 340 nm, this corresponds to a starch concentration of approx. 6–10 mg/l. (If the sample is diluted during sample preparation, the result has to be multiplied by the dilution factor F. If the sample is weighed in for sample preparation, e.g. using 1 g sample/100 ml = 10 g/l, a difference of 0.06–0.1 g/100 g can be expected.)

The following data have been published in the literature:

Starch:

21.4 µg/assay	$n = 18$	$CV = 1.60\%$
53.5 µg/assay	$n = 18$	$CV = 0.51\%$
85.6 µg/assay	$n = 16$	$CV = 1.73\%$

(Ref. 1.2)

Boiled finely minced pork sausage:

$x = 1.3$ g/100 g	$r = 0.170$ g/100 g	$S_{\text{Df}} = \pm 0.060$ g/100 g
	$R = 0.217$ g/100 g	$S_{\text{RM}} = \pm 0.077$ g/100 g

Rusks for children:

$x = 43.5$ g/100 g	$r = 2.33$ g/100 g	$S_{\text{Df}} = \pm 0.82$ g/100 g
	$R = 8.42$ g/100 g	$S_{\text{RM}} = \pm 2.97$ g/100 g

(Ref. 2.6)

For further data see references

6. Recognizing interference during the assay procedure

6.1 If the conversion of D-glucose (after hydrolysis of starch) has been completed according to the time given under 'determination', it can be concluded in general that no interference has occurred.

6.2 On completion of the reaction, the determination can be restarted by adding D-glucose (qualitative or quantitative): if the absorbance is altered subsequent to the addition of the standard material, this is also an indication that no interference has occurred.

The reaction cannot be restarted with 'soluble' starch as, subsequent to altering the reaction conditions from pH 4.6 to pH 7.6 ('change of the buffer'), starch is no longer cleaved.

6.3 Operator error or interference of the determination through the presence of substances contained in the sample can be recognized by carrying out a double determination using two different sample volumes (e.g. 0.100 ml and 0.200 ml): the measured differences in absorbance should be proportional to the sample volumes used.

When analyzing solid samples, it is recommended that different quantities (e.g. 1 g and 2 g) be weighed into 100 ml volumetric flasks. The absorbance differences measured and the weights of sample used should be proportional for identical sample volumes.

6.4 Possible interference caused by substances contained in the sample can be recognized by using an internal standard as a control: in addition to the sample, blank and standard determinations, a further determination should be carried out with sample and standard solution in the same assay. The recovery can then be calculated from the absorbance differences measured.

6.5 Possible losses during the determination can be recognized by carrying out recovery tests: the sample should be prepared and analyzed with and without standard material. The additive should be recovered quantitatively within the error range of the method.

7. Reagent hazard

The reagents used in the enzymatic determination of starch (after solubilization with DMSO/HCl or by autoclaving, resp. after acid or alkaline hydrolysis) are not hazardous materials in the sense of the Hazardous Substances Regulations, the Chemicals Law or EC Regulation 67/548/EEC and subsequent alteration, supplementation and adaptation guidelines. However, the general safety measures that apply to all chemical substances should be adhered to.

After use, the reagents can be disposed of with laboratory waste, but local regulations must always be observed. Packaging material can be disposed of in waste destined for recycling.

8. Information on sample preparation

8.1 Solubilization of starch with dimethylsulfoxide (DMSO) and HCl

(Starch products, flours, pastries, meat-balls and other meat products, milk products, margarine, animal feed, etc.)

Starch or starch-containing products have to be pretreated before the determination in order to convert the starch into a soluble form. Because of the simple handling, solubilization with dimethylsulfoxide (DMSO) it is recommended:

Homogenize sample in a powder mill or homogenizer, and pass solid samples through a sieve of 0.2 mm pore diameter. Accurately weigh 100 mg to 1 g of the homogenized sample into a 100 ml Erlenmeyer flask, add 20 ml dimethylsulfoxide, and 5 ml hydrochloric acid (8 mol/l). Concerning fat-containing samples, it is recommended to add first the dimethylsulfoxide whereas fat-free samples or samples with a low fat content are to be treated first with hydrochloric acid. Close the Erlenmeyer flask e.g. with Parafilm[®] and incubate for 30 min (in some cases for 60 min, e.g. if bread crumbs have been used for the preparation of meat balls) at 60°C in a water-bath (shaking water-bath or heatable magnetic stirrer; care should be taken that no clotting of the sample occurs; if necessary, crush with a glass rod).

