

Mesures en série des échanges gazeux à l'échelle plante entière de plantes cultivées en pot

Alexis Bédiée¹, Nathalie Luchaire^{2,3}, Anaëlle Dambreville¹, Nicolas Brichet¹, Philippe Hamard¹, Myriam Dautat¹, Bertrand Muller¹, Anne Pellegrino²

Résumé. Un système permettant de mesurer la photosynthèse nette, la respiration et la transpiration individuelles de quatre plantes en pot a été développé. Ces dernières sont positionnées dans des chambres d'assimilation dont la hauteur est ajustable selon l'espèce et selon les contraintes d'encombrement liées au lieu de mesure (serre, chambre de culture, extérieur). Il s'agit d'un système ouvert : l'air dans les chambres d'assimilation est sans cesse renouvelé, ce qui évite une décroissance du taux de CO₂ (due à la consommation de la plante) et un éventuel effet de serre. Le système a été testé en conditions contrôlées sur la microvigne pour différents gradients thermiques et sur le colza. Les mesures de transpiration et de photosynthèse, pour des environnements thermiques contrastés, sont conformes à celles obtenues à l'aide d'autres outils utilisés en routine en écophysiole (balances, analyseur d'échanges gazeux à l'échelle foliaire). Les chambres permettent d'accéder à la respiration de l'ensemble des organes aériens de la plante, contrairement aux mesures d'échanges gazeux localisées sur les feuilles. Les améliorations à prévoir concernant la conception des chambres et le protocole de mesure sont discutées.

Mots clés : chambre d'assimilation, circuit ouvert, cylindre emboîtable, photosynthèse nette, plante entière, respiration, transpiration.

Introduction

L'évaluation de l'adaptation des plantes aux contraintes abiotiques est un enjeu majeur dans le cadre des changements climatiques. L'optimisation du gain de carbone (photosynthèse nette) et de l'efficacité d'utilisation de l'eau (photosynthèse nette/transpiration) sous contrainte hydrique et/ou thermique est essentielle pour assurer la durabilité des cultures (Flexas et al., 2010). La photosynthèse et la transpiration sont généralement mesurées à l'échelle foliaire *via* l'utilisation d'analyseurs d'échanges gazeux. Ces mesures localisées ne permettent d'accéder qu'à une information partielle du fonctionnement de la plante, et non représentative de celui de la plante entière. En effet, l'activité photosynthétique nette d'une feuille isolée est différente de celle de la plante entière due à la présence d'organes hétérotrophes (Poni et al., 1997). De plus, l'extrapolation des mesures d'échanges gazeux de l'échelle foliaire à l'échelle de la plante entière est complexe, car elle nécessite d'intégrer les facteurs microclimatiques au sein de la canopée et les comportements individuels de chacune des feuilles en fonction de leur position et de leur âge. Une approche de modélisation permettant de simuler la structure de la canopée, l'interception du rayonnement et les échanges gazeux de la vigne a été développée au LEPSE¹ par Louarn et al. (2008) et Prieto et al. (2012). Ces modèles nécessitent toutefois de renseigner un nombre important de paramètres physiques et biologiques, difficilement accessibles. Perez Peña et Tarara (2004) ont conçu un prototype de chambres reliées en série, fonctionnant chacune en circuit ouvert, et dont le couplage avec des analyseurs gazeux infrarouges (IRGA) permet de mesurer directement les échanges de CO₂ et d'H₂O sur plante entière. Ce dispositif a été utilisé pour comparer la photosynthèse et l'efficacité d'utilisation de l'eau de la vigne

¹ INRA, UMR LEPSE, Laboratoire d'écophysiole des plantes sous stress environnementaux, 2 Place Viala, F-34060 Montpellier, France; bediee@supagro.inra.fr

² Montpellier SupAgro, UMR LEPSE, Laboratoire d'écophysiole des plantes sous stress environnementaux, 2 Place Viala, F-34060 Montpellier, France

³ Montpellier SupAgro, UMR AGAP, Amélioration et génétique de l'adaptation des plantes, 2 Place Viala, F-34060 Montpellier, France

au champ pour différents régimes d'irrigation. Le même type de chambre a été utilisé par le LEPSE pour évaluer la performance de systèmes de taille contrastés chez la vigne (Prieto, 2011). Le volume imposant de ces chambres (8 m³) est toutefois incompatible avec une utilisation en conditions de culture contrôlées. Leur dimension est par ailleurs fixée par la présence d'armatures en aluminium, permettant de maintenir le film polymère de recouvrement. Le volume de la chambre ne peut donc pas être redimensionné en fonction de la surface foliaire de l'espèce considérée. Daudet (1987) et Poni et al. (1997) ont développé et testé sur le tournesol et la vigne un système de chambre de type « ballon » dont la taille est également fixe, mais ne requérant pas d'armature. Le film polymère constituant l'enceinte de ces chambres est gonflé par un système de soufflerie. Ces chambres ont été utilisées afin de tester l'impact de la défoliation précoce sur les échanges gazeux de la vigne (Poni et al., 2008). Une autre alternative de structure de chambre, constituée d'un cylindre en polyméthacrylate de méthyle, a été proposée par Centinari et al. (2009). Cette dernière a été utilisée pour mesurer la transpiration d'une culture intercalaire dans un vignoble.

Sur la base de ces différents travaux, un système regroupant quatre chambres d'assimilation reliées en parallèle et de faible coût a été conçu. Leurs dimensions ont été raisonnées de façon à pouvoir conduire des expérimentations en pot, en conditions contrôlées ou semi-contrôlées. Les chambres sont constituées de cylindres emboîtables en polyméthacrylate de méthyle. Leur volume est donc adaptable à la surface foliaire de l'espèce considérée. Les chambres ont été testées sur deux espèces aux surfaces foliaires et densités stomatiques contrastées, la microvigne (mutant naturel de vigne au phénotype nain ; Boss et Thomas, 2002) et le colza. Les niveaux de transpiration du colza obtenus par les chambres ou par pesée ont été comparés. Les écarts de photosynthèse et de respiration de la microvigne entre les mesures réalisées sur la plante entière et les mesures localisées sur les feuilles, via un analyseur d'échanges gazeux, ont été évalués pour différents niveaux de température de l'air.

Matériel et méthodes

Structure des chambres d'assimilation

La structure des chambres d'assimilation est façonnée à partir de polyméthacrylate de méthyle extrudé d'une épaisseur de 0,4 cm. Ce choix de matière a été motivé par les travaux de Centinari et al. (2009). Selon les tests que nous avons effectués, le polyméthacrylate de méthyle est transparent à plus de 92% dans le visible (**Figure 1**).

Le polyméthacrylate de méthyle (PMMA) est donc plus transparent que le verre mais également plus solide et moins lourd que ce dernier. L'utilisation de structures métalliques n'est pas nécessaire, ce qui permet d'éviter la présence d'ombrage au sein des chambres. Les chambres d'assimilation sont composées chacune d'une base cylindrique de 50 cm de diamètre ayant une face fermée hermétiquement et de différents cylindres emboîtables sur cette même base permettant l'ajustement de la hauteur totale. À leur sommet est disposée une demi-sphère ouverte sur 12,5 cm de diamètre. Une gaine d'arrivée d'air est raccordée à la base cylindrique. Quatre petits ventilateurs de 12 volts sont disposés selon un angle de 45 degrés à l'intérieur de cette base afin de créer un brassage homogène de l'air à l'intérieur de l'enceinte (**Figure 2**).

Figures 1 et 2 page suivante

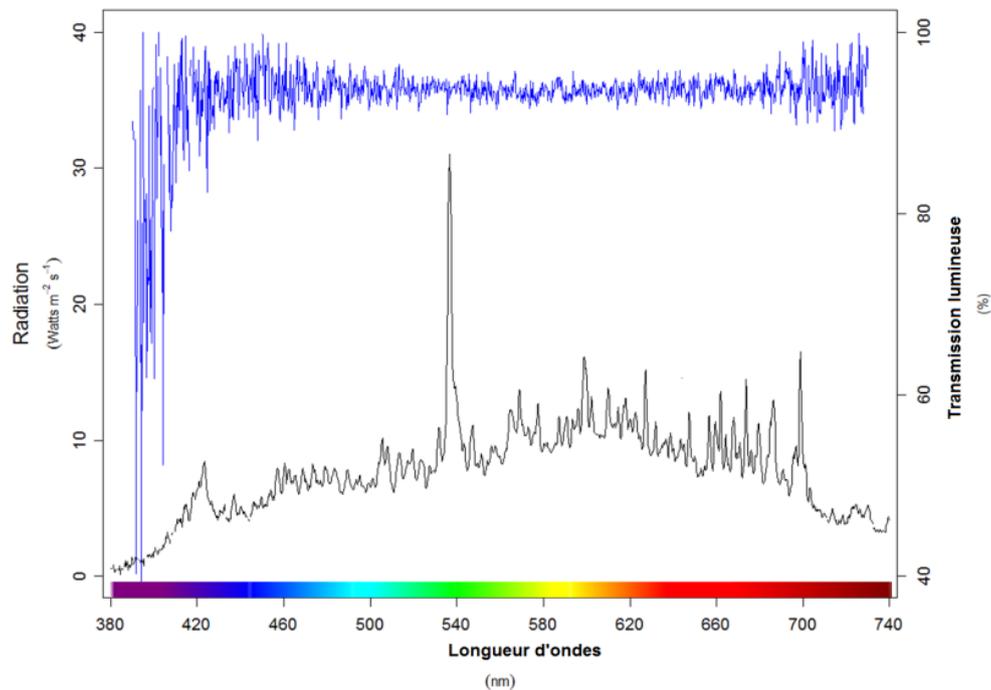


Figure 1. Transmission lumineuse du polyméthacrylate de méthyle.

