

La technique optique pour suivre l'embolie estivale des arbres

Correspondance

julien.cartailleur@inrae.fr

Julien CARTAILLER¹,
Marylou MANTOVA^{1,2},
José M. TORRES-RUIZ²

Résumé.

Dans un contexte de réchauffement climatique, l'unité mixte INRAE PIAF (Physique et Physiologie Intégratives de l'Arbre en environnement Fluctuant) et l'équipe SUREAU (Sûreté hydraulique et résistance à la sécheresse des arbres) effectuent des recherches sur le suivi de l'embolie estivale (cavitation) des arbres. Pour suivre cette embolie, nous utilisons, par le passé, le Xyl'em. Mais cette technique hydraulique étant destructive, elle réclamait beaucoup de matériel végétal. C'est pourquoi, nous avons opté pour la méthode optique que nous avons adapté à nos besoins. Cette technique s'appuie sur deux dispositifs, un scanner et un cavacam (Raspberry Pi + caméra), complétés par un traitement d'images sous ImageJ. Des photos ou des scans sont effectués toutes les 5 minutes de façon automatique et un traitement des photos après l'expérimentation permet de visualiser la formation et la propagation de l'embolie au cours du temps. La technique optique présente plusieurs avantages car elle utilise moins de matériel végétal et, étant semi-automatisée, génère un gain de temps. Une amélioration de cette technique est actuellement en cours au sein de l'UMR PIAF afin de la rendre plus précise.

Mots-clés

Optique, cavitation, embolie, sécheresse, arbres, mesure, potentiel hydrique.

¹ INRAE - UCA, UMR 0547 PIAF Physique et physiologie Intégratives de l'Arbre en environnement Fluctuant. Centre de recherche Clermont-Auvergne-Rhône-Alpes, F-63100 Clermont-Ferrand, France.

² Agronomy department, University of Florida, Gainesville, FL 32603, USA.

Optical technology for monitoring summer embolism in trees

Julien CARTAILLER¹,
Marylou MANTOVA^{1,2}
José M. TORRES-RUIZ²

Correspondence

julien.cartailler@inrae.fr

Abstract.

In the context of global warming, the INRAE PIAF joint unit (Integrative Physics and Physiology of Trees in Fluctuating Environments) and the SUREAU team (Hydraulic Safety and Drought Resistance of Trees) are monitoring the propagation of summer embolism (cavitation) in trees. To monitor this embolism, the Xyl'em apparatus was originally used, but this is a destructive hydraulic technique requiring a large quantity of plant material. therefore, we opted for the optical method, which we have adapted to our needs. This technique is based on two devices, a scanner and a cavicam (Raspberry Pi + camera), complemented by an image processing in ImageJ. Automatic photos or scans are taken every 5 minutes, and the photos are processed after the experiment to visualize embolism formation and propagation over time. The optical technique offers several advantages: it requires less plant material and saves time because it is semi-automated. This technique is currently being improved at UMR PIAF to make it more precise.

Keywords

Optics, cavitation, embolism, drought, trees, measurement, water potential.

¹ INRAE - UCA, UMR 0547 PIAF Physique et physiologie Intégratives de l'Arbre en environnement Fluctuant. Centre de recherche Clermont-Auvergne-Rhône-Alpes, F-63100 Clermont-Ferrand, France.

² Agronomy department, University of Florida, Gainesville, FL 32603, USA.

Glossaire

Cavitation : Processus correspondant à la formation d'une bulle d'air dans les vaisseaux des plantes (le xylème), qui vient rompre la colonne d'eau et rend ainsi l'appareil vasculaire impropre au transport de la sève.

Embolie estivale : L'embolie est une conséquence de la cavitation, c'est-à-dire la formation d'une bulle d'air dans le circuit de circulation d'eau des arbres. L'embolie estivale a lieu en présence d'un stress hydrique lors des événements de sécheresse.

Défaillance hydraulique du xylème : État physiologique dans lequel la perte de la conductance du xylème provoque un effet d'emballage conduisant à une déshydratation irréversible des tissus des organes distaux.

Conductance hydraulique : La capacité d'un arbre à transporter de l'eau des racines aux feuilles. Elle se définit par le débit par unité de pression.

Raspberry Pi : Nano-ordinateur monocarte à processeur ARM de la taille d'une carte de crédit conçu par des professeurs du département informatique de l'université de Cambridge et à faible coût.

Potentiel hydrique : Grandeur physique qui représente la tension de la colonne d'eau dans les vaisseaux du xylème. Plus l'air est sec et plus la tension augmente.