Cool quickly to room temperature, add approx. 50 ml water, and adjust to pH 4-5 with sodium hydroxide (5 mol/l) under vigorous shaking (check with pH meter). Transfer to a 100 ml volumetric flask, rinse with water, fill up to the mark with water and filter the solution (after washing the filter paper with boiling redist. water) if necessary. Use 0.100 ml (maximum 0.200 ml) undiluted for the assay (sample and sample blank), immediately.

Under the aforementioned conditions, no D-glucose will be released from starch.

Note: Sucrose is quantitatively hydrolyzed with the formation of glucose and fructose, lactose and maltose are partially hydrolyzed (approx. 10%) with the formation of the monosaccharides under the conditions of solubilization of starch by means of DMSO and hydrochloric acid. Fructose is decomposed up to approx. 60% (Ref. 1.2). Therefore, the absorbance difference of the sample blank only serves for the subtraction from the absorbance difference of the sample assay in the calculation of starch.

For simplification of the sample preparation procedure with DMSO and HCl, it is recommended (Ref. 3.8) to incubate the sample with DMSO and HCl followed by the addition of 5 ml NaOH (8 mol/l), transfer into a 100 ml volumetric flask, rinsing and filling up to the mark with citrate buffer (0.112 mol/l; pH 4; prepared by mixing a solution of citric acid (0.112 mol/l) and a solution of tri-sodium citrate (0.112 mol/l)). (Adjustment of the pH is not necessary in this case.)

(Note: Dimethylsulfoxide, DMSO (which should not be confused with the highly toxic dimethylsulfate) is weakly hazardous to water. The LD50 oral rat is 14.5 g/kg. Contact with the skin and with the eyes has to be avoided.)

8.2 Alkaline and enzymatic hydrolysis of starch (Ref. 2.4, 3.4-3.6)

For the following procedure, starch means the sum of α -glucans which are insoluble in ethanol (40%; v/v) and which are hydrolyzed to D-glucose by means of the enzyme amylglucosidase. Starch hydrolysis products are maltodextrins, glucose and starch syrup, as well as dextrans, which are soluble in ethanol (40% v/v) and which are also hydrolyzed by amylglucosidase with the formation of D-glucose. The sample material is washed with an ethanol/water mixture (40% ethanol; v/v) in order to remove the starch hydrolysis products; the residue is treated with sodium hydroxide followed by amylglucosidase in order to solubilize and hydrolyze starch.

Reagents

Ethanol, 40%; (v/v)

Sodium hydroxide solution, 0.5 mol/l

Amyloglucosidase (AGS) solution (10 mg lyophilizate, corresponding to 60 U, Cat. No. 1202332, resp. 1202367, are dissolved in 1 ml redist. water before use.)

Acetate buffer pH 4.6 (mix 70 ml NaOH (0.5 mol/l) with 950 ml redist. water, adjust pH 4.6 with glacial (acetic) acid)

Accurately weigh sample material containing approx. 0.4 g starch into a centrifuge tube, add 50 ml ethanol (40%; v/v) and stir for 20 min at room temperature. Let the magnetic stirrer in the tube and centrifuge for 5 min. Take the supernatant carefully by a Pasteur pipette and a water-jet vacuum pump and use it for the determination of the soluble starch hydrolysis products and of free D-glucose. Wash the residue at least twice with 25 ml ethanol (40%; v/v) again, and centrifuge. Combine the supernatants.