La transmission lumineuse (ligne bleue, % de lumière) et le spectre lumineux (ligne noire, Watts/m²/s) sont représentés. Le test a été effectué dans une chambre de culture équipée de six lampes à halogénure métallique de 250 W de type HPI-T Plus 250 W 645 E40 (Philips®, Amsterdam, Pays-Bas).

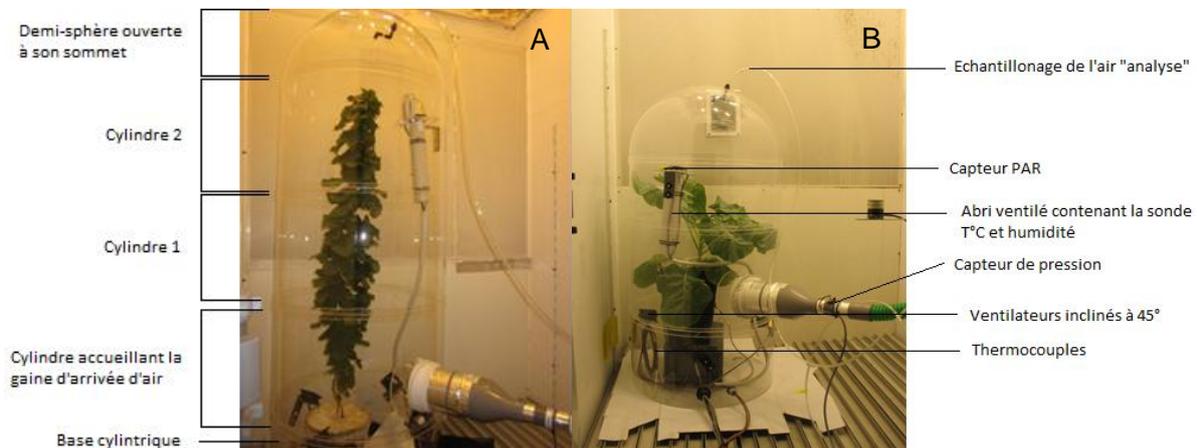


Figure 2. Chambre d'assimilation permettant de mesurer les échanges gazeux de plantes en pot dans une chambre de culture de 2 m³ : microvigne (A) et colza (B). (Photo : LEPSE)

La chambre d'assimilation présentée sur la **Figure A** mesure 130 cm de haut pour un volume de 0,239 m³ et celle présentée sur la **Figure B** mesure 100 cm pour un volume de 0,180 m³.

Un cerclage (en PMMA également) est effectué à l'intersection des cylindres permettant de les assembler. La soudure de celui-ci est réalisée à l'aide de chloroforme (**Figure 3**). La plus petite taille concevable d'une chambre est actuellement de 100 cm de hauteur (pour un diamètre fixe de 50 cm) soit un volume de 0,180 m³ (voir **Figure 2B**).



Figure 3. Cerclage soudé au chloroforme. (Photo : LEPSE)

Une bande de polyméthacrylate de méthyle d'une largeur de 2,5 cm est enroulée autour du cylindre en dépassant de 1,20 cm. La bande est maintenue en place par des serre-joints puis soudée avec du chloroforme au niveau de la partie plaquée contre le cylindre.

Fonctionnement des chambres d'assimilation

Un capteur de pression dynamique de type 176PC series (Honeywell©, Morristown, NJ, USA) est présent au niveau de la gaine d'arrivée d'air de chaque chambre d'assimilation. Chacune des chambres d'assimilation est équipée de trois thermocouples pour effectuer des mesures de température (°C) d'organes et d'un capteur PAR⁴ ($\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) fabriqué au LEPSE et comprenant une cellule de silicium (Solems©, Palaiseau, France). Elles contiennent également un abri ventilé renfermant une sonde de température et d'humidité relative (%) HC2-s (Rotronic©, Croissy Beaubourg, France) (**Figure 1B**). Toutes ces mesures sont collectées par une centrale d'acquisition de données de type CR1000 (Campbell Scientific©, Leicestershire, UK) (voir **Annexe, Figure 15**). Les mesures se font alternativement sur les quatre chambres d'assimilation sur un pas de temps défini par l'utilisateur (à partir de 20 min jusqu'à un enregistrement continu lorsqu'une seule chambre d'assimilation est utilisée).

La concentration en CO₂ (ppm⁵) et la pression partielle d'H₂O (mbar) de l'air à l'extérieur des chambres sont mesurées grâce à un analyseur CIRAS DC (PP Systems©, Amesbury, MA, USA) (**Figure 4**). Il s'agit d'un analyseur à double canal comprenant quatre IRGA indépendants. La concentration de CO₂ et la pression partielle d'H₂O sont déterminées en amont de la chambre sur l'air « référence » par les deux premiers IRGA, et en aval de la chambre sur l'air « analyse » par les deux autres. Les échantillons d'air « analyse » sont prélevés au niveau du sommet des chambres d'assimilation (**Figure 2B**). Les différentiels de concentration en CO₂ et de pression partielle d'H₂O entre l'air « analyse » et l'air « référence » sont calculés par l'analyseur et correspondent aux variations de concentration engendrées par la plante.

⁴ Photosynthetically active radiation

⁵ Partie par million



Figure 4. CIRAS DC (PP Systems®, Amesbury, MA, USA). (Photo : LEPSE)

Le signal analogique du CIRAS est envoyé vers la centrale d'acquisition de données, ce qui permet de n'avoir qu'un seul fichier de sortie par chambre d'assimilation et donc de ne pas avoir à assembler les fichiers issus du CIRAS et ceux issus de la CR1000. Les calculs utiles pour la récupération du signal analogique sont présentés en **Annexe** (eq.13 à eq.20).

Les chambres d'assimilation disposent chacune en amont d'un ventilateur avec variateur (**Annexe, Figure 15**) permettant de régler la vitesse de l'air et d'obtenir un débit entre 6 et 7 L par seconde, pour un renouvellement d'air dans les chambres d'environ deux fois et demie par min (variable selon la taille des chambres et les échanges gazeux du matériel végétal analysé). Un débit excessif d'air entrant dans la chambre réduit les valeurs de différentiels de CO₂ et H₂O, et diminue la précision des mesures. A l'inverse, un débit d'air trop faible génère un effet de serre (réchauffement de l'air) ainsi qu'une décroissance du taux de CO₂ due à l'assimilation de la plante en période diurne.

L'air circulant dans le système est extrait d'une chambre de culture vide où la concentration en CO₂ est stable et les conditions climatiques contrôlées. Cet air est aspiré par les ventilateurs vers un caisson dit de « référence ». C'est ici que sont mesurées la température et l'humidité de l'air qui permettent, avec la pression dynamique mesurée avant chaque chambre, de calculer les flux d'air entrant (variable indispensable au calcul de la photosynthèse et de la transpiration). C'est également de ce caisson étanche que l'échantillon d'air de « référence » est prélevé (**Figure 5**).

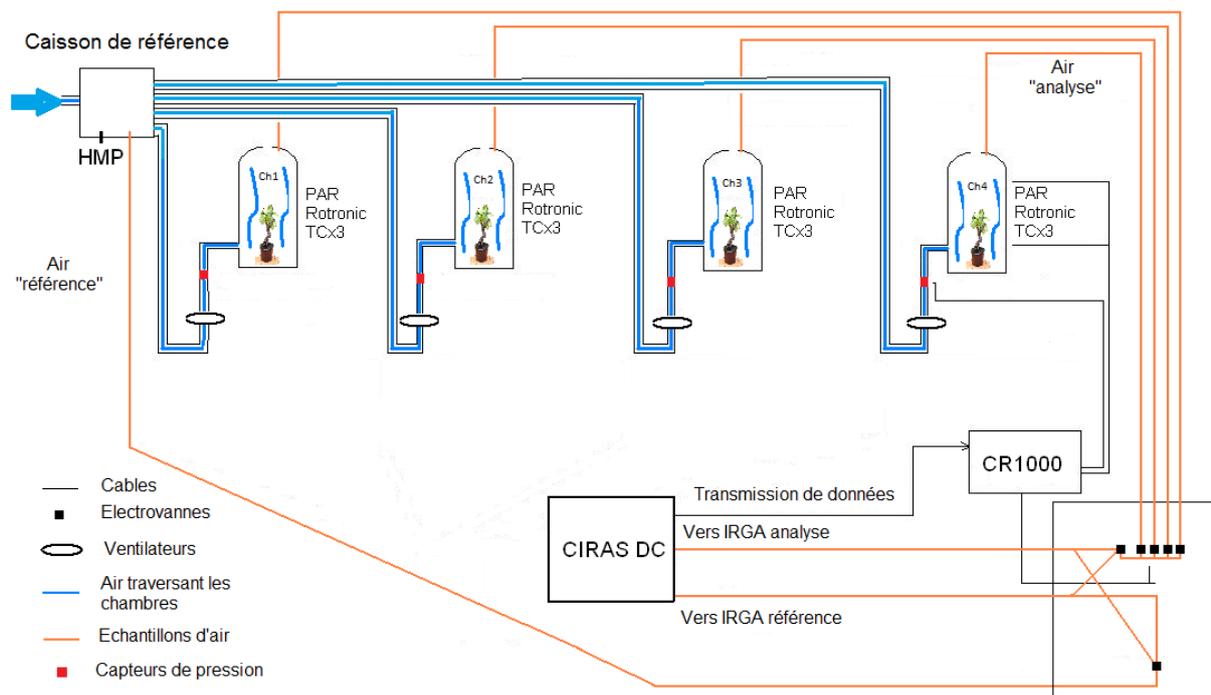


Figure 5. Schéma général du système reliant les chambres d'assimilation, le caisson de référence, les électrovannes, la centrale d'acquisition et l'analyseur d'échanges gazeux.