Psychromètre : Instrument permettant de déterminer l'humidité relative de l'air environnant.

Thermocouple : Capteur servant à mesurer la température. Il se compose de deux métaux reliés à une extrémité. Quand la jonction des métaux est chauffée ou réfrigérée, une tension variable est produite et peut être ensuite transcrite en température.

Température de rosée : Température sous laquelle de la rosée se dépose naturellement. Plus techniquement, en dessous de cette température, qui dépend de la pression et de l'humidité ambiante, la vapeur d'eau contenue dans l'air se condense sur les surfaces par effet de saturation.

Xylème : Tissu conducteur des plantes. Il conduit la sève brute des racines vers les feuilles et constitue, entre autres, le bois des arbres. Il peut être comparé à une colonne d'eau sous tension.

Introduction

Dans un contexte de réchauffement climatique (IPCC 2022), la mortalité des arbres liée aux conditions de sécheresse et aux températures élevées a été observée sous différents climats dans le monde (Figure 1) (Hammond *et al.*, 2022). Ce phénomène, qui augmente chaque année, est principalement lié à la défaillance hydraulique du xylème des arbres (IPCC 2022). En effet, pendant une sécheresse, l'air ambiant est chaud et sec (transpiration élevée) et la réserve en eau du sol diminue. Ceci a pour effet d'augmenter la tension de la colonne d'eau dans le tissu responsable de la conduction de la sève brute, le xylème. Quand cette tension devient trop forte, la colonne d'eau se casse, c'est ce qu'on appelle la "cavitation", et des bulles d'air (embolies) se forment dans les éléments conducteurs du xylème (Figure 2). L'accumulation des éléments embolisés dans le xylème entraîne une défaillance hydraulique et la mortalité de l'arbre (Figure 3). La vulnérabilité à la cavitation est un paramètre qui a été mesuré sur un grand nombre d'espèces ligneuses et qui apparaît central dans le processus de mortalité des arbres. Cependant, des espèces ou des variétés ayant une même vulnérabilité peuvent montrer des cinétiques d'apparition de la cavitation très différentes, et ce, même si les conditions environnementales sont identiques. Cette cinétique devient donc une problématique majeure dans la compréhension des réponses des végétaux à un stress hydrique.

Dans le cadre des recherches de l'équipe SUREAU (Sûreté hydraulique et résistance à la sécheresse des arbres), membre de l'UMR INRAE PIAF (Physique et Physiologie Intégratives de l'Arbre en environnement Fluctuant), un dispositif de suivi de l'embolie estivale des arbres au cours d'une sécheresse a été mis en place. Avant l'apparition de la méthode optique, le suivi des phénomènes de cavitation et de propagation de l'embolie requérait une mesure destructive réalisée au moyen d'un Xyl'EM, appareil permettant de mesurer la conductance hydraulique au niveau de la tige à l'aide d'un débitmètre et d'un capteur de pression. Cependant, cette méthode nécessitait le prélèvement d'un morceau de tige de la plante lors de la réalisation de chaque mesure. Le suivi de l'entièreté de la séquence de propagation de l'embolie au sein d'un organe de la plante réclamait beaucoup de mesures, beaucoup de temps, et énormément de matériel végétal. De plus, le suivi de la propagation de l'embolie n'était pas possible dans les feuilles.

C'est pourquoi nous avons opté, au sein de l'UMR PIAF, pour la méthode optique, décrite ici, que nous avons adapté à nos besoins. Cette technique consiste à scanner une feuille tous les 5 minutes et à repérer les bulles d'air au cours du temps. Elle s'appuie sur deux dispositifs : un scanner et un cavacam (Raspberry Pi + caméra) complétés par un traitement d'images sous ImageJ.