Add 50 ml NaOH (0.5 mol/l) to the residue and stir for 30 min at 60°C in a water bath. Adjust the pH to 4.6 to 4.8 by the addition of glacial (acetic) acid (min 96%). Then add 1 ml AGS solution and stir for another 30 min. Cool down to room temperature, transfer the solution into a 100 ml volumetric flask, rinse with water, fill up to the mark, mix and filter if necessary.

Use the filtrate for the determination of D-glucose.

For the determination of the starch hydrolysis products, evaporate the collected extracts (supernatants) with a flash evaporator until a slight opalescence occurs. Transfer the liquid into a 100 ml volumetric flask, rinse with acetate buffer (pH 4.6 to 4.8) and fill up to the mark.

Determination of D-Glucose

Pipette into cuvettes	Blank	Sample
solution 2 from TC-Starch sample solution	1.000 ml	1.000 ml
redist. water	2.000 ml	1.900 ml
Mix: read absorbances of the solutions (A_1) after approx. 3 min and start reaction by addition of:		
suspension 3 from TC-Starch	0.020 ml	0.020 ml
Mix, wait for the end of the reaction (approx. 10-15 min), and read absorbances of the solutions (A_2). If the reaction has not stopped after 15 min, continue to read the absorbances at 2 min intervals until the absorbance increase constantly over 2 min.		

If the absorbance A_2 increases constantly, extrapolate the absorbances to the time of addition of suspension 3.

Determine the absorbance differences ($A_2 - A_1$) for both, blank and sample. Subtract the absorbance difference of the blank from the absorbance difference of the sample, thereby obtaining $\Delta A_{\text{starch, resp. D-glucose}}$.

It follows for starch:

$$c = \frac{3.020 \times 162.1}{\varepsilon \times 1.00 \times 0.100 \times 1000} \times \Delta A_{\text{starch}} = \frac{4.895}{\varepsilon} \times \Delta A_{\text{starch}} \quad [\text{g starch/l sample solution}]$$

It follows for D-glucose:

$$c = \frac{3.020 \times 180.16}{\varepsilon \times 1.00 \times 0.100 \times 1000} \times \Delta A_{\text{D-glucose}} = \frac{5.441}{\varepsilon} \times \Delta A_{\text{D-glucose}} \quad [\text{g D-glucose/l sample solution}]$$

8.3 Acid and enzymatic hydrolysis of starch (Ref. 2.3)

Reagents

Ethanol, 40%; (v/v)

HCl, 32% (m/v)

NaOH, 5 mol/l

a) Dry samples (powders)

Accurately weigh sample material containing approx. 100 mg starch into a centrifuge tube, wash 3 times with 15 ml ethanol (40%; v/v) each while stirring for 20 min at room temperature, centrifuge, remove the supernatants. Add 10 ml HCl (1 part HCl, 32%; m/v; diluted with 2 parts of redist. water) to the residue and stir for 60 min at 60°C in a water bath. Transfer the solution quantitatively into a 100 ml beaker, rinse with water and adjust the pH to approx. 4.5 by the addition of NaOH (5 mol/l). Transfer the solution into a 100 ml volumetric flask, rinse with water, fill up to the mark, mix and filter if necessary.

b) Water-containing samples

Accurately weigh 1 g sample into a centrifuge tube. Add 10 ml ethanol (96%; v/v) while stirring, and centrifuge. Continue as described under pt. a. (including 3 times washing with 15 ml ethanol (40%; v/v)).

Perform the determination as described under 'Procedure': reagent blank, sample.

8.4 Autoclaving and enzymatic hydrolysis of starch

Reagents

Acetate buffer (2 mol/l; pH 4.8: 120 ml glacial (acetic) acid and 164 g anhydrous sodium acetate are dissolved in dist. water to 1 l)

Amyloglucosidase (AGS) solution (dissolve 10 mg lyophilizate, corresponding 60 U, Cat. No. 1202332, resp. 1202367, in 1 ml redist. water before use.)

Samples which contain free D-glucose or oligo-glucosides are extracted with ethanol (40%; v/v) as described under pt. 8.2 and 8.3.