L'échantillon d'air « analyse » prélevé au niveau de la sortie des chambres, est envoyé vers une armoire contenant des électrovannes pilotées par la centrale d'acquisition de données. Ces dernières servent à laisser passer l'air d'une chambre (la chambre 1 par exemple) vers l'analyseur et à bloquer le passage de l'air d'analyse des autres pendant un temps défini par l'utilisateur en début d'expérimentation. Lorsque l'analyse de l'air sortant de la chambre 1 est terminée, l'électrovanne de celle-ci se ferme et celle correspondant à la chambre 2 s'ouvre, laissant passer l'air provenant de cette dernière vers l'analyseur, et ce jusqu'à ce que l'étude complète des quatre chambres soit réalisée. Le processus complet se réitère jusqu'à la mise en arrêt du système.

Comme indiqué dans la **Figure 6**, après son passage dans le premier jeu d'électrovannes reliées aux chambres (EV 1 à 4), l'air est redirigé vers une électrovanne « analyse » (EV ANA). L'air provenant du caisson de référence est quant à lui dirigé vers une électrovanne « référence » (EV REF). Ces deux électrovannes, de type 3/2, sont placées pour annuler les dérives des IRGA. Elles ont pour but d'effectuer une « inversion d'échantillonnage ». Lorsqu'elles se trouvent en position ouverte (position 1), EV REF envoie l'air vers l'IRGA référence et EV ANA vers l'IRGA analyse. En position fermée (position 2), EV REF envoie l'air vers l'IRGA analyse et EV ANA vers l'IRGA référence. Le passage de la position 1 à la position 2 des deux électrovannes s'opère lorsque la moitié du temps de mesure de l'air de la chambre est atteint. En moyennant les valeurs obtenues en position 1 et celles obtenues en position 2 la dérive des IRGA est alors annulée. Ainsi l'auto calibration de l'analyseur, appelée « zéro » et « différentiel-balance », n'est plus nécessaire (auto-calibration pendant laquelle les mesures effectuées par le CIRAS sont stoppées et qui n'intervient pas à intervalles réguliers). Le passage de la position 1 à la position 2, ainsi que les changements de chambre, sont suivis d'une période d'une minute pendant laquelle les mesures ne sont pas utilisables et doivent être supprimées. Cette période correspond au renouvellement de l'air accumulé dans les tuyaux lorsque les électrovannes (EV 1 à 4) sont fermées. Cette technique est inspirée des travaux de Perez-Peña et Tarara (2004). Une photo de l'armoire est disponible en **Annexe (Figure 16)**.

Ces échantillons d'air sont prélevés par les pompes internes du CIRAS DC. Compte tenu des faibles longueurs de tuyau (≈ 5 m), il n'a pas été nécessaire de rajouter des pompes externes.

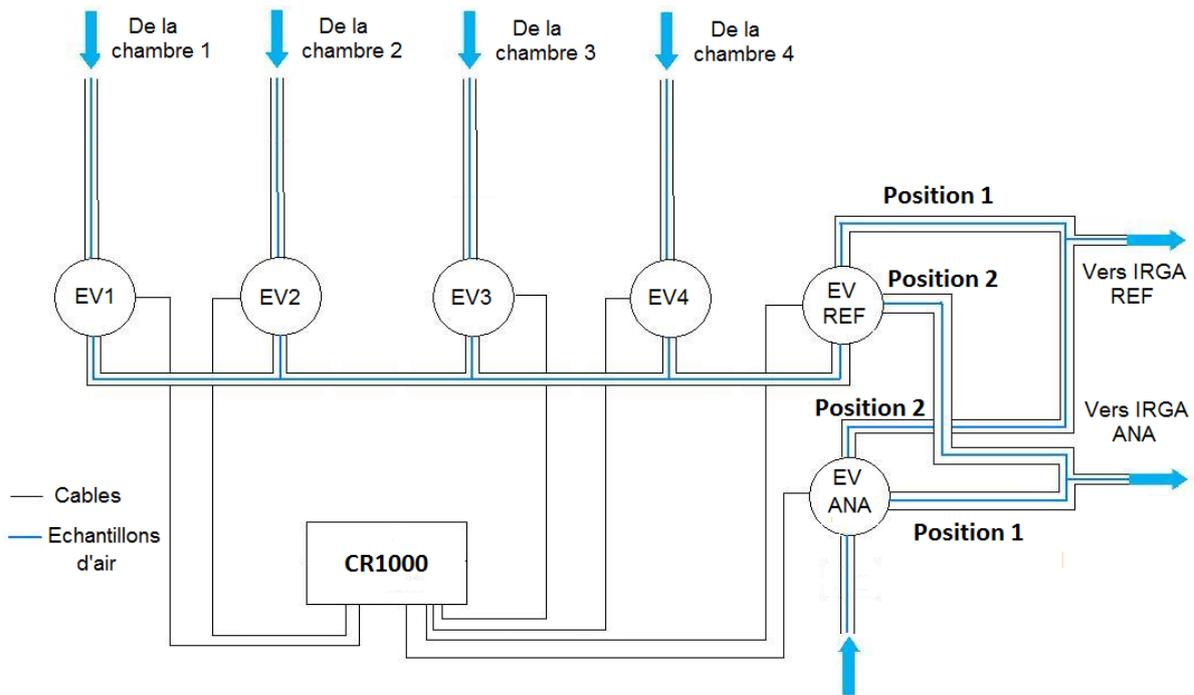


Figure 6. Schéma du réseau d'électrovannes.

Calculs de la photosynthèse et de la transpiration dans les chambres d'assimilation

Les données collectées à partir de la centrale permettent le calcul de la photosynthèse et de la transpiration grâce aux équations développées par Farquhar et al. (1980).

La transpiration E (en mol/s/unité de surface) est calculée comme suit :

$$E = \frac{W \times \frac{\Delta H_2O}{(P - H_2O_{ref} - \Delta H_2O)}}{\text{surface foliaire}} \quad (\text{eq. 1})$$

où W représente le flux d'air entrant dans les chambres (en mol/s), ΔH_2O le différentiel de pression partielle de vapeur d'eau (en mbar) entre l'air sortant de la chambre et l'air de référence, H_2O_{ref} la pression partielle de référence (en mbar) et P la pression atmosphérique (en hPa). Dans notre cas la valeur de P a été fixée à 1013 hPa.

Afin de comparer les mesures de transpiration obtenues *via* les chambres d'assimilation et celles obtenues avec une balance celles-ci doivent être converties en mL d' H_2O /min/unité de surface (E_{vol}) comme suit :

$$E_{vol} = \frac{E \times M}{\rho_{H_2O}} \times 1000 \quad (\text{eq. 2})$$

où M représente la masse molaire de l'eau (soit 18 g/mol) et ρ_{H_2O} sa masse volumique (soit 1 kg/L). Le produit par 1000 permet de convertir les litres en millilitres.

La photosynthèse et la respiration A (en $\mu\text{mol/s/unité de surface}$) sont définies ainsi :

$$A = \left(\frac{W \times \Delta CO_2 + (CO_2_{ref} - \Delta CO_2) \times E}{\text{surface foliaire}} \right) \quad (\text{eq. 3})$$

Où ΔCO_2 correspond au différentiel de concentration de dioxyde de carbone (en ppm) entre l'air sortant de la chambre et l'air de référence, et $CO_2 \text{ ref}$ à la concentration de dioxyde carbone dans l'air de référence (en ppm).

Le calcul du flux d'air entrant dans les chambres W (en mol/s) est :

$$W = q_d \times \frac{\frac{P}{22.41 \times 273.15}}{(273.15 + T^\circ C \text{ de l'air})} \quad (\text{eq. 4})$$

où q_d symbolise le débit d'air (en L/s). $T^\circ C \text{ de l'air}$ correspond à la température mesurée dans le caisson de « référence ». La pression atmosphérique P est ici exprimée en Pascal, soit 101300 Pa dans notre cas.

Le débit d'air q_d (en L/s) est calculé ainsi :

$$q_d = V_{air} \times S \times 1000 \quad (\text{eq. 5})$$

où V_{air} représente la vitesse de l'air (en m/s) et S la section de passage en (m²) où la pression dynamique de l'air est mesurée. Le produit par 1000 permet de convertir les m³ en litres.

La vitesse de l'air V_{air} (en m/s) s'obtient comme suit :

$$V_{air} = \sqrt{\left(\frac{2 \times q_p}{\rho}\right)} \quad (\text{eq. 6})$$

où q_p correspond à la pression dynamique de l'air (en Pa) mesurée par les capteurs de pression placés devant chaque chambre et ρ la masse volumique de l'air (en kg/m³).

Enfin, la masse volumique de l'air ρ (en kg/m³) est calculée ainsi (eq. 7) :

$$\rho = \left(\frac{1}{287.06 \times (T^\circ C \text{ de l'air} + 273.15)}\right) \times (P - 230,617 \times \left(\frac{\text{humidité de l'air}}{100}\right)) \times e^{\left(\frac{17.5043 \times T^\circ C \text{ de l'air}}{241.2 + T^\circ C \text{ de l'air}}\right)}$$

où $T^\circ C \text{ de l'air}$ et humidité de l'air (en %) correspondent aux mesures effectuées dans le caisson de « référence ». P est ici exprimé en Pa, soit 101300 Pa (voir eq. 4).