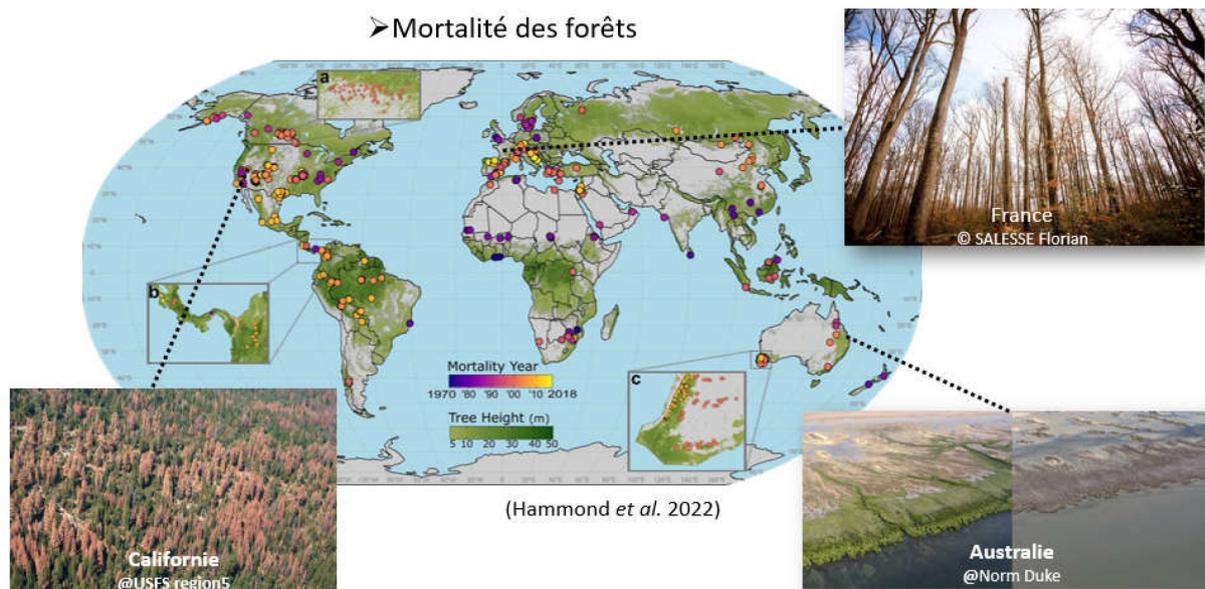


Figure 1. Répartition mondiale de la mortalité des arbres induite par sécheresse

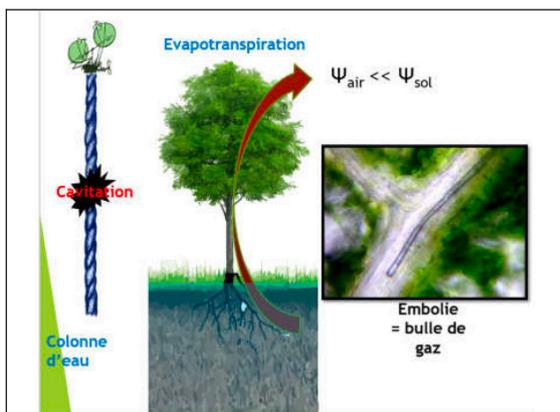


Figure 2. Formation de la cavitation (M. Mantova et H. Cochard)

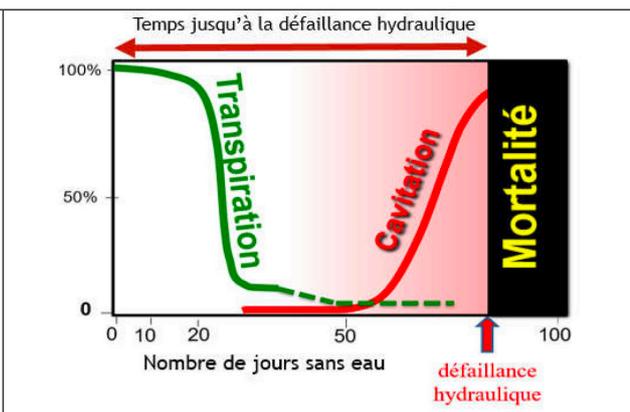


Figure 3. Relation entre cavitation et mortalité (S. Delzon et H. Cochard 2014)

Les dispositifs de la méthode optique

La technique optique s'appuie sur deux dispositifs pour la détection de l'embolie à l'échelle foliaire : un scanner et une cavicam. Ces deux dispositifs sont complémentaires suivant les utilisations ; ainsi le scanner est utilisé pour scanner une feuille entière au laboratoire alors que la cavicam, plus polyvalente, peut être utilisée pour effectuer la comparaison de plusieurs traitements (stress hydrique, stress de lumière, témoin) en serre ou en extérieur.

Scanner

Le premier dispositif est composé d'un scanner (Epson Perfection V800 photo) relié à un ordinateur (Figure 4). Deux logiciels sont utilisés pour effectuer la mesure, le logiciel du scanner pour paramétrer le scanner et un logiciel pour automatiser la numérisation (1 scan toutes les 5 minutes) (Figure 5 et 6).

La résolution du scanner est de 4 800 DPI (la résolution 1 200 DPI est utilisée car elle est suffisante pour détecter l'embolie) et sa dimension A4 permet de scanner une ou deux feuilles en parallèle. Le scanner est utilisé en transmission (la lumière traverse l'objet) et les scans sont réalisés en nuances de gris. Pour ce dispositif, le coût réside uniquement sur le scanner qui est de 800 €.