Accurately weigh sample material containing approx. 100 mg starch into a 100 ml Erlenmeyer flask, add 25 ml redist. water, heat with a Bunsen burner and boil for 3 min. Cover the Erlenmeyer flask with aluminum foil and autoclave at 130°C and 1.8 kg x cm⁻² for 1 h. Cool to room temperature, add 2.5 ml acetate buffer, 22.5 ml redist. water and 5 ml AGS solution. Incubate in a water-bath while stirring for 2 h at 60°C. Transfer the solution into a 100 ml volumetric flask, rinse with water, fill up to the mark, mix and filter if necessary.

Perform the determination as described under 'Procedure': reagent blank, sample.

9. Presence of mono- or oligosaccharides

Sample solutions containing free D-glucose or sucrose (hydrolyzed by the DMSO/HCl pretreatment; see pt. 8.1), must be determined in a second assay without incubation with amylglucosidase (sample blank).

Take 0.100 ml of the pretreated sample solution, add 1.200 ml water and 1.000 ml solution 2, read A_1 , then add suspension 3. Continue working as stated under 'Procedure'.

Subtract the absorbance difference of the sample blank from the absorbance difference of the sample.

$$\Delta A = (A_2 - A_1)_{\text{sample}} - (A_2 - A_1)_{\text{sample blank}}$$

The performance of a reagent blank is not necessary.

In the presence of maltose or its homologues, the alcohol extraction has to be carried out, because maltose is also cleaved by amylglucosidase. Accurately weigh approx. 400 mg of the homogenized and sieved sample into a 100 ml centrifuge beaker (the water content of the sample is to be determined and should not exceed 20%, otherwise the sample has to be dried before). Wash the sample three times with 10 ml ethanol (40%; v/v) each and centrifuge. Filter the supernatant and discard the filtrate. Combine precipitate in the centrifuge beaker with the precipitate in the filter and transfer with 4 portions of 5 ml dimethylsulfoxide each into a 100 ml Erlenmeyer flask, add 5 ml HCl (8 mol/l), and continue working as stated above (see pt. 8.1). In this case, the determination of the sample blank can be neglected, but the reagent blank has to be determined.

Annexe 7 : Protocole de pré-extraction et de fumigation-extraction (Vance *et al.*, 1987; Todorovic, 2000).

Pré-extraction :

- Peser deux fois environ exactement 30 g de sol frais (dont le taux d'humidité est connu) dans un flacon en verre lavé à l'eau ultrapure.
- Ajouter 100 mL d'une solution de K_2SO_4 (0,05M) dans chaque flacon.
- Agiter pendant 30 min à 40 révolutions par minute.
- Verser la solution à travers un tamis de 2 mm.
- Laver les fragments de racines retenus sur le tamis avec 100 mL de solution de K_2SO_4 et récupérer la solution de lavage dans le flacon.
- Filtrer la solution sur du papier Whatmann 42.
- Récupérer le filtre et son contenu pour effectuer la fumigation et l'extraction.

Fumigation / Extraction

- Pour chaque échantillon de sol, deux filtres contenant le sol sont issus de l'étape de pré-extraction. Un des filtres est directement extrait pour servir de témoin.
- L'autre filtre est fumigé.

Fumigation

- Le filtre est disposé dans un flacon en verre lui-même dans une cloche en verre contenant :
 - de la chaux sodée pour piéger le CO_2 de la respiration du sol,
 - de l'eau pour maintenir l'humidité du sol,
 - un flacon en verre contenant 30 mL de chloroforme et des billes de verre.
- Le vide est fait dans la cloche. Il entraîne une ébullition du chloroforme. Cette ébullition est homogène grâce à la présence des billes de verre.
- La cloche est placée à l'obscurité dans une étuve à 25°C pendant 24 heures.
- Elle est ouverte pour récupérer le flacon de chloroforme, puis refermée.
- La cloche est remise sous vide 3 fois de suite pour éliminer les vapeurs de chloroforme.
- Le filtre est récupéré pour subir l'extraction du carbone soluble.