Test des chambres d'assimilation

La présente étude a été réalisée sur deux espèces différentes : le colza (*Brassica napus* L.) et la microvigne (*Vitis vinifera* L.) au cours de deux expérimentations distinctes.

Matériel végétal et conditions environnementales

Les analyses sur le colza ont été effectuées 35 jours après semis pendant 3 jours. Cette expérimentation a été réalisée dans une chambre de culture d'un volume de 2,3 m³. Le substrat utilisé était un mélange de terre argileuse et de terreau organique (1:1, v:v). L'humidité du sol a été maintenue à 0,40 g d'H₂O/g de sol sec pendant les 35 jours de culture. Les conditions environnementales ont été régulées à un VPD⁶ de 1 kPa et un PAR de 300 μmol/m²/s sur une photopériode de 16 h. Les températures ont été respectivement régulées autour de 19°C et 17 °C pendant le jour et la nuit.

Les analyses sur la microvigne ont été réalisées sur des boutures âgées de deux ans. Les plantes ont été taillées de façon à ne conserver qu'un seul axe. Les ramifications secondaires ainsi que les organes reproducteurs ont été supprimés dès leur apparition. Les pots, remplis de terreau, ont été irrigués automatiquement toutes les 4

⁶ Vapor pressure deficit

heures afin d'être maintenus à capacité au champ (1,45 g d'H₂O/g de sol sec). Pendant la période de pré-culture en serre (*i.e.* 3 mois avant l'expérimentation), les conditions climatiques ont été régulées à un VPD de 1 kPa, une température de 25 °C le jour et 15°C la nuit sur une photopériode de 14 h. L'expérimentation a été réalisée dans une chambre de culture d'un volume de 12 m³ pendant 1 mois, avec un VPD de 2 kPa et un PAR de 560 μmol/m²/s sur une photopériode de 14 h. Afin de quantifier les réponses des échanges gazeux à la température, différents paliers de températures de 5°C, la nuit de 15°C à 30°C et le jour de 20°C à 35°C, ont été programmés sur 2 jours consécutifs.

Mesures des échanges gazeux

La transpiration du colza a été mesurée successivement sur trois plants dans une chambre d'assimilation. Les variations du poids des plantes étaient simultanément enregistrées grâce à une balance sur une période de 10 h de jour et à un pas de temps de 1 min. Les plantes ont été irriguées juste avant la fermeture des chambres d'assimilation. Préalablement aux mesures de transpiration, les parties aériennes des plantes ont été isolées du sol en emballant les pots avec plusieurs couches de film alimentaire étirable pour éliminer les flux d'eau en provenance du substrat et du système racinaire.

La photosynthèse et la respiration de la microvigne ont été mesurées sur six plants. Les mesures ont été effectuées sur deux jours consécutifs pour chaque palier de température jour/nuit. Le premier jour était dédié aux mesures à l'échelle de la feuille et le deuxième jour aux mesures à l'échelle plante entière.

La photosynthèse et la respiration à l'échelle de la feuille ont été mesurées sur les six plantes grâce au LICOR® LI-6400XT pro (LiCor®, Lincoln, Nebraska USA) équipé d'une pince avec une chambre de mesure rectangulaire d'une surface de 6 cm² (**Figure 7**).



Figure 7. LICOR® LI-6400XT pro (LiCor®, Lincoln, Nebraska USA). (Photo : LEPSE)

Ces mesures ont été effectuées sur des feuilles de stades de développement contrastés, insérées aux rangs (depuis l'apex) 5, 10 et 25 et à différents paliers de températures (20, 25, 30, 35°C pendant le jour et 15, 20, 25, 30°C la nuit).

La photosynthèse et la respiration à l'échelle plante entière ont été déterminées sur trois plantes simultanément. Les mesures à chaque palier de température ont été effectuées pendant 24 h avec une photopériode de 14 h. Pour ces mesures, une chambre a été laissée vide (chambre 4) afin de corriger la présence de fuites éventuelles du système. Le temps de mesure passé sur chaque chambre a été fixé à 20 min. Comme pour le colza, les parties aériennes des plantes ont été isolées du sol en emballant les pots avec plusieurs couches de film alimentaire étirable pour limiter les flux de carbone (et d'eau) en provenance du substrat et du système racinaire. Le taux de CO₂ de référence a été constant tout au long de l'expérimentation, à savoir une concentration moyenne de 380 ppm.

Détermination de la surface foliaire

La surface foliaire a été déterminée afin d'exprimer les échanges gazeux par unité de surface. Pour le Colza, la surface des feuilles a été mesurée de façon destructive sur des feuilles scannées à la fin de l'expérimentation. Pour la microvigne, la surface foliaire a été estimée de façon non destructive en utilisant une relation allométrique avant chaque mesure d'échanges gazeux à l'échelle plante entière.

Mesure de la surface foliaire via les scans de feuilles

Les feuilles de colza récoltées après les mesures d'échanges gazeux ont été fixées (sans le pétiole) sur une feuille de papier A3 sur laquelle était présent un carré noir de calibration dont les dimensions en mm² sont connues. Cette feuille de papier a ensuite été scannée (**Figure 8**).

A l'aide du logiciel ImageJ (Rasband, National Institute of Health, USA), les surfaces des feuilles de la plante ainsi que du carré de calibration ont été mesurées en pixels puis converties en mm².

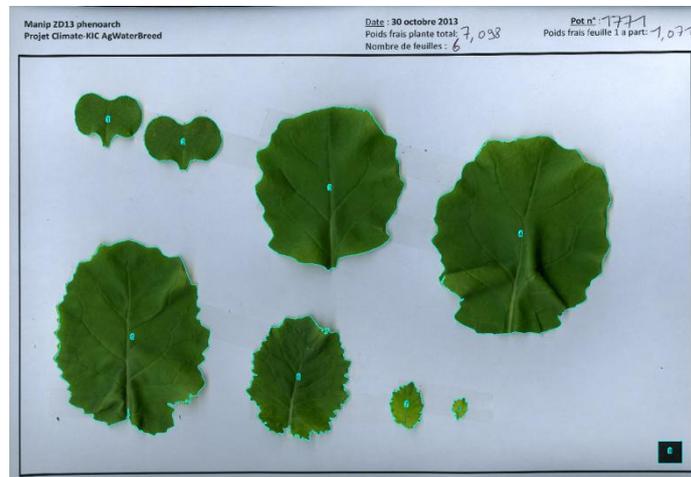


Figure 8. Feuilles de colza fixées sur une feuille de papier au format A3 et dont les surfaces individuelles sont mesurées en nombre de pixels via le logiciel d'analyse d'images ImageJ. (Photo : LEPSE).

Calcul de la surface foliaire via une relation allométrique

La surface foliaire individuelle chez la microvigne était estimée grâce à la longueur de la nervure centrale selon une relation allométrique préalablement paramétrée à partir de scans de feuilles :

$$SF = a \times LN^2 + b \times LN \quad (\text{eq. 8})$$

où SF (cm²) et LN (mm) sont respectivement la surface et la longueur de la nervure principale de la feuille, et a et b sont deux coefficients dépendant de l'espèce et de la variété. Dans le cas de la microvigne, $a = 0.0096$ et $b = 0,1343$ (Luchaire et al., 2013).

Analyses statistiques

Afin d'être directement comparés aux échanges gazeux mesurés à l'échelle plante entière, les échanges gazeux mesurés sur les feuilles ont été intégrés à l'échelle de la plante. Les activités photosynthétiques et respiratoires par organe ont été calculées à partir des estimations d'échanges gazeux par unité de surface et des estimations

de surfaces foliaires (S_f) de chaque organe. Ces dernières ont ensuite été cumulées à l'échelle plante entière ($\sum A_{\text{feuilles}}$, $\sum R_{\text{feuilles}}$; eq. 9 et 10) :

$$\sum A_{\text{feuilles}} = \sum_{\text{rang}=1}^{\text{rang max.}} A_{\text{classe rang}} \times SF_{\text{classe rang}} \quad (\text{eq. 9})$$

$$\sum R_{\text{feuilles}} = \sum_{\text{rang}=1}^{\text{rang max.}} R_{\text{classe rang}} \times SF_{\text{classe rang}} \quad (\text{eq. 10})$$

avec $\sum A_{\text{feuilles}}$ et $\sum R_{\text{feuilles}}$ exprimés en $\mu\text{mol/plante/s}$. Pour les estimations plante entière, trois classes de rang de feuilles ont été retenues : la classe 5 pour les feuilles de rang inférieur ou égal à 7, la classe 10 pour les feuilles des rangs 8 à 15 et la classe 25 pour les feuilles des rangs supérieurs.

Les échanges de CO_2 à l'échelle plante entière mesurés ou estimés *via* les mesures sur feuilles, ont été comparés en calculant les moyennes absolue et relative des écarts à la bissectrice 1:1 ($\Delta_{\text{abs.}}$ et Δ_{rel} respectivement) comme suit (eq. 11 et 12) :

$$\Delta_{\text{abs.}} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (A_{\text{Plante entière}} - \sum A_{\text{feuilles}})_i \quad (\text{eq. 11})$$

$$\Delta_{\text{rel.}} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \left(\frac{(A_{\text{Plante entière}} - \sum A_{\text{feuilles}}) \times 100}{A_{\text{Plante entière}}} \right)_i \quad (\text{eq. 12})$$

Avec n le nombre d'échantillons considéré. Les mêmes calculs ont été réalisés pour la respiration.