Figure 4. Branche d'Eucalyptus viminalis dont les feuilles sont installées sous le scanner. (M. Mantova).

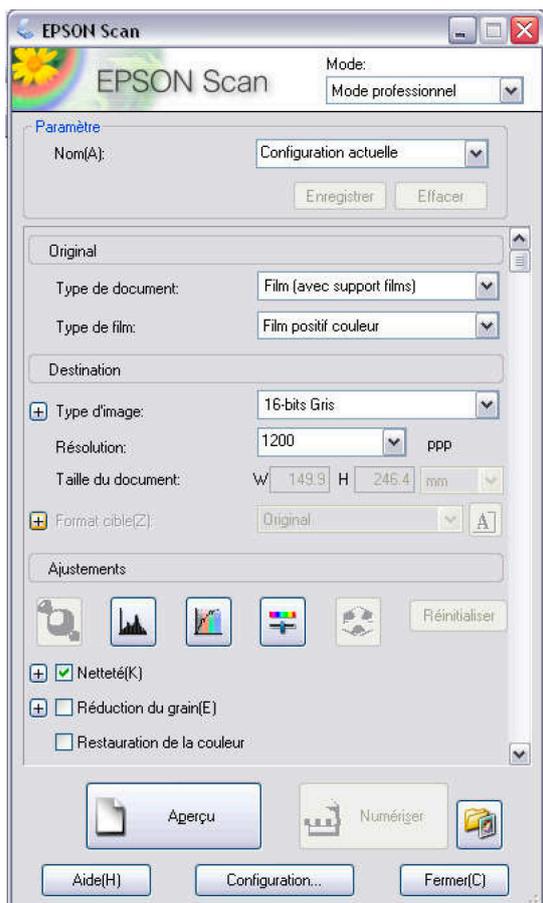


Figure 5. Paramétrage du scanner. (J. Cartailleur)

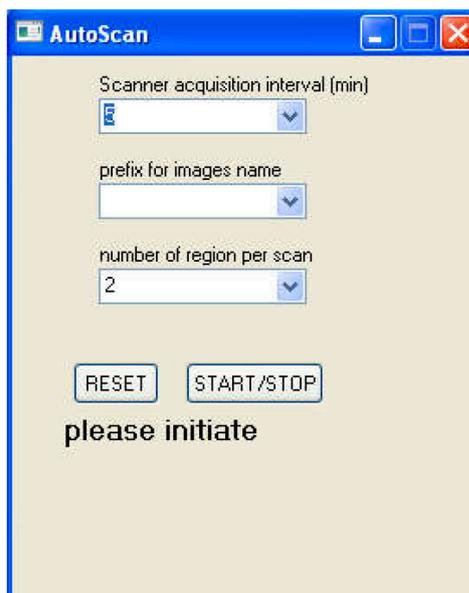


Figure 6. « Embolive » logiciel pour automatiser la numérisation. (J. Cartailleur)

Cavacam

Le deuxième dispositif, nommé Cavacam, est composé d'un Raspberry Pi (Modèle B, 3B, 3B+ ou 4), d'un boîtier en plastique (Figures 7 à 10) renfermant des LED pour éclairer la feuille, un objectif et une caméra. Ce boîtier est relié au Raspberry Pi par un câble nappe directement sur le port d'interface série. La résolution est de 2 592 x 1 944 px. Les LED permettent d'obtenir une lumière en transmission. Deux modèles de cavacam existent, un mini (Figures 7 et 8) de taille 60 x 50 x 45 mm présentant une zone de travail de 12 x 12 mm, et un standard (Figure 9 et 10) de taille 95 x 90 x 80 mm dont la zone de travail est de 25 x 25 mm.

Un programme en Python a été écrit sur le Raspberry Pi pour réaliser le paramétrage de la caméra et la prise de photo automatique (Figure 11). Les paramètres ajustables sont la vitesse d'obturation (*shutterspeed*), la quantité de lumière (ISO), la fréquence des photos et la durée totale de l'expérimentation. Le logiciel permet de visualiser en temps réel et de réaliser une photo test (*preview*) pour valider les paramètres. Le coût d'un boîtier est de 750 €, auquel il est nécessaire de rajouter 50 € pour le Raspberry Pi. Il est commercialisé par l'Université de Tasmanie en Australie mais le matériel et les programmes sont en accès libre si nous souhaitons les fabriquer nous-mêmes (<https://github.com/OpenSourceOV>).