Extraction

- Ajouter 100 mL d'une solution de K_2SO_4 (0,05M) dans chaque flacon contenant un filtre.
- Agiter pendant 30 min à 40 révolutions par minute.
- Filtrer la solution sur du papier Whatmann 42.
- Analyser la teneur en carbone marqué et en carbone total du filtrat.

**AUTORISATION DE SOUTENANCE DE THESE
DU DOCTORAT DE L'INSTITUT NATIONAL
POLYTECHNIQUE DE LORRAINE**

oOo

VU LES RAPPORTS ETABLIS PAR :

Monsieur Jean-Bernard CLIQUET, Maître de Conférences, INRA, Université de Caen

Monsieur Emmanuel FROSSARD, Professeur, Institut ETH, Suisse

Le Président de l'Institut National Polytechnique de Lorraine, autorise :

Madame Anne-Laure MARCHAND

à soutenir devant un jury de l'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE,
une thèse intitulée :

« Etude de la Rhizodéposition chez le maïs : influence de la distribution des photo-
assimilats aux racines et de la morphologie racinaire ».

en vue de l'obtention du titre de :

DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

Spécialité : « Sciences agronomiques »

Fait à Vandoeuvre, le 26 septembre 2003

Le Président de l'I.N.P.L.,

L. SCHUFFENECKER



NANCY BRABOIS
2, AVENUE DE LA
FORET-DE-HAYE
BOITE POSTALE 3
F - 54501
VANCEUVRE CEDEX

Service Commun de la Documentation
INPL
Nancy-Braboïs

RESUME

L'objectif de notre travail a consisté à étudier le rôle de l'allocation de carbone aux racines et de la morphologie racinaire sur la rhizodéposition du maïs au stade végétatif.

Nous avons modulé l'allocation des assimilats aux racines en couplant une méthode de destruction partielle des cellules du phloème et un marquage ponctuel des parties aériennes au $^{14}\text{CO}_2$. L'analyse de la répartition des assimilats marqués dans le système plante-sol montre une très forte corrélation entre la quantité de rhizodépôts retrouvés dans le sol et la quantité d'assimilats récents attribués à la fois aux racines et au compartiment souterrain.

Afin d'étudier l'impact de la morphologie racinaire sur la rhizodéposition, la libération de composés solubles par les racines de maïs a été analysée après différents temps de culture en conditions hydroponiques stériles. L'analyse des rhizodépôts montre que les composés solubles représentent plus de 90% des composés libérés par les racines. De fortes corrélations entre les variables relatives au système racinaire et la quantité d'assimilats récents alloués aux racines sont observées. A partir des données obtenues, un modèle simple de libération de rhizodépôts solubles par les racines de maïs cultivés en hydroponie est proposé. Ainsi, cette rhizodéposition est expliquée à plus de 70% par deux variables : le ratio PA/PR et le nombre d'apex. Ce résultat suggère que la répartition des assimilats entre les parties aériennes et les racines et la morphologie des racines (surface racinaire, nombre d'apex...) sont des variables essentielles à prendre en compte pour la rhizodéposition du maïs.

Afin de découpler l'ensemble des variables racinaires et hiérarchiser leur importance dans les processus de rhizodéposition, une étude de la rhizodéposition de plantes au ratio PA/PR et/ou à la morphologie racinaire très différents est désormais nécessaire.

ABSTRACT

Is rhizodeposition correlated with C-partitioning and root morphology?

First, ^{14}C -partitioning to rhizosphere was studied while girdling the stem of *Zea mays* L and labeling the shoots with $^{14}\text{CO}_2$. A strong correlation was observed between the quantity of ^{14}C -rhizodeposits recovered into the soil and ^{14}C -assimilates allocated to the roots.

In a second time, impact of root morphology on rhizodeposition was studied: corn with different ages cultivated in hydroponic and axenic systems were pulse labeled. More than 90% of rhizodeposits recovered were soluble compounds. Root morphology and ^{14}C -assimilates allocated to the roots were correlated. The data obtained allowed working a simple model of rhizodeposition out. This model showed that R/S ratio and root morphology were important variables for modeling corn rhizodeposition, explaining more than 70% of the total variance.