Toutes les données ont été analysées avec R (R2.13.2, Foundation for Statistical Computing, Vienne, Autriche). La normalité des données a été testée avec des Shapiro-Wilk tests. Des student-t test ou Wilcoxon signed-rank tests ont ensuite été réalisés pour comparer les moyennes. La limite de significativité des tests a été fixée à 0.05 pour toutes les analyses.

Résultats et discussion

Validation des mesures de transpiration chez le colza

La transpiration du colza mesurée par les chambres d'assimilation et par pesée a été moyennée sur un pas de temps de 30 min sur une période de 10 h. La transpiration par pesée est comprise entre 7 et 12 mL/min/m² (**Figure 9A**). Ces valeurs sont inférieures à celles mesurées en champ, ce qui s'explique par la faible demande évaporative de la chambre de culture (Müller et al., 2005). Les valeurs de transpiration obtenues par les chambres d'assimilation tendent à être supérieures à celles des pesées. Ces dernières sont comprises entre 8 et 10 mL/min/m². Malgré une légère surestimation des flux d'eau par les chambres ($P > 5\%$), les niveaux de transpiration issus de ces dernières sont plus stables et plus homogènes au sein du lot de plantes, par rapport aux pesées. Sur la période de 10 h, les valeurs moyennes de transpiration ne diffèrent pas significativement entre les deux méthodes ($P > 5\%$; **Figure 9B**), ce qui prouve l'adéquation du système de chambres d'assimilation à mesurer la transpiration des plantes.

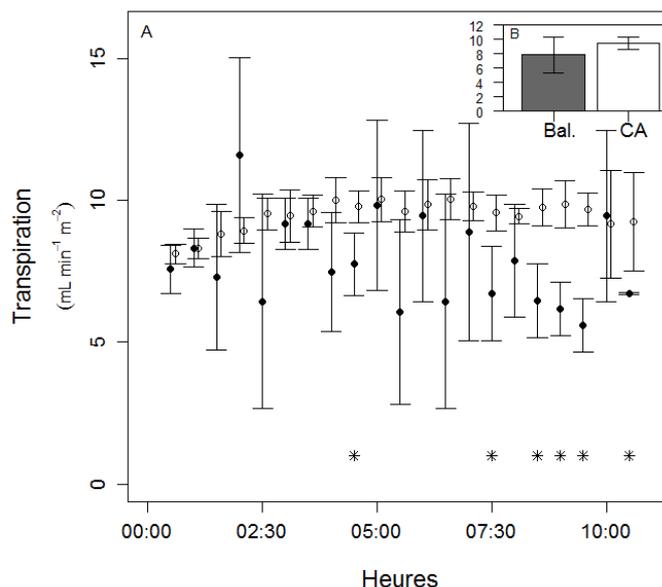


Figure 9. Transpirations du colza mesurées avec une chambre d'assimilation et avec une balance.

Les transpirations ont été mesurées pendant 10h h de jour en chambre de culture. Sur la **Figure A**, chaque point correspond à la moyenne des transpirations (mL H₂O/min/m²) de trois plants de colza sur une période de 30 min. Les cercles vides et pleins correspondent respectivement aux mesures réalisées avec la chambre d'assimilation et avec la balance. La **Figure B** montre les valeurs moyennes de transpiration sur la période de 10 h mesurées avec la balance (Bal., en gris) ou avec la chambre d'assimilation (CA, en blanc). Les barres d'erreur correspondent aux écart-types, les étoiles représentent les différences significatives (P<5%).

Évolutions journalières de la photosynthèse et de la respiration à l'échelle plante entière

Les évolutions de la photosynthèse et de la respiration des trois plantes de microvigne (chambres 1 à 3) et de la chambre vide (chambre 4) pour un exemple de mesures à 25°C le jour et 15°C la nuit sont représentées dans la **Figure 10**. Les variations de CO₂ dans la chambre vide au cours des 24 h d'enregistrement, sont proches de zéro. Dans les autres chambres, la photosynthèse décroît lentement pendant la phase diurne. De façon similaire, la respiration tend à diminuer pendant la phase obscure. La photosynthèse et la respiration par unité de surface foliaire ont été moyennées pour les trois plantes (**Figure 10E**), puis corrigées par les variations de CO₂ de la chambre vide (**Figure 10F**) pour être comparées aux mesures localisées sur les feuilles.

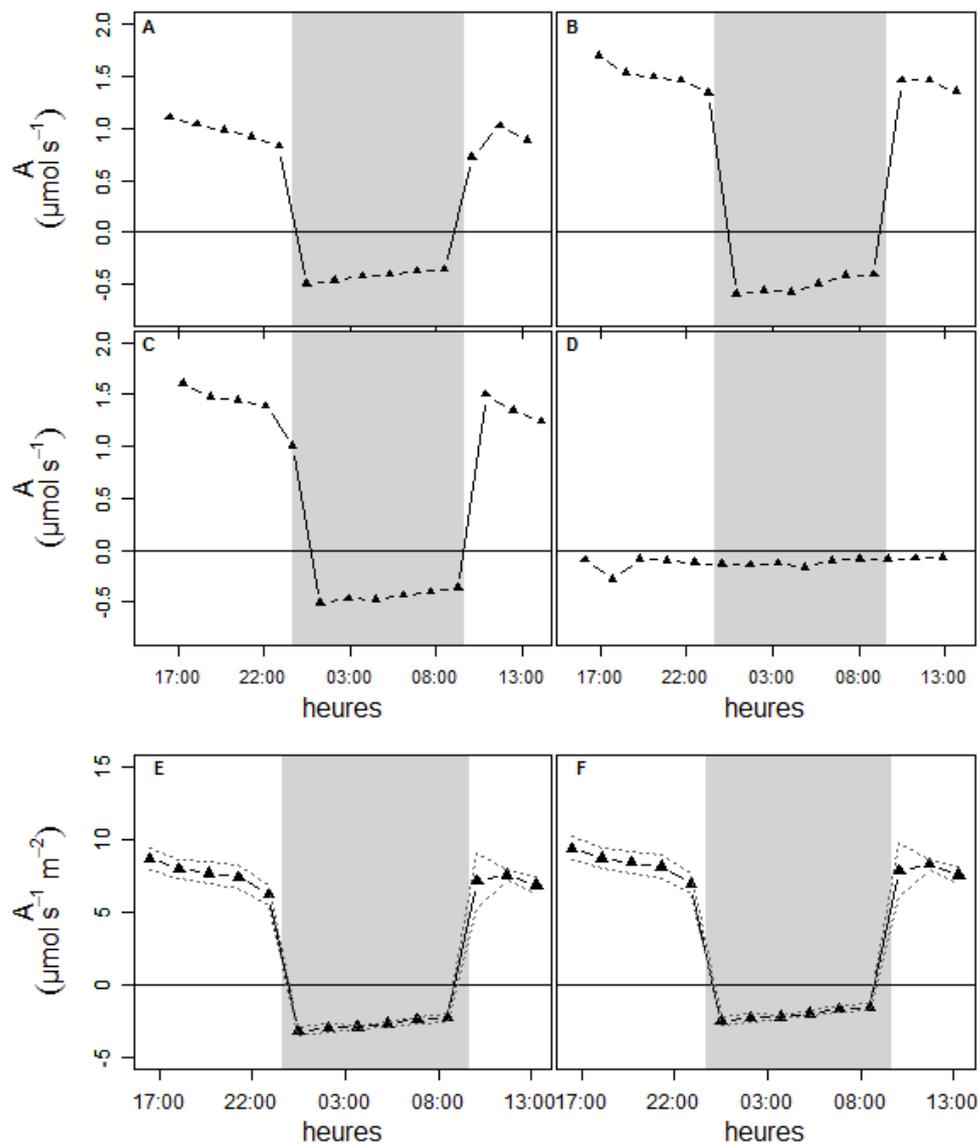


Figure 10. Photosynthèse et respiration à l'échelle plante entière de la microvigne.

Les mesures d'assimilation du CO₂ (μmol CO₂ /s) sur une période de 24 h aux températures de 25°C/15°C (jour/nuit) sont représentées pour les trois chambres contenant des plantes (1-A, 2-B et 3-C) et pour la chambre vide (4-D). Les échanges de CO₂ par unité de surface foliaire moyens des trois plantes (μmol CO₂/m²/s) avant et après correction par les variations de CO₂ de la chambre vide sont représentés dans les **Figures E et F** respectivement. Chaque point représente la moyenne sur une période de 20 min. Les lignes en pointillés correspondent aux écart-types et les zones grisées à la phase obscure.

Les échanges de CO₂ à l'échelle plante entière ou localisés sur les feuilles sont-ils comparables?

L'activité photosynthétique et la respiration de la microvigne, mesurées à l'échelle plante entière avec les chambres d'assimilation ou à l'échelle foliaire avec un analyseur d'échanges gazeux ont été comparées à différents paliers de températures (15 à 30°C la nuit et 20 à 35°C le jour).

La photosynthèse à l'échelle foliaire tend à diminuer avec l'augmentation de la température quel que soit le rang depuis l'apex (5,10 et 25) (**Figure 11A**). Aucun effet du rang sur la photosynthèse n'est observé aux différents paliers de température (P>5%) dans nos conditions de PAR (580 μmol/m²/s). D'après Zufferey et al. (2000), les niveaux de photosynthèse des jeunes feuilles (rang depuis l'apex inférieur à 6) sont au contraire inférieurs à ceux

des feuilles plus âgées lorsque le PAR est saturant ($>1600 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$). La respiration foliaire nocturne augmente avec les températures élevées. La photosynthèse est significativement supérieure pour les jeunes feuilles (5) par rapport aux feuilles matures (10 et 25), conformément aux travaux de Zufferey et al., 2000 (Figure 11A, $P < 0,1\%$).