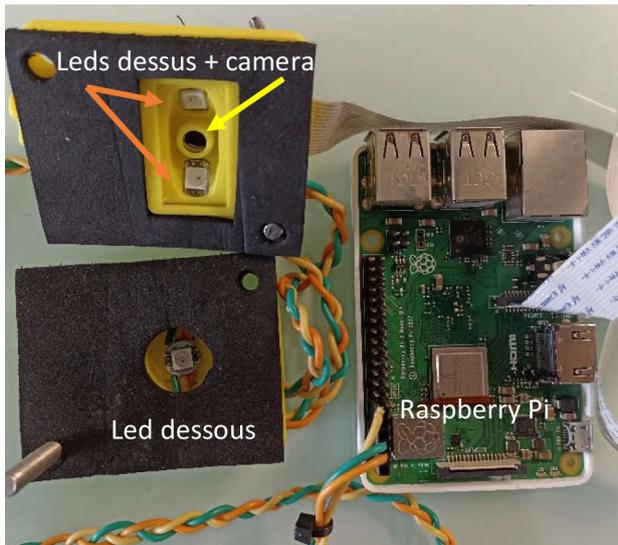


Figure 7. Vue éclatée avec tous les éléments. (J. Cartailier)



Figure 8. Vue de dessus avec une feuille. (J. Cartailier)

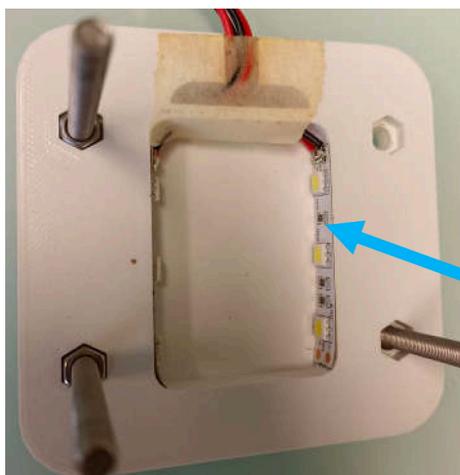
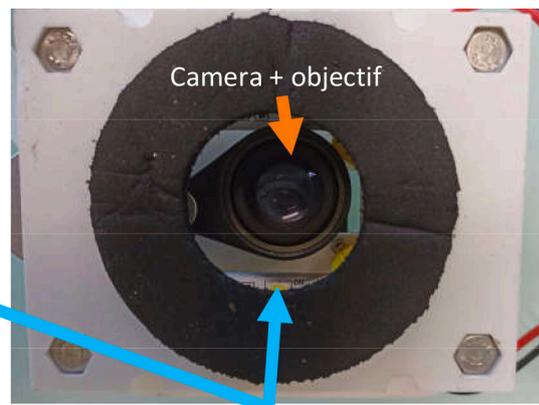


Figure 9. Boîtier dessous la feuille. (J. Cartailier)



Camera + objectif

Rampes de LED

Figure 10. Boîtier dessus la feuille. (J. Cartailier)

Capture	Process	Results	Advanced	Light	Restart	Shutdown
Config File	/home/pi/caviconsol/default-config.ini		Sequence Name	sample_1		
Shutterspeed	2000	- +	Output Directory	/home/pi/captures		
ISO	100	- +	Files saved to:	/home/pi/captures/sample_1		
Duration (hours)	2	- +	Resolution	Max (2592x1944)		
Interval (sec)	10	- +	Crop	<input type="radio"/> Enabled <input checked="" type="radio"/> Disabled		
Sample Type	<input type="radio"/> Stem <input checked="" type="radio"/> Leaf					
<input type="button" value="Read Config"/> <input type="button" value="Show Config"/> <input type="button" value="View Log"/> <input type="button" value="Live"/> <input type="button" value="Sync"/>				<input type="button" value="Preview"/> <input type="button" value="Start"/>		

Figure 11. Fenêtre de paramétrage de la caméra. (J. Cartailier)

Traitement des images

Après l'acquisition des images, le traitement de celles-ci se réalise sous ImageJ. Le protocole d'analyse est disponible en open-source (<https://www.opensourceov.org/>). La formation d'embolie peut être identifiée et quantifiée en soustrayant des images consécutives (Figure 12). Elle correspond aux changements dans les niveaux de gris associés au tissu vasculaire. La surface des pixels embolisés a été mesurée pour chaque image, et des analyses de seuil ont été utilisées pour éliminer le bruit lié au mouvement des feuilles lors du séchage. Le pourcentage de surface embolisée pour chaque image a été calculé comme la quantité d'embolie cumulée divisée par la surface embolisée totale de la zone scannée.

En combinant toutes les différences ensemble (Figure 13), il est possible de suivre la formation et la propagation de l'embolie. Nous considérons que l'état initial, c'est-à-dire la

première photo, correspond à un niveau de 0 % d'embolie et que lorsque tous les vaisseaux sont cavités le niveau d'embolie est de 100 % (surface totale embolisée).

En parallèle de ces photos, le potentiel hydrique de la plante, témoin de son état de déshydratation, est suivi à l'aide des capteurs psychromètres (PSY1 Stem Psychrometer de la société ICT international) (Figures 14 et 15). Le principe est le suivant : une chambre est positionnée sur une branche ou une feuille (Figure 14). Dans cette chambre, deux micro-thermocouples sont présents, un thermocouple mesure la température et la température de rosée de la chambre alors que le deuxième mesure la température et la température de rosée au niveau du xylème. À l'aide de ces 4 paramètres le capteur calcule le potentiel hydrique. Ce paramètre nous permet d'établir la courbe de vulnérabilité à la cavitation en représentant le pourcentage d'embolie en fonction du potentiel hydrique (Figure 20).

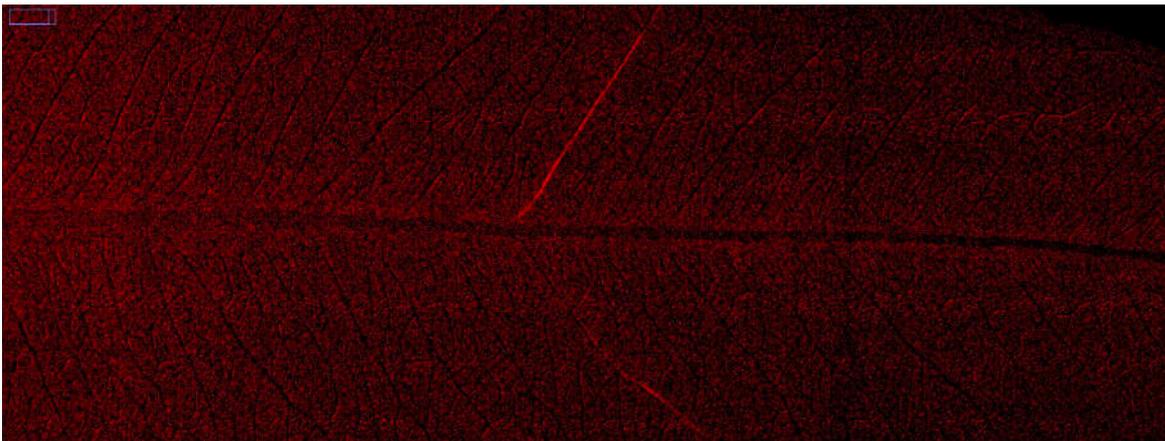


Figure 12. Différence entre deux images, une embolie est détectée sous ImageJ. (J. Cartailier)



Figure 13. Représentation de tous les événements de cavitation sous imageJ. (M. Mantova)



Figure 14. Psychromètre sur une branche.
(J. Cartailler)



Figure 15. Chambre d'un psychromètre.
(J. Cartailler)

Exemples d'applications

Deux expérimentations ont été réalisées en parallèle sur deux espèces d'angiospermes de février à septembre 2020 : *Eucalyptus viminalis* sous scanner et *Laurus nobilis* sous cavicam. Des individus (6 à 11 plantes) de chaque espèce ont été exposés à des conditions de sécheresse sévère et, au cours du processus de déshydratation, leurs états hydriques ont été surveillés en mesurant le potentiel hydrique des feuilles. Les images ont été acquises en transmission de lumière. Dans les deux cas, nous avons pu observer que la feuille se rétracte légèrement sous l'effet de la déshydratation et que la feuille devient plus opaque au fur et à mesure que les vaisseaux sont embolisés (Figures 16 à 19). Ces changements sont détectés comme un assombrissement du tissu foliaire.

Les images couplées aux mesures de potentiels hydriques ont permis d'établir la corrélation entre le pourcentage de vaisseaux embolisés et le potentiel hydrique de l'arbre et ainsi d'obtenir une courbe de vulnérabilité à la cavitation (Figure 20). Grâce à ces résultats, il est possible de conclure que *Laurus nobilis* présente une résistance à la cavitation beaucoup plus élevée qu'*Eucalyptus viminalis*. En effet, la cavitation de tous les vaisseaux du xylème de la feuille est atteinte à des potentiels d'eau plus négatifs (indiquant des niveaux de stress hydrique plus élevés) chez *Laurus nobilis* que chez *Eucalyptus viminalis* (Figure 20).