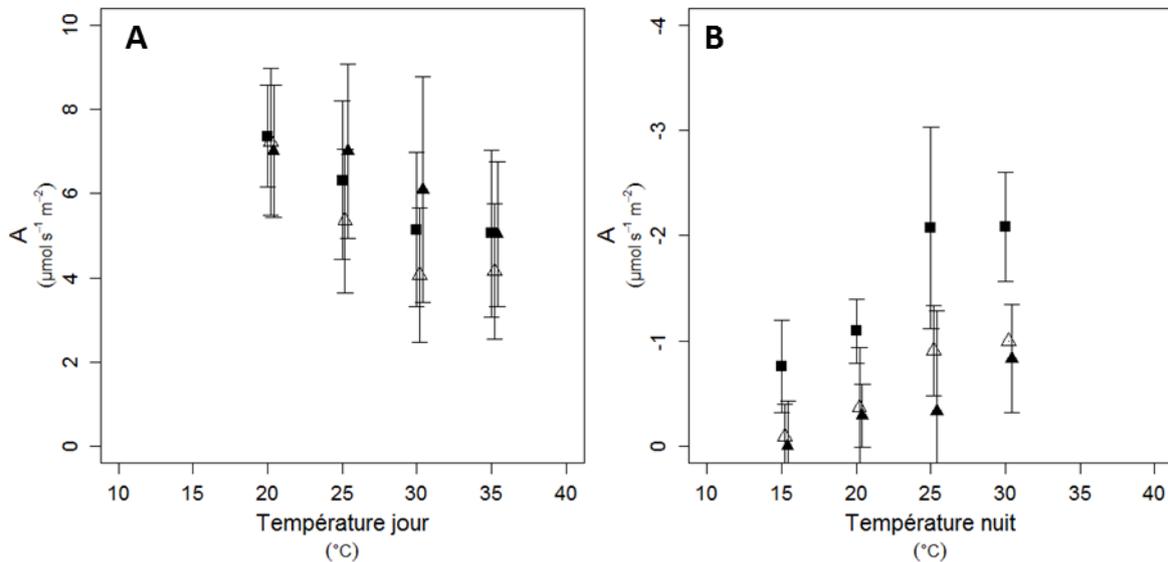


Figure 11. Réponses de la photosynthèse (A) et de la respiration (B) de la microvigne à la température à trois rangs comptés depuis l'apex via la pince du LICOR®.

Les données sont exprimées en $\mu\text{mol CO}_2 / \text{m}^2 / \text{s}$. Les rangs 5, 10, 25 sont respectivement représentés par des carrés noirs, des triangles vides et des triangles pleins. Chaque point représente la moyenne de 6 plantes par rang. Les barres d'erreur représentent les écart-types.

La photosynthèse et la respiration à l'échelle plante entière ont été mesurées aux mêmes paliers de température que pour les mesures localisées sur les feuilles ci-dessus. Similairement aux mesures foliaires, l'élévation de la température tend à diminuer la photosynthèse et à augmenter la respiration (Figure 12).

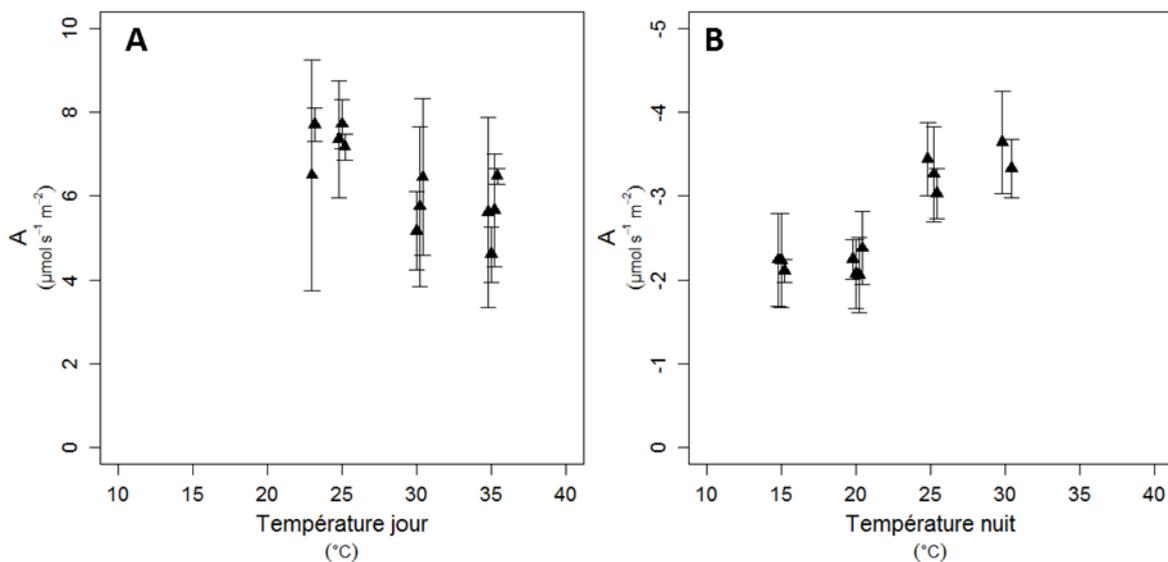


Figure 12. Réponses de la photosynthèse (A) et de la respiration (B) de la microvigne à la température mesurées à l'échelle plante entière.

Les données sont exprimées en $\mu\text{mol CO}_2 / \text{m}^2 / \text{s}$. Chaque point représente la moyenne de trois plantes par jour de mesures. Les barres d'erreurs représentent les écart-types.

Les échanges gazeux à l'échelle plante entière et foliaire ont ensuite été comparés (**Figure 13**). Les valeurs mesurées sur feuilles ont été intégrées à l'échelle plante entière en prenant en compte une valeur unique pour la photosynthèse quel que soit le rang de feuille mais une valeur dépendante du rang pour la respiration. Les valeurs de photosynthèse à l'échelle plante entière sont légèrement plus faibles comparées à celles à l'échelle foliaire (16% en moyenne, **Figure 13A**). Cela peut être expliqué par l'activité photosynthétique plus faible des feuilles les plus âgées. A l'inverse, les mesures avec la pince semblent fortement sous-estimer la respiration de la plante entière (**Figure 13B**). Cette différence est sûrement due à la respiration d'autres organes que les feuilles comme la tige, les pétioles et le bois qui représentent 50% de la biomasse aérienne (Smart, 2004).

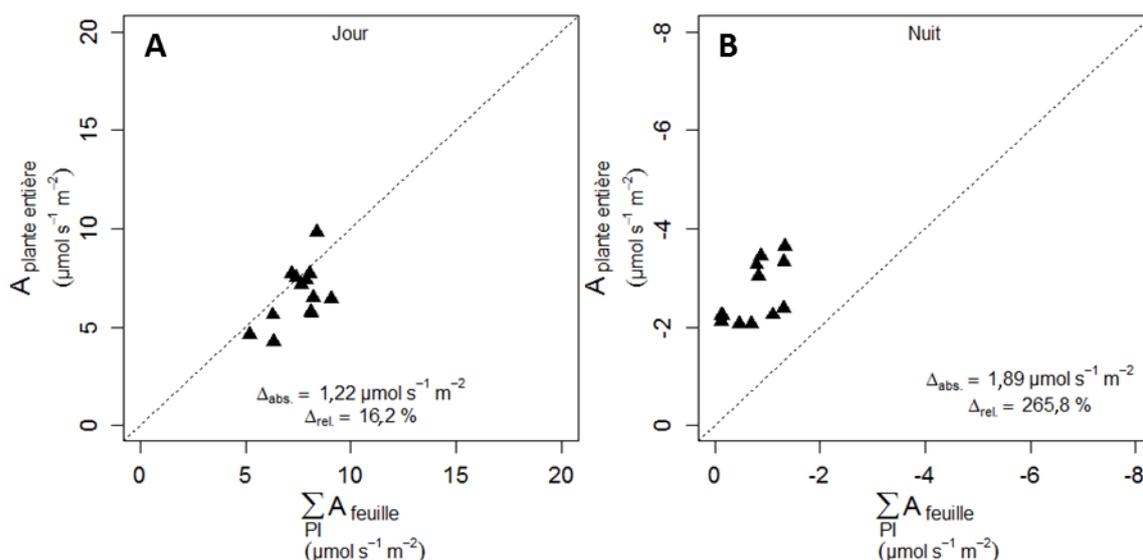


Figure 13. Relation entre les échanges de CO₂ à l'échelle plante entière mesurée et estimée via les mesures sur feuilles.

Chaque point représente la moyenne de trois plantes pour chaque palier thermique et est exprimé μmol CO₂ / m²/s. Les valeurs estimées sont obtenues à partir des mesures effectuées sur feuilles et calculées comme étant la somme des échanges de CO₂ de tous les rangs de feuilles normalisés par la surface foliaire totale. La pente 1:1 est représentée par la ligne en pointillés. Δ_{abs.} et Δ_{rel.} correspondent respectivement à la moyenne absolue et relative de l'écart à la droite 1 : 1.

Limites et perspectives d'amélioration des chambres d'assimilation

Les mesures de transpiration et de photosynthèse à partir des chambres d'assimilation sont en adéquation avec les mesures obtenues par d'autres méthodes utilisées en routine en écophysiologie (balances, analyseur d'échange gazeux). Quelques limites concernant les chambres et pistes d'améliorations sont toutefois énumérées ci-dessous afin d'augmenter leur précision et leur domaine d'application dans le futur.

Le flux d'air entrant dans les chambres est une variable indispensable et déterminante tant pour le calcul de la photosynthèse, que pour la respiration et la transpiration. Les capteurs de pression utilisés sont dans notre cas moins précis que des anémomètres. Une des prochaines étapes d'amélioration des chambres consistera donc à remplacer ces capteurs par des sondes plus adéquates. Bien que la pression atmosphérique *P* (présente dans les équations 1, 4 et 7) ait une influence mineure sur le calcul des échanges gazeux, une valeur fixe à 1013 hPa entraîne une légère perte de précision. L'installation d'un capteur de pression atmosphérique est donc envisagée.

A ce jour, il est impossible de réguler le taux de CO₂ dans les chambres d'assimilation. Une attention toute particulière est donc portée sur ce point, et différentes pistes sont envisagées. Une chambre de culture où le taux de CO₂ serait ajustable et d'où serait extrait l'air vers les chambres d'assimilation pourrait être créée. Le développement d'un dispositif de régulation du CO₂ intégré au système est également envisagé.

Le polyméthacrylate de méthyle, exposé à un fort rayonnement et à des températures élevées, a tendance à devenir opaque avec le temps. Ce phénomène n'a pas encore été observé sur nos enceintes après plus de 300 h d'utilisation. Cependant des mesures de spectrophotométrie doivent être réalisés régulièrement afin de suivre le vieillissement de nos enceintes et pouvoir ainsi les renouveler quand nécessaire.

La méthode d' « inversion d'échantillonnage » remplit pleinement son rôle, cependant il est possible de monter en option sur le CIRAS DC un « Probe connector », qui permet de déclencher l'auto-calibration de l'analyseur en envoyant un signal 5 volts. Ainsi, il serait possible de définir cette auto-calibration à intervalles de temps connus et réguliers (à chaque changement de chambre par exemple) et d'arrêter les autres mesures pendant cette étape (environ 3 min). L' « inversion d'échantillonnage » deviendrait ainsi inutile sans qu'il soit nécessaire de procéder à un nettoyage manuel des données.

Conclusion

Un système permettant de mesurer la photosynthèse nette et la respiration en dynamique et à l'échelle de la plante entière a été développé. Le système est adapté aux expérimentations sur plantes en pot en conditions contrôlées, semi-contrôlées et en extérieur. La photosynthèse nette et la respiration peuvent être mesurées sur quatre plantes simultanément. A la différence des prototypes existants, les chambres ont été conçues ici sur la base d'emboîtement de cylindres amovibles, afin de pouvoir s'adapter à la surface foliaire et au volume du matériel végétal expérimenté.

Les chambres ont été testées en conditions de culture contrôlées sur deux espèces végétales, la microvigne et le colza. Ces premiers tests nous ont servi à définir un protocole permettant d'optimiser la fiabilité des mesures d'échanges gazeux (corrections par des mesures sur pot sans plante et dans une chambre vide) et de minimiser leurs fluctuations (adaptation du flux d'air entrant et des plages de mesures au moment de la récupération du signal analogique selon le matériel végétal). Le système a répondu positivement aux attentes des expérimentateurs sur les deux espèces végétales présentées et des essais récents sont en cours d'analyse sur maïs. Le système développé est novateur pour la conduite d'expérimentations en conditions climatiques contrôlées. Il devrait permettre de tester de nouvelles hypothèses de recherche sur l'impact des changements climatiques (variations individuelles ou combinées de la température, du VPD et du CO₂) sur le bilan carboné et l'efficacité d'utilisation de l'eau des cultures à coût réduit (**Annexe, Tableau 1**).

Remerciements

Ce système a pu être développé grâce aux financements de l'ANR, projet DURAVITIS et de l'Europe dans le cadre d'un projet EIT Climate-KIC AgwaterBreed. Nous tenons tout d'abord à remercier Jorge Pietro, Olivier Turc, Thierry Simonneau et Éric Lebon pour le partage de leurs connaissances et de leur expérience. Merci aussi à Jean-Marc Bonnefond pour la formation sur CR1000 qu'il nous a délivrée. Nous remercions également Julien Lopez et Anthony Rosello pour leur appui technique ainsi que Christine Granier, Maryline Lièvre, Léa Tardieu et Alain Bédiée pour leurs relectures et leurs précieuses modifications.

Références bibliographiques pages suivantes

Références bibliographiques

- Boss PK, Thomas MR (2002) Association of dwarfism and floral induction with a grape 'green revolution' mutation. *Nature* **416** (6883) : 847-850.
- Centinari M, Poni S, Filippetti I, Magnanini E, Intriери C (2009) Evaluation of an open portable chamber system for measuring cover crop water use in a vineyard and comparison with a mini lysimeter approach. *Agric Forest Meteorol* **149** : 1975-1982.
- Daudet A (1987) Un système simple pour la mesure *in situ* des échanges gazeux de couverts végétaux de quelques mètres carrés de surface foliaire. *Agronomie* **7** : 133-139.
- Farquhar GD, von Caemmerer S, Berry JA (1980) A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C3 species. *Planta* **149** : 78-90.
- Flexas J, Galmés J, Gallé A, Gulias J, Pou A, Ribas-Carbo M, Tomàs M, Medrano H (2010) Improving water use efficiency in grapevines: potential physiological targets for biotechnological improvement. *Aust J Grape Wine Res* **16** (s1) : 106-121.
- Louarn G, Lecoeur J, Lebon E (2008) A 3D statistical reconstruction model of grapevine (*Vitis vinifera* L.) simulating canopy structure variability within and between cultivars/training system pairs. *Annal Bot* **101**: 1167-1184.
- Luchaire N, Rienth M, Nehe A, Torregrosa L, Romieu C, Muller B, Pellegrino A (2013) The *microvine*: an ecophysiological model for grapevine. In: Queiroz J, Carneiro A, (eds), Proceedings 18th International Symposium GiESCO, 2013, Porto. Cienci Tecnica Vitivinic, 788-794.
- Müller J, Behrens T, Diepenbrock W (2005) Measurement and modelling of canopy gas exchange of oilseed rape. *Agric Forest Meteorol* **181**: 200-232.
- Perez-Peña J, Tarara J (2004) A portable whole canopy gas exchange system for several mature field-grown grapevines. *Vitis* **43** : 7-14.
- Poni S, Magnanini E, Rebucci B (1997) An automated chamber system for measurements of whole-vine gas exchange. *HortScience* **32**: 64-67.
- Poni S, Bernizzoni F, Civardi S (2008) The effect of early leaf removal on whole-canopy gas exchange and vine performance of *Vitis vinifera* L. "Sangiovese". *Vitis* **47**: 1-6.
- Prieto JA (2011) Simulation of photosynthesis and transpiration within grapevine (*Vitis vinifera* L.) Canopies based on a 3D architectural model. Application to training system evaluation. Thèse de doctorat, Montpellier SupAgro, 161p.
- Prieto JA, Ojeda H, Lebon E (2012) A leaf gas exchange model that accounts for intra-canopy variability by considering leaf nitrogen content and local acclimation to radiation in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Plant Cell Environ* **35** : 1313-1328.
- Smart DR (2004) Exposure to elevated carbon dioxide concentration in the dark lowers the respiration quotient of *Vitis* cane wood. *Tree Physiol* **24** : 115-120.

Zufferey V, Murisier F, Schultz HR (2000). A model analysis of the photosynthetic response of *Vitis vinifera* L. cvs Riesling and Chasselas leaves in the field : I. Interaction of age, light and temperature. *Vitis* 2000, **39** : 19–26.

Annexe

Récupération du signal analogique

Le paramétrage pour récupérer le signal analogique se fait en deux temps. La première étape s'effectue au niveau de l'analyseur. Aller dans File/préférence. Cliquer sur l'onglet « Edit Parameters ». La fenêtre « CIRAS-SC/DC Parameters » s'ouvre (**Figure 14**). C'est ici qu'on renseignera l'analyseur sur la plage de mesure dans laquelle l'étude se déroulera. Dans le cas présent, le taux de CO₂ de l'air doit être compris entre 350 et 550 ppm, et le différentiel peut aller jusqu'à 40 (entre -20 et +20 ppm), la pression partielle d'H₂O doit être comprise entre 5 mbar et 25 mbar et le plus grand différentiel mesurable est de 10 (entre -5 et +5 mbar). En dehors de ces gammes de mesures la centrale d'acquisition ne pourra pas restituer les valeurs mesurées par l'analyseur.