Pour l'expérimentation sous cavicam, la Figure 21 représente le temps d'arrivée des phénomènes de cavitation et donc de propagation de l'embolie ; les vaisseaux embolisés en premier sont représentés en bleu, ensuite en violet, puis en orange et pour finir, en jaune. Nous pouvons remarquer que les vaisseaux de la nervure centrale cavitent et s'embolisent en premier.

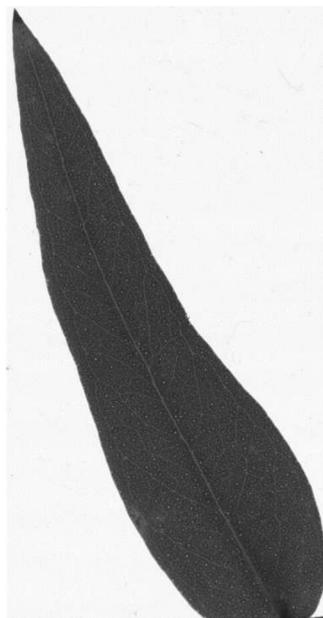


Figure 16. Feuille au début de l'expérience. (M. Mantova)



Figure 17. Feuille à la fin de l'expérience. (M. Mantova)

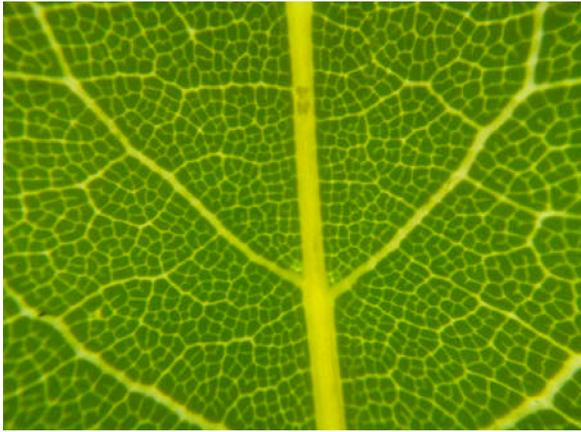


Figure 18. Feuille au début de l'expérience. (M. Mantova)



Figure 19. Feuille à la fin de l'expérience. (M. Mantova)

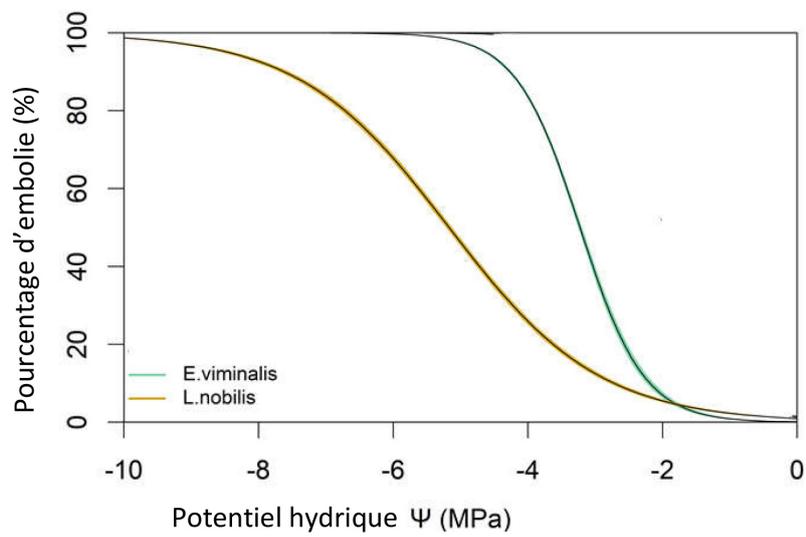


Figure 20. Courbes de vulnérabilité à la cavitation pour *Eucalyptus viminalis* et *Laurus nobilis*. (M. Mantova)

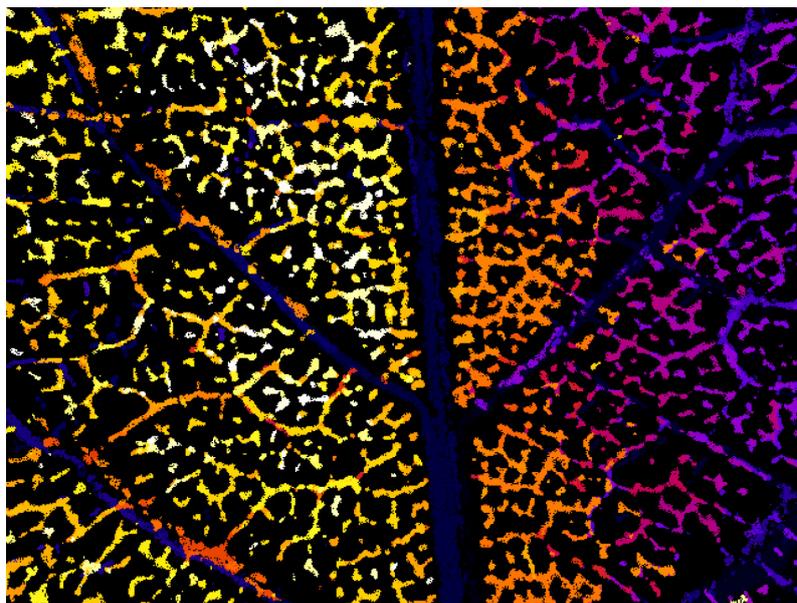


Figure 21. Représentation de tous les événements de cavitation sous imageJ. (M. Mantova)

Conclusion

La technique optique présente plusieurs avantages par rapport à la méthode hydraulique du Xyl'EM. D'abord, elle rend possible le suivi de la propagation de l'embolie sur une seule feuille tout au long de sa déshydratation, réduisant ainsi la quantité de matériel végétal nécessaire à l'expérimentation. Ensuite, cette méthode étant automatisée pour l'acquisition des images, elle permet aussi un gain de temps non négligeable pour l'utilisateur.

Actuellement, une amélioration de cette technique est cours au sein de l'UMR PIAF pour la rendre plus précise. En effet, l'utilisation d'une caméra rapide pouvant acquérir des images à une vitesse de 1 000 images par seconde (vs une photo toutes les 5 minutes avec les scanners ou cavicams) devrait permettre de mieux comprendre la formation et la propagation de l'embolie lors de la cavitation d'un vaisseau ■

Julien CARTAILLER

Technicien en Instrumentation dans l'unité PIAF située à Clermont-Ferrand, il a un DUT en Mesures physiques, et a commencé sa carrière à INRAE à Massy (91) dans l'unité GENIAL. Ses activités sont le prototypage, la maintenance des dispositifs expérimentaux et la réalisation de mesures en lien avec l'hydraulique des arbres.



Marylou MANTOVA

Post-doctorante dans le laboratoire Ecophyslab du département d'agronomie de l'Université de Floride (États-Unis). Elle a réalisé sa thèse au sein de l'unité PIAF située à Clermont-Ferrand. Son activité de recherche porte essentiellement sur la détermination des bases physiologiques de la mortalité des arbres en condition de sécheresse extrême. Plus particulièrement, elle s'intéresse au lien de causalité entre la défaillance hydraulique et la mortalité cellulaire.



José M. TORRES-RUIZ

Chargé de recherche de classe normale (CRCN) dans l'unité PIAF située à Clermont-Ferrand. Son axe de recherche se concentre sur les mécanismes de survie des arbres aux sécheresses extrêmes, avec un accent particulier sur l'utilisation de l'eau par les plantes et leur fonctionnalité hydraulique.



Références

Brodribb, T. J., Skelton, R. P., McAdam, S. A., Bienaimé, D., Lucani, C. J., Marmottant, P. (2016). Visual quantification of embolism reveals leaf vulnerability to hydraulic failure. *New Phytol*, 209(4), pp. 1403-9. Disponible sur : <https://doi.org/10.1111/nph.18578>.

Creek, D., Lamarque, L. J., Torres-Ruiz, J. M., Parise, C., Burlett, R., Tissue, D. T., & Delzon, S. (2020). Xylem embolism in leaves does not occur with open stomata: Evidence from direct observations using the optical visualization technique. *Journal of Experimental Botany*, 71(3), pp. 1151-9. Disponible en ligne : <https://doi.org/10.1093/jxb/erz474>.

Mantova M., Cochard H., Burlett R., Delzon S., King A., Rodriguez-Dominguez C. M., Ahmed M. A., Trueba S., Torres- Ruiz J. M., (2022). On the path from xylem hydraulic failure to downstream cell death. *New Phytol*, 237(3), pp. 793-806. Disponible en ligne : <https://doi.org/10.1111/nph.18578>.

Hammond, W.M., Williams, A.P., Abatzoglou, J.T. et al, (2022), Global field observations of tree die-off reveal hotter- drought fingerprint for Earth's forests. *Nat Commun* 13(1), p. 1761. Disponible en ligne : <https://doi.org/10.1038/s41467-022-29289-2>.



Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-SA). <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>.

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue « NOV'AE », la date de sa publication et son URL.