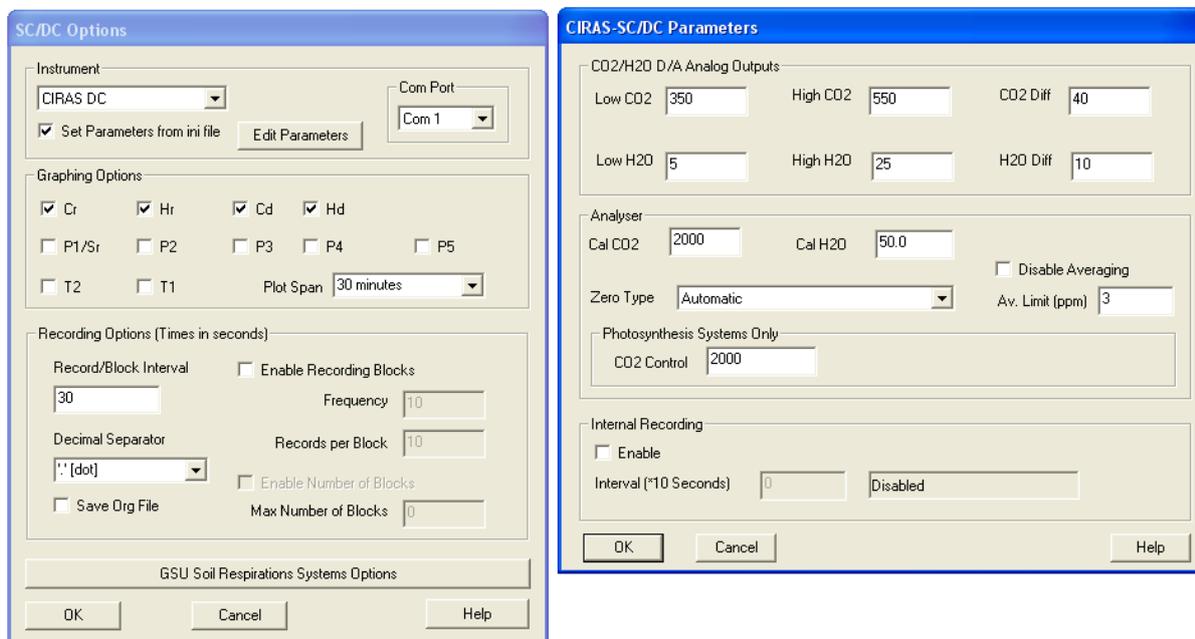


Figure 14. Paramétrage pour récupérer le signal analogique émis par le CIRAS.

Le signal analogique émis par le CIRAS est compris entre 0 et 5000 millivolts. La seconde étape consiste à entrer dans la CR1000 les coefficients et offsets, concernant la plage de mesure CO₂ et H₂O ainsi que leurs plages de différentiel, qui permettront de reconvertir les millivolts émis par l'analyseur en ppm pour le CO₂ et en mbar pour le H₂O.

Les plages de mesures se définissent ainsi :

$$V = \frac{(x-y)}{(z-y)} \times 5000 \quad (\text{eq. 13})$$

où V représente le voltage (en millivolts) émis par le CIRAS, x le taux de CO₂ dans l'air qu'on cherche à mesurer, y le taux de CO₂ minimal mesurable et z le taux de CO₂ maximal mesurable.

x peut également représenter la pression partielle d'H₂O qu'on cherche à mesurer, y la pression partielle minimale mesurable et z la pression partielle maximale mesurable.

Le Cahier des Techniques de l'INRA 2015 (86)

Ainsi :

$$x = V \times \frac{(z-y)}{5000} + y \quad (\text{eq. 14})$$

Selon la **Figure 17** et pour le CO₂ :

$$x = V \times \frac{200}{5000} + 350 = 0,04V + 350. \quad (\text{eq. 15})$$

Le coefficient à appliquer pour le CO₂ est donc 0,04 et l'offset est 350.

Le même calcul est réalisé pour la pression partielle de vapeur d'eau :

$$x = V \times \frac{20}{5000} + 5 = 0,004V + 5. \quad (\text{eq. 16})$$

Le coefficient à appliquer pour l'H₂O est donc 0,004 et l'offset est 5.

Les différentiels se calculent ainsi :

$$V = \frac{x}{diffmax} \times 2500 + 2500 \quad (\text{eq. 17})$$

où *diffmax* est la valeur maximale du différentiel de CO₂ mesurable (en positif comme en négatif).

diffmax peut également représenter la valeur maximale du différentiel d'H₂O mesurable (en positif comme en négatif).

Ainsi :

$$x = \left(\frac{diffmax}{2500} \right) \times (V - 2500) \quad (\text{eq. 18})$$

dans notre cas pour le CO₂:

$$x = \left(\frac{20}{2500} \right) \times (V - 2500) = 0,008V - 20 \quad (\text{eq. 19})$$

Le coefficient à appliquer pour le CO₂ différentiel est donc 0,008 et l'offset est -20.

Le même calcul est réalisé pour la pression partielle d'H₂O.

Soit :

$$x = \left(\frac{5}{2500} \right) \times (V - 2500) = 0,002V - 5 \quad (\text{eq. 20})$$

Le coefficient à appliquer pour le différentiel de pression partielle de vapeur d'eau est donc 0,002 et l'offset est -5.

Armoire comprenant la centrale d'acquisition de données et les variateurs (**Figure 15**) et Armoire contenant les électrovannes (**Figure 16**) voir page suivante.

Armoire comprenant la centrale d'acquisition de données et les variateurs



Figure 15. CR1000 et variateurs permettant de régler le débit d'air entrant dans les chambres. (Photo : LEPSE)

Armoire contenant les électrovannes

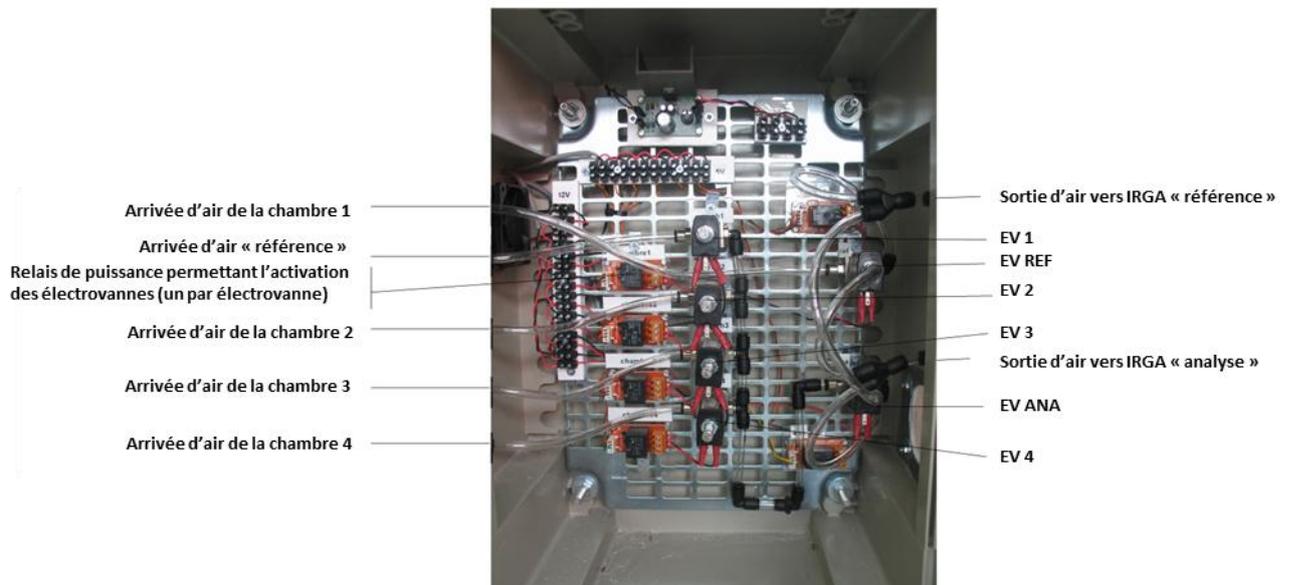


Figure 16. Armoire contenant les électrovannes. (Photo : LEPSE)

Coût du système

Tableau 1. Tableau récapitulatifs du coût du système en euros

Matériel						Nombre de chambres			
Par chambre	Qté	P.U.	P.T.	Fournisseur	ref	x1	x2	x3	x4
Cylindre diam. 500, H300XT + demi sphère	1	1182	1182	Plasti-D					
Equerre ventilateur/ capteur (x2)	10	4,96	49,6	RS	387-4034				
Ventilateur pour capteurs	4	9,5	38	RS	191-503				
Capteur PAR	4	8	32	LEPSE					
Ventilateur chambre	16	11,27	180,32	RS	541-4971				
Rotronic HC2-S	5	220	1100	Rotronic	HCS-2				
Cable rotronic HC2-S	5	198	990	Rotronic	E2-05XX-ACT/01				
Tube PVC 125 mm flexible 6m	2	77	154	Manutan	1824M412				
Ventilateur 330 m3/h	4	119	476	Econology	002-5974				
Variateur	4	100	400	Econology	002-0238				
Colliers vent/gaine (x2)	4	25	100	Econology	002-5076				
Capteur de pression	4	120,78	483,12	RS	395-285				
Total			5 185,04						
Commun	Qté	P.U.	P.T.	Fournisseur	ref	x1	x2	x3	x4
Ciras DC	1	9000	9000	PPSystem					
CR 1000	1	1295	1295	Campbell					
Multiplexeur	1	491	491	Campbell					
Tuyau air 0604	1	18,7	18,7	RS	721-4001				
Embouts traverse cloison (x5)	3	26,61	79,83	RS	327-2343				
Embouts Y	1	27,74	27,74	RS	812-229				
Embouts coude tube-tube (x5)	2	16,89	33,78	RS	812-061				
Embouts droit	4	10,78	43,12	RS	812-049				
Embouts coude traverse cloison	1	37,87	37,87	RS	327-2400				
Tube air 0403	1	12,63	12,63	RS	2508753913				
Embouts 06 -> 04	2	10,63	21,26	RS	326-9101				
Embouts coude tube-tube 4mm (x5)	2	16,09	32,18	RS	812-055				
Electrovanne	6	49,4	296,4	Burkert					
Ventilateur boitier	2	11,27	22,54	RS	541-4971				
Boitier électrique	1	241,9	241,9	RS	251-5481				
Grille	1	58,7	58,7	RS	228-8303				
Armoire électrovanne	1	183,8	183,8	RS	251-5469				
Grille pour armoire électrovanne	1	36,9	36,9	RS	228-8252				
Débimètre	2	481,1	962,2	Fisher instrument					
Total			12 895,55						
TOTAL						18 080,59	23 265,63	28 450,67	33 635